



Efek ekstrak etanol daun mimba (*Azadirachta indica*) terhadap kadar serum glutamat piruvate transaminase (sgpt) dan gambaran histopatologi hepar pada mencit (*Mus musculus*) model hepatotoksik

Norbaldus J. Hayong¹, Meity M. Laut², Putri Pandarangga³

¹Faculty of Veterinary Medicine, Nusa Cendana University, Kupang

²Faculty of Veterinary Medicine Nusa Cendana University, Kupang.

Abstract

| | |
|---|--|
| Riwayat Artikel: Diterima: 23 Juli 2019 Direvisi: 26 Juli 2019 Disetujui: 1 Agustus 2019 | <i>Azadirachta indica (neem), a plant used as traditional remedies, has been reported as hepatoprotector agent against liver damage of drugs abused. Aspirin, a nonsteroidal anti-inflammatory agent, is used in all species for its analgesic and antipyretic effects, but at high dose it leads to undesirable side effects, such as hepatotoxicity. The present study aimed to investigate hepatoprotective activity of ethanolic extract of neem leaves on serum levels of glutamate pyruvate transaminase (SGPT) and histopathological studies of liver in rat's model of aspirin-induced hepatotoxicity. Two to three months old male rats weighing between 20-30 g were used in this study. These rats were divided into 5 groups with three animals in each group. The experimental design were as follows: K1 is a negative control group and was treated with standard diet; K2 is a positive control group and was administered aspirin toxic dose (0.52 mg/30 g B.W., PO); P1 was treated with ethanolic extract of neem leaves (EEDM) dose I (0,7 mg/30 g B.W., PO) and aspirin toxic dose (0.52 mg/30 g B.W., PO); P2 was treated EEDM dose II (0,9 mg/30 g B.W., PO) and aspirin toxic dose (0.52 mg/30 g B.W., PO); and P3 was also treated with EEDM dose III (1.35 mg/30 g B.W., PO) and aspirin toxic dose (0.52 mg/30 g B.W., PO). The EEDM were administered to rats for 14 days, while aspirin toxic dose were given for the last three days (day 12, 13, and 14) during experiment. The serum levels were measured before treatment and on the last day (day 14). The results showed that the measurement of SGPT levels may not be a criterion, but the degree of liver damage can be seen in the histopathology. Histopathological observation of liver tissues of P1 and P2 shows minimal hepatocytes necrosis compare to other groups. In conclusion, EEDM dose I and II may have hepatoprotective activity against aspirin intoxication.</i> |
| Keywords: Neem, <i>Azadirachta indica</i> , SGPT, histopathology, liver damage, hepatotoxicity. | |
| Korespondensi : meitymarviana@gmail.com | |

PENDAHULUAN

Hepar adalah organ tubuh penting yang memiliki beberapa fungsi yaitu sebagai tempat metabolisme karbohidrat, metabolisme lipid, metabolisme protein dan beberapa fungsi lainnya serta berperan dalam detoksifikasi. Hal ini menyebabkan hepar menjadi sangat rentan terhadap peradangan yang disebabkan oleh toksin, mikroba dan obat-obatan. Penyalahgunaan obat-obatan kimia yang berlebihan dapat menyebabkan kerusakan hepar. Salah satu contoh obat kimia yang dapat menyebabkan kerusakan hepar adalah aspirin dalam jumlah yang berlebihan (Kumar *et al.* 2005).

Aspirin merupakan salah satu golongan obat anti inflamasi non steroid (NSAIDs) yang berfungsi sebagai pereda nyeri dan sering digunakan oleh masyarakat (Jurnalis *et al.*, 2015). Aspirin sering dilaporkan menimbulkan keracunan (Wood *et al.*, 2005, *cit.* Miladiyah, 2012). Koester (1993, *cit.* Sibarani *et al.*, 2013) menyatakan bahwa aspirin memiliki efek farmakologi sebagai analgesik, antipiretik, antiinflamasi dan antikoagulasi. Selain itu, aspirin bersifat hepatotoksik atau menyebabkan kerusakan pada hepar bila digunakan dalam jumlah yang besar dan dalam jangka waktu yang lama (Jurnalis *et al.*, 2015).

Indikasi kerusakan sel-sel parenkim hepar akan mengakibatkan enzim *Glutamat Oksaloasetat Transaminase* (GOT), *Glutamat Piruvat Transaminase* (GPT), arginase, laktat dehidrogenase dan *Gamma Glutamil Transaminase* (GGT) bebas keluar sel. Enzim-enzim ini akan masuk ke pembuluh darah sehingga kadarnya dalam darah akan meningkat. Akan tetapi, indikator atau pengukuran yang lebih baik untuk mendeteksi kerusakan jaringan hepar adalah SGPT. Enzim ini meningkat terlebih dahulu dan peningkatannya lebih cepat bila dibandingkan dengan enzim-enzim lainnya. SGPT lebih cepat meningkat pada kerusakan akut hati dibandingkan dengan SGOT. Untuk mencegah terjadinya kerusakan hati, disarankan penggunaan vitamin atau ekstrak

yang mengandung bahan yang bersifat hepatoprotektif (Suarsana & Budiasa, 2005).

Masyarakat Indonesia masih menggunakan tanaman atau bahan dari hewan sebagai obat tradisional atau obat alternatif. Obat tradisional adalah bahan yang berasal dari tumbuhan, hewan, mineral, dan sediaan sarian yang secara turun temurun telah digunakan untuk pengobatan (Dewoto, 2007). Salah satu tanaman berkhasiat obat yang digunakan oleh masyarakat adalah tanaman mimba (*Azadirachta indica*). Mimba merupakan tanaman yang banyak ditemukan di negara tropis, salah satunya adalah Indonesia. Daun mimba diketahui mengandung senyawa golongan flavonoid yang berfungsi sebagai hepatoprotektor (Aslam *et al.*, 2009). Oleh karena itu, daun mimba dapat digunakan sebagai obat alternatif yang bernilai ekonomis dalam pencegahan kerusakan hepar terutama akibat paparan obat-obatan. Hewan coba yang sering digunakan untuk pembuktian khasiat suatu bahan obat adalah monyet, kelinci, tikus dan mencit. Pada percobaan ini digunakan hewan coba mencit dengan mempertimbangkan faktor ukuran, kemudahan perawatan, harga, dan hasil yang cukup konsisten dan relevan (Jacobson-Kram, Keller; 2002, *cit.* Jenova 2009).

Berdasarkan uraian di atas maka peneliti ingin melakukan penelitian dengan judul “**Efek Ekstrak Etanol Daun Mimba (*Azadirachta indica*) terhadap kadar Serum Glutamat Piruvate Transaminase (SGPT) dan Gambaran Histopatologi Hepar pada Mencit (*Mus musculus*) Model Hepatotoksik.**”

MATERI DAN METODE

Alat dan Bahan

Adapun alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu timbangan analitik, timbangan digital, mikrohematokrit, kandang hewan, spuit injeksi 1ml, beerglass, gelasukur, sonde lambung, batang pengaduk, tabung reaksi, pipet tetes, pipa kapiler yang dibasahi heparin, *rotary evaporator*, satu set alat bedah untuk nekropsis (pengambilan

sampel hepar) dan mikroskop, mencit jantan putih, berumur 2-3 bulan, ekstrak mimba (*Azadirachta indica*), senyawa hepatotoksik yaitu aspirin, aquadest, pakan standar, *Buffer Neutral Formalin* (BNF) 10%, alkohol konsentrasi bertingkat (70-100%), xylol (I dan II), paraffin histoplast, larutan pewarna HE (Hematoxylin Eosin) dan reagen untuk pemeriksaan SGPT.

Proses Pembuatan Ekstrak Daun Mimba (*Azadirachta indica*)

Daun mimba dicuci dengan air yang mengalir kemudian daun mimba disimpan pada ruangan tertutup sampai kering pada suhu ruang \pm 3 hari. Setelah kering kemudian diblender dan diayak dengan ukuran mesh 40 sehingga memperbesar luas permukaan sampel agar diperoleh senyawa kimia. Serbuk dimaserasi menggunakan etanol 96% selama 5 hari, kemudian disaring. Hasil filtrat dievaporasi menggunakan *vaccum rotary evaporator*. Ekstrak yang diperoleh dari hasil evaporator dilanjutkan dengan pembuatan konsentrasi.

Aklimatisasi dan Perlakuan Hewan

Aklimatisasi hewan coba selama 7 hari terhadap air, pakan, dan kondisi laboratorium. Tindakan ini dilakukan untuk hewan dapat beradaptasi dengan lingkungan sekitar. Mencit (*Mus musculus*) dipilih secara acak dan dibagi menjadi lima kelompok. Dua kelompok kontrol yaitu terdiri dari kelompok positif dan negatif dan tiga kelompok perlakuan. Tiap kelompok terdiri dari 3 ekor mencit.

a) Kelompok kontrol negatif (K1)

Pakan berupa pellet dan air minum diberikan secara *ad libitum* selama 14 hari.

b) Kelompok kontrol positif (K2)

Pakan berupa pellet dan air minum diberikan secara *ad libitum* selama 14 hari. Mencit diinduksikan aspirin dosis toksik 0,52 mg/30 g BB pada hari ke-12, 13, dan 14.

c) Kelompok perlakuan pertama (P1)

Pakan berupa pellet dan air minum diberikan secara *ad libitum* selama 14 hari. Mencit diberikan ekstrak etanol daun mimba (*Azadirachta indica*) dengan dosis I 0,7 mg/30 gr BB mencit selama 14 hari. Mencit kemudian diinduksikan dengan aspirin dosis toksik yaitu 0,52 mg/30 gr BB. Pada hari ke-12, 13, dan 14. Aspirin diberikan setelah 1 jam pemberian ekstrak daun mimba dosis I.

d) Kelompok perlakuan kedua (P2)

Takaran pemberian pakan dan minum pada semua mencit adalah sama. Mencit diberikan ekstrak etanol daun mimba (*Azadirachta indica*) dosis II 0,9mg/ 30 gr BB selama 14 hari. Kemudian diinduksikan aspirin dengan dosis toksik 0,52 mg/30 gr BB mencit pada hari ke-12, 13, dan 14. Aspirin diberikan setelah 1 jam pemberian ekstrak daun mimba dosis II.

e) Kelompok perlakuan ketiga (P3)

Takaran pemberian pakan dan minum pada semua mencit adalah sama. Mencit diberikan ekstrak etanol daun mimba (*Azadirachta indica*) dosis III 1,35 mg/ 30 gr BB mencit selama 14 hari. Kemudian mencit diinduksi dengan aspirin dosis toksik 0,52 mg/30 g BB pada hari ke-12, 13, dan 14. Aspirin diberikan setelah 1 jam pemberian ekstrak daun mimba dosis III.

Pengambilan Darah Hewan uji

Pengambilan darah mencit di awal untuk periksa SGPT normal yang belum diberi perlakuan yaitu pada hari ke-7 dan pada hari ke-14 sebelum mencit dieutanasia. Darah mencit diambil melalui sinus orbitalis pada mata dengan menggunakan mikrohematokrit. Darah kemudian ditampung dalam tabung mikrosentrifugasi untuk diambil serumnya yang kemudian dilakukan pengujian menggunakan reagen terhadap aktivitas SGPT.

Prosedur pengangkatan hepar dan pemeriksaan histopatologi

Hewan coba yang hendak diambil heparnya, terlebih dahulu dieutanasia dengan cara dislokasi os cervical, kemudian pembedahan pada bagian abdomen untuk mencapai hepar dan dilakukan pengangkatan hepar. Hepar yang telah diangkat kemudian dimasukkan kedalam larutan *Buffer Neutral Formalin* (BNF) 10 %. Setelah itu, hepar dikirim ke laboratorium patologi untuk pembuatan slide histopatologi. Pemeriksaan preparat sel hepar mencit hasil pengecatan hematoksilin-eosin dilakukan dengan mikroskop dengan perbesaran 40 kali. Perubahan hepar yang akan diamati seperti peradangan, degenerasi sel, nekrosis, dan fibrosis. Hasil pemeriksaan dibuat fotomikroskopis.

Pembuatan slide histopatologi

Pembuatan preparat histopatologi disiapkan dengan cara: fiksasi, dehidrasi, *clearing*, *embedding*, bloking, pemotongan, pewarnaan dan *mounting*.

Analisis Data

Hasil penelitian ini terbagi atas dua yaitu peningkatan kadar SGPT dan analisis kerusakan sel hepar. Kedua hasil tersebut disajikan dalam bentuk tabel, dan kerusakan hepar dianalisis dengan uji *One Way Anova*, setelah itu dilakukan uji lanjutan menggunakan uji *Duncan* dengan program *SPSS 20*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Gambaran Umum Penelitian

Penelitian efek ekstrak etanol daun mimba (*Azadirachta indica*) terhadap kadar SGPT dan gambaran histopatologi hepar pada mencit (*Mus musculus*) model hepatotoksik dilaksanakan pada bulan September 2016 sampai dengan Oktober 2016. Penelitian ini menggunakan 15 ekor mencit jantan (*Mus musculus*) umur ± 2 sampai 3 bulan dan berat badan ± 21 gram sampai 30 gram. Mencit dibagi dalam 5

kelompok yang terdiri dari 3 ekor pada setiap kelompok yaitu, kontrol negatif (K1) yang hanya diberikan pakan standar, kontrol positif (K2) yang diberikan aspirin dengan dosis toksik 0,52 mg/grBB, perlakuan 1 (P1) yang diberi perlakuan ekstrak etanol daun mimba dengan dosis 0,7 mg/grBB, perlakuan 2 (P2) yang diberi perlakuan ekstrak etanol daun mimba dengan dosis 0,9 mg/grBB, perlakuan 3 (P3) yang diberi perlakuan ekstrak etanol daun mimba dengan dosis 1,35 mg/grBB. Pemberian aspirin dosis toksik sebagai induksi hepatotoksik akut pada K2, P1, P2 dan P3 dilakukan pada 3 hari terakhir setelah diberikan ekstrak etanol daun mimba.

Penelitian ini menggunakan ekstrak daun mimba yang dimaserasi dengan pelarut etanol 96%. Maserasi dilakukan selama 5 hari kemudian dikentalkan dengan menggunakan *rotary evaporator*. Ekstrak kental yang dihasilkan sebanyak 5 mg. Ekstrak etanol daun mimba diberikan kepada kelompok perlakuan selama 14 hari, sedangkan aspirin diberikan pada hari ke-12, 13, dan 14. Pada hari ke-0, dilakukan pengambilan sampel darah mencit untuk pemeriksaan kadar SGPT. Pemeriksaan kadar SGPT yang kedua dilakukan pada hari ke-15 setelah perlakuan. Pemeriksaan SGPT menggunakan reagen merk ERBA di Laboratorium Kesehatan Provinsi NTT.

Nekropsi dilakukan pada 1 hari terakhir dan kemudian dibuat preparat histopatologi dengan pewarnaan H&E di laboratorium RS Siloam, Kota Kupang. Pengamatan preparat histopatologi dilakukan di laboratorium Patologi, Kedokteran Hewan, Undana. Setiap preparat diamati dengan perbesaran 10x dan 40x.

Kadar Serum Glutamat Piruvat Transaminase (SGPT) Mencit

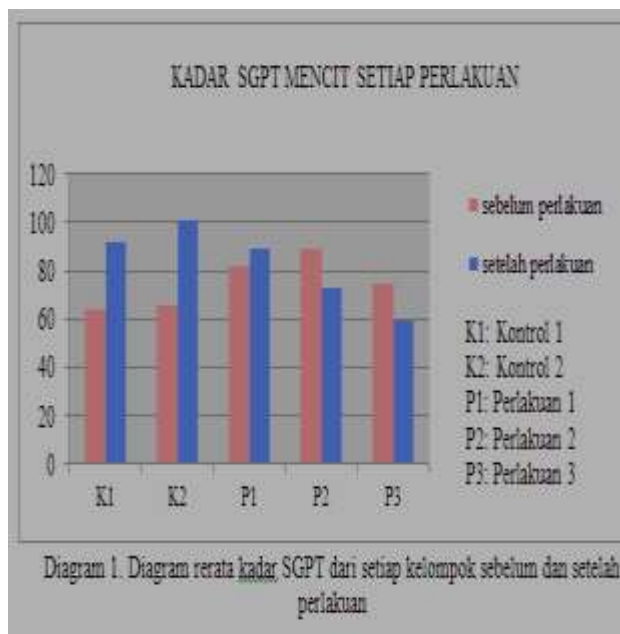
SGPT merupakan enzim yang lebih peka terhadap kerusakan hepar akut. Nilai normal SGPT pada mencit 2,1-23,8 U/l. Kadar SGPT mencit jantan (*Mus musculus*) sebelum dan setelah perlakuan ditunjukkan pada Tabel 1. Rerata SGPT mencit sebelum perlakuan dan setelah perlakuan

menunjukkan hasil yang beragam untuk setiap kelompok.

Tabel 2. Rerata kadar SGPT hewan uji setiap kelompok

| Kelompok | Sebelum Perlakuan | Sesudah Perlakuan |
|----------|-------------------|-------------------|
| K1 | 64 U/l | 92 U/l |
| K2 | 66 U/l | 101 U/l |
| P1 | 82 U/l | 89 U/l |
| P2 | 89 U/l | 73 U/l |
| P3 | 74 U/l | 60 U/l |

Nilai normal SGPT mencit : 2,1-23,8 U/l (Mangkoewidjojo dan Smith, (1988, *cit.* Erdiana, 2009).



Rerata kadar SGPT sebelum perlakuan berdasarkan pada tabel dan grafik menunjukkan bahwa, kelompok kontrol I memiliki kadar SGPT 64 U/l, kontrol II 66 U/l, perlakuan I 82 U/l, perlakuan II 89 U/l, dan perlakuan III 74 U/l. Kadar SGPT pada masing-masing kelompok setelah diberi perlakuan yaitu kelompok kontrol I 92 U/l, kontrol II 101 U/l, perlakuan I 89 U/l, perlakuan II 73 U/l, dan perlakuan III 60 U/l. Hasil ini ditunjukkan pada tabel 1. Berdasarkan nilai normal yang diacu pada

Mangkoewidjojo & Smith (1988 *Cit.* Erdiana, 2009) yaitu 2,1-23,8 U/l, kelompok K1 yang tidak diberikan perlakuan mengalami kenaikan kadar SGPT.

Peningkatan kadar SGPT pada kelompok kontrol negatif (K1) dapat disebabkan oleh faktor stress, yang mengakibatkan terjadi peningkatan sekresi ACTH (*adenocorticotropic*). ACTH akan mencapai kelenjar adrenal melalui peredaran darah dan merangsang pembentukan kortikosteroid untuk memicu pelepasan hormon glukokortikoid. Hormon glukokortikoid akan mempengaruhi fungsi kerja dari hati dengan meningkatkan proses metabolisme di dalam hati yaitu melalui proses glukoneogenesis. Proses glukoneogenesis ini akan mengubah semua sumber energi seperti asam lemak, asam amino dan sebagian menjadi glukosa. Peningkatan proses metabolisme ini berfungsi untuk menghasilkan energi (Sherwood, 2001). Menurut Guyton dan Hall (2008), individu yang berada dalam keadaan stres akan membutuhkan energi yang lebih banyak dibandingkan pada keadaan normal. Enzim yang dibutuhkan dalam proses glukoneogenesis salah satunya adalah enzim aminotransferase yang meliputi SGOT dan SGPT. Enzim aminotransferase akan mengkatalis reaksi kimia di dalam sel-sel hepar. Jika hepar bekerja berlebihan, maka dapat menyebabkan kerusakan sel-sel hepar. Hepatosit atau sel-sel hepar kemudian akan mengeluarkan enzim ini di dalam pembuluh darah.

Proses pembentukan energi di dalam sel terjadi di mitokondria. Mitokondria memiliki kapasitas yang terbatas dalam menghasilkan energi. Pada kondisi stres, energi yang dibutuhkan lebih banyak sehingga akan meningkatkan kerja mitokondria dalam menghasilkan energi. Mitokondria mengirimkan sinyal ke lisosom, kemudian lisosom akan mengeluarkan enzim lisosim dan melakukan reaksi oksidatif stres. Reaksi tersebut didahului oleh kerusakan membran sel antara lain mengubah fluiditas, struktur dan fungsi membran sel,

selanjutnya akan menyebabkan rusaknya sel-sel dan keluarnya SGPT. SGPT yang keluar dari sel-sel tersebut kemudian dilepaskan ke dalam aliran darah yang mengakibatkan tingkat konsentrasi SGPT dalam darah meningkat (Devaki, 2010). Selain karena faktor stres, dapat juga disebabkan oleh faktor lain yang tidak bisa dikendalikan oleh peneliti seperti suhu ruangan, kelembapan kandang (Kuntz, 2008) dan pengujian SGPT yang dilakukan pada laboratorium manusia sehingga hasil yang diperoleh tidak sesuai sehingga dapat dikatakan bahwa hasil kadar SGPT tidak menjadi tolak ukur untuk menentukan derajat kerusakan hepar mencit.

Pada kelompok K2 yang hanya diberikan aspirin dosis toksik, mengalami kenaikan kadar SGPT dari 66 U/l menjadi 101 U/l. Hal ini terjadi karena aspirin yang masuk ke dalam tubuh mencit pertama kali akan dibawa ke sistem pencernaan dan diproses dalam lambung, kemudian aspirin diabsorpsi dengan baik dalam usus halus. Senyawa aspirin yang diabsorpsi ikut ke aliran darah kemudian mengalir ke pembuluh darah vena dan masuk ke dalam hepar melalui vena porta untuk didetoksifikasi oleh hepar. Proses detoksifikasi di hepar terjadi dalam dua mekanisme. Bagian pertama disebut dengan fase 1, yaitu fase dimana toksin diubah menjadi bentuk yang larut lemak. Lemak akan segera mengikat toksin yang masuk ke dalam tubuh, sehingga toksin harus dilepaskan terlebih dahulu dari jaringan lemak. Bagian kedua disebut dengan fase 2, dimana pada fase ini toksin diubah menjadi bentuk yang larut dalam air agar toksin dapat dikeluarkan melalui saluran usus dan urin. Apabila aspirin melebihi jumlah maksimal akan menyebabkan hepar bekerja lebih keras yang dapat menyebabkan kematian sel hepar. Kerusakan pada hepar atau nekrosis pada hepatosit menyebabkan terjadi pelepasan SGPT secara intraseluler ke dalam darah (Kumar *et. al.*, 2013).

Kelompok P1 dilakukan pemberian ekstrak etanol daun mimba dosis I (0,7 mg/grBB) dan diinduksi aspirin dosis toksik (0,52 mg/grBB), sehingga diperoleh kadar

SGPT dari 82 U/l menjadi 89 U/l. Peningkatan SGPT pada kelompok P1 tidak signifikan seperti pada kelompok kontrol. Hal ini dikarenakan kelompok P1 telah diberikan ekstrak etanol daun mimba yang mampu menekan laju kerusakan hepar, sehingga diduga kenaikan SGPT juga dapat dipengaruhi oleh faktor stres. Kelompok P2 dilakukan pemberian ekstrak etanol daun mimba dengan dosis II (0,9 mg/grBB) dan diinduksi aspirin dosis toksik (0,52 mg/grBB), diperoleh kadar SGPT 89 U/l menjadi 73 U/l. Kelompok P3 dilakukan pemberian ekstrak etanol daun mimba dengan dosis III (1,35 mg/grBB) dan diinduksi aspirin dosis toksik (0,52 mg/grBB) diperoleh kadar SGPT dari 74 U/l menjadi 60 U/l. Kelompok P2 dan P3 menunjukkan penurunan kadar SGPT, namun penurunan kadar SGPT tidak mencapai batas normal yaitu 2,1- 23,8 U/l. Diantara kelompok P2 dan P3 penurunan kadar SGPT yang paling tinggi terjadi pada kelompok P2 yaitu menurun dari kadar SGPT 89 U/l menjadi 73 U/l. Penurunan terjadi karena daun mimba mengandung flavonoid yang berfungsi menghambat proses oksidasi.

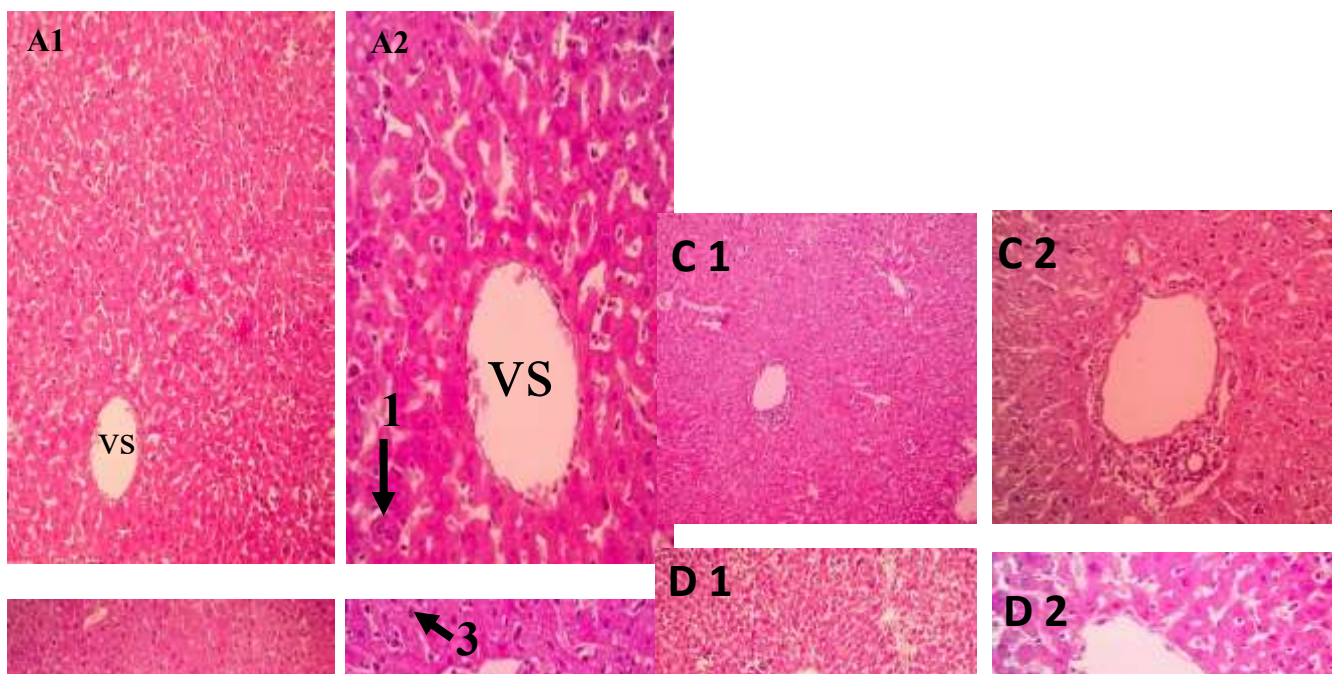
Ekstrak etanol daun mimba mampu menurunkan kadar SGPT pada kelompok P2 dan P3 namun tidak sampai batas normal yaitu 2,1-23,8 U/l. Drabu *et. al.* (2012) menyatakan, bahwa ekstrak etanol daun mimba (*Azadirachta indica*) mengandung senyawa aktif seperti flavonoid (*quercetin* dan *rutin*). Flavonoid merupakan salah satu golongan antioksidan, yang dapat menghambat terjadinya proses oksidasi akibat radikal bebas. Flavonoid sebagai antioksidan dapat dibagi menjadi dua mekanisme yaitu menangkal dan mengikat radikal bebas. Mekanisme menangkal radikal yaitu dengan menekan pembentukan radikal sehingga mencegah kerusakan oksidatif, sedangkan mengikat radikal bebas adalah dengan menyumbangkan atom hidrogen atau elektron untuk membuat radikal bebas lebih stabil (Lim *et al.*, 2002).

Gambaran Histopatologi Hepar Mencit

Hasil pengamatan preparat histopatologi secara mikroskopik pada hepar mencit (*Mus musculus*) kelompok K2 dan kelompok perlakuan (P1, P2, dan P3) yang diberikan senyawa hepatotoksik yaitu aspirin dan diberikan ekstrak etanol daun mimba (*Azadirachta indica*) sebagai hepatoprotektif menunjukkan perubahan pada struktur histologi. Perubahan yang terlihat pada hepar mencit (*Mus musculus*) yaitu ditemukannya nekrosis, kongesti, degenerasi hidropis dan sel radang. Gambaran histopatologi hepar dari masing-masing kelompok dapat dilihat pada Gambar 2 dan Gambar 3. Derajat histopatologi hepar yang digunakan berdasarkan penelitian uji toksisitas akut Maretnowati *et. al* (2005).

| NO. | Tingkat kerusakan | Skor |
|-----|---|------|
| 1 | Tingkat perubahan masih dalam keadaan normal (0-30) | 0 |
| 2 | Tingkat perubahan dengan kerusakan kategori ringan (mild) (31-60) | 1 |
| 3 | Tingkat perubahan dengan kerusakan kategori sedang (moderate) (61-90) | 2 |
| 4 | Tingkat perubahan dengan kerusakan kategori berat (severe) (≥ 91). | 3 |

Gambar 2. Gambaran histopatologi hepar mencit dengan pewarnaan HE perbesaran 10x (A1) dan 40x (A2) kontrol negatif (1) hepatosit normal yang di tandai dengan sel berbentuk polihedral dan inti berjumlah 1 atau 2 yang terletak di dalam sel. (B1 dan B2) Kontrol positif, terlihat adanya kongesti berat (2); Sel radang limfosit (3); Kerusakan sel dengan inti pyknosis (inti menyusut) (4a).



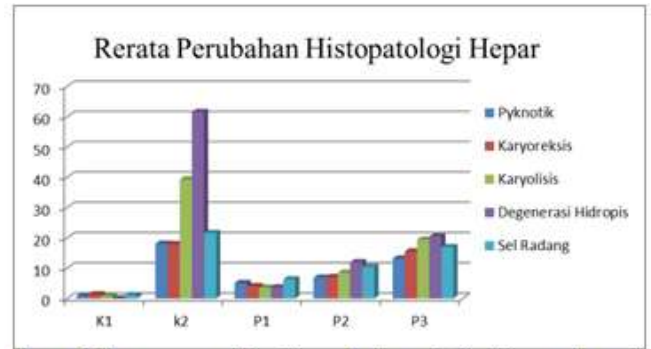


Diagram 2. Diagram rerata perubahan histopatologi yang terjadi pada hepar setiap mencit terhadap perlakuan

Gambar 3. Gambaran histopatologi hepar mencit dengan pewarnaan HE (perbesaran 10x dan 40x); (C1 dan C2) Perlakuan 1 dengan dosis mimba 0,7 mg dan (D1 dan D2) Perlakuan 2 dengan dosis mimba 0,9 mg adanya kerusakan sel hepar yang lebih sedikit. (E1 dan E2) Perlakuan 3 dengan dosis mimba 1,35 mg, (1); Kerusakan sel dengan inti pyknosis (inti menyusut) (4a), Karyoreksis (inti pecah dan menyebar) (4b), dan Karyolisis (inti pecah) (4c) degenerasi hidropis (5).

Tabel 3. Rerata perubahan histopatologi yang terjadi pada hepar mencit setiap kelompok.

| Kelompok | Pyknotik | Karyoreksis | Karyolisis | Degenerasi Hidropis | Sel Radang |
|----------|----------|-------------|------------|---------------------|------------|
| K1 | 0,8 | 1,4 | 0,8 | 0 | 0 |
| K2 | 18,1 | 18 | 39,3 | 6,6 | 21,2 |
| P1 | 5,1 | 4,1 | 3,6 | 1,7 | 6,5 |
| P2 | 6,9 | 7,1 | 8,5 | 1,4 | 10,4 |
| P3 | 13,2 | 15,6 | 19,4 | 20,5 | 17,3 |

Tabel 4. Tingkat kerusakan hepar mencit berdasarkan skor

| NO. | Kelompok | Skor |
|-----|-----------------|------|
| 1 | Kontrol Negatif | 0 |
| 2 | Kontrol Positif | 3 |
| 3 | Perlakuan 1 | 1 |
| 4 | Perlakuan 2 | 2-3 |
| 5 | Perlakuan 3 | 3 |

Menurut Romzah (2005), pengamatan mikroskopis mampu melihat adanya kerusakan pada hepar. Gambar 2 (A1 dan A2) yang menunjukkan kelompok kontrol negatif, teramati adanya hepatosit normal dikarenakan kelompok kontrol negatif tidak diberikan perlakuan. Gambar 2 (B1 dan B2) yang menunjukkan kelompok kontrol positif, teramati adanya kongesti berat, sel radang limfosit, dan piknosis pada daerah segitiga portal. Hal ini disebabkan kelompok kontrol positif diberi aspirin dosis toksik tanpa diberikan ekstrak etanol daun mimba sebagai zat yang berpotensi melindungi hepar dari kerusakan.

Menurut Kumar *et. al* (2013), pemberian obat terapi secara berlebihan atau dosis toksik dapat menyebabkan kerusakan jaringan dengan cara mengubah permeabilitas membran, homeostasis osmotik dan integritas enzim. Kerusakan sel dimulai dari daerah portal menuju ke vena sentralis. Aspirin dosis toksik diberikan

secara oral sehingga mengalami proses penyerapan di usus. Suplai darah dari usus ke hepar adalah melalui vena porta, apabila darah yang berasal dari usus mengandung toksin maka hepatosit yang berada pada daerah vena porta akan terlebih dahulu mengalami kerusakan.

Aspirin dapat menyebabkan kerusakan sel hepar yang diakibatkan karena adanya interaksi salisilat dengan rantai mitokondria hepar yang akan menghasilkan hidrogen peroksida dan spesies oksigen reaktif (ROS), sehingga dapat mengoksidasi atau mengganggu kelompok *thiol* dan *reduced glutathion* (GSH) yang merupakan antioksidan normal dalam hepar (Battaglia *et al.*, 2005). Selain itu, penggunaan aspirin yang berlebih menyebabkan GSH tidak dapat mendetoksifikasi semua metabolit aspirin sehingga metabolit terakumulasi kemudian mengakibatkan toksisitas di hepar.

Hepar pada kelompok kontrol positif pada gambar 2 (B1 dan B2) mengalami kongesti. Hal ini berkaitan dengan pemberian aspirin dosis toksik yang dapat menyebabkan kerusakan jaringan dan memicu sistem kekebalan tubuh yang akan merespon dengan memfagosit aspirin yang masuk ke dalam tubuh secara berlebihan. Setelah itu terjadi dilatasi pembuluh darah sehingga terjadi peningkatan jumlah darah pada pembuluh darah yang melebihi normal disebut juga kongesti. Dalam penelitian Heirmayani *et. al* (2007), menyebutkan bahwa kongesti adalah keadaan darah berlebihan di dalam pembuluh darah pada daerah tertentu. Akibat dari kongesti maka sirkulasi darah menjadi lambat sehingga oksigen ke jaringan menurun. Sel hati sangat peka terhadap kekurangan oksigen atau anoksia. Adanya kongesti menyebabkan terganggunya fungsi hati sebagai tempat metabolisme protein dan lemak.

Berdasarkan Tabel 4, tingkat kerusakan hepar mencit dinilai berdasarkan skoring. Pada kelompok kontrol negatif diperoleh skor 0 dengan kisaran 0-30 yang berarti tingkat kerusakan masih dalam kisaran normal. Kelompok kontrol positif

dengan skor 3 dengan kisaran ≥ 91 yang berarti tingkat kerusakan termasuk kategori berat (*severe*). Kelompok perlakuan 1 diperoleh skor 1 dengan kisaran 31-60 yang berarti tingkat kerusakan dalam kategori ringan (*mild*). Kelompok perlakuan 2 dengan skor 2-3 yang berarti tingkat kerusakan dalam kategori sedang (*moderate*) sampai berat (*severe*) sedangkan kelompok perlakuan 3 dengan skor 3 dengan kisaran ≥ 91 yang berarti tingkat kerusakan termasuk kategori berat (*severe*).

Hasil uji one way ANOVA dengan tingkat kepercayaan 95% menunjukkan bahwa pada kelompok P1 dan P2 terdapat pengaruh nyata pemberian ekstrak etanol daun mimba terhadap gambaran kerusakan sel hepar yang diinduksi aspirin. Hasil analisis lanjutan dengan uji Duncan dapat dilihat pada tabel yaitu nilai signifikansi yang $> 0,05$ (lampiran). Meskipun pada penilaian kadar SGPT kelompok P1 mengalami peningkatan dan mengalami penurunan pada P2, hal ini tidak memiliki korelasi positif dengan gambaran kerusakan hepar yang terjadi, sesuai dengan pernyataan Kirsch *et al.*, (1991) Peningkatan kadar SGPT diduga akibat faktor lain yaitu stres.

Kelompok P3, yang diberi ekstrak etanol 1,35 mg/grBB memiliki gambaran kerusakan hepar yang lebih banyak dari kelompok P1 dan P2 yang diberi ekstrak etanol daun mimba sebanyak 0,7 mg/grBB dan 0,9 mg/grBB. Hal ini dapat dilihat pada tabel yaitu nilai signifikansi yang $< 0,05$ (lampiran). Diduga dosis pemberian yang berlebihan dari ekstrak etanol daun mimba juga berpengaruh menyebabkan kerusakan sel hepar. Menurut Wicaksono (2015), pemberian bahan kimia yang mengandung senyawa alkaloid dan saponin dapat menyebabkan kerusakan sel berupa degenerasi hidropis, nekrosis (inti piknotik, karioreksis, kariolisis), infiltrasi sel radang, dan kongesti.

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan, dosis ekstrak etanol daun mimba yang efektif untuk melindungi hepar dari kerusakan akibat pemberian aspirin (dosis

toksik) setelah pemberian ekstrak etanol daun mimba yaitu 0,7 mg/grBB dan 0,9 mg/grBB. Sedangkan dosis ekstrak etanol daun mimba 1,35 mg/grBB sudah menunjukkan kerusakan hepar yang lebih parah dibandingkan dengan P1 dan P2.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil yang diperoleh maka dapat disimpulkan sebagai berikut :

1. Ekstrak etanol daun mimba (*Azadirachta indica*) memiliki pengaruh terhadap nilai SGPT setelah diinduksi aspirin dosis toksik. Namun, pada penelitian ini nilai SGPT tidak dapat menjadi tolak ukur untuk menentukan derajat kerusakan hepar sehingga diperlukan pemeriksaan histopatologi untuk menentukan presentasi kerusakan sel hepar.
2. Ekstrak etanol daun mimba (*Azadirachta indica*) memiliki daya proteksi terhadap kerusakan sel hepar setelah diinduksi aspirin dengan dosis 0,7 mg/grBB dan 0.9 mg/grBB bisa sebagai hepatoprotektor.

DAFTAR PUSTAKA

- Aslam, F., Khalil-ur-Rehman, Asghar, M., dan Sarwar. M., 2009, Antibacterial Activity of Various Phytoconstituents of Neem, *Pakistan Journal Agricultural Science*, vol 46, pp. 3-6.
- Battaglia V, Salvi M, Toninello A, 2005. Oxidative stress is responsible for mitochondrial permeability transition induction by salicylate in liver mitochondria. *Journal of biological chemistry*.40(280): 33864-72.
- Chattopadhyay, R.R. and Bandyopadhyay, M., 2005, Effect of *Azadirachta indica* Leaf Extract on Serum Lipid Profile Changes in Normal and Streptozotocin Induced Diabetic Rats, *African Journal of Biomedical Research*, vol. 8, pp. 101–104.
- Darsono, L. 2002. Diagnosis dan Terapi Intoksikasi Salisilat dan Parasetamol. *Bagian Farmakologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Kristen Maranatha, Bandung JKM Vol. 2, No., 1.*
- Devaki, M. 2010. Repeated Acute Stress Alters Activity of Serum Aminotransferase and Lactate Dehydrogenase in Rate. *JPBS*, 23(2): 1- 4.
- Dewoto, H. R. 2007. Pengembangan Obat Tradisional Indonesia Menjadi Fitofarmaka. Departemen Farmakologi, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta. Vol 57, No. 5.
- Drabu, S., Khatri, S. and Babu, S. 2012, *Neem: Healer of All Ailments. Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*. 3: 120-126.
- Fawcett, D.W. 2002, buku ajar histologi. Jakarta, cit. Amalina, N. 2009, 'Uji toksisitas aktif ekstrak valeriana (*Valeriana officinalis*) terhadap hepar mencit BALB/C', *Skripsi*. Fakultas Kedokteran. Universitas Diponegoro. Semarang.
- Guyton, A. C and Jhon E. H 2007. Buku Ajar Fisiologi Kedokteran. Edisi 11. Alih bahasa: LMA. Ken Ariata Tengadi. Judul asli: "Textbook of Medical Physiology" Jakarta: EGC.
- Heirmayani, Agungpriyono D.R, Estuningsih S, 2007. Toksikopatologi hati mencit (mus musculus) pada pemberian parasetamol. *Skripsi fakultas kedokteran hewan*. Bogor : IPB.
- Husadha Y, 1996. *Fisiologi dan Pemeriksaan Hati. Dalam : Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam*. Jilid I. Edisi ketiga. Jakarta : Balai Penerbit FKUI. Hal : 224- 226. Cit. Haki, M., 2009. Efek

- ekstrak daun talok (*muntingia calabura* l.) Terhadap Aktivitas enzim sgpt pada mencit yang diinduksi karbon Tetraklorida. Surakarta. Skripsi.
- Jacobson-Kram, Keller K.A; 2002. Toxicology Testing Handbook. Washington DC: Ork Basel. p. 1 – 20, *cit.* Jenova, R. 2009, ' Uji toksisitas akut yang diukur dengan Penentuan LD50 ekstrak herba putri malu (*Mimosa pudica* l.) Terhadap mencit BALB/C', *Skripsi.* Fakultas kedokteran. Universitas Diponegoro. Semarang.
- Jurnal, Y.D., Yorva Sayoeti, Marlia Moriska 2015. Kelainan hati akibat antipiretik. *jurnal kesehatan andalas.* ;4(3). hlm2,6.
- Kirsch A, Perez-Brayfield M, Jones R., 1991. "The reaction catalyzed by *Escherichia coli* aspartate aminotransferase has multiple partially rate-determining steps, while that catalyzed by the Y225F mutant is dominated by ketimine hydrolysis". *J Urol*;140(4):1330-4.
- Kumar, V., Abbas A.K. and Fausto, N. 2013, Robbins and Cotran pathologic basis of disease. 9th edition. San Fransisco.
- Koester M. C. 1993. an overview of the physiology and pharmacology of aspirin and non steroidal anti-inflammatory drugs. *Cit.* Sibarani, N, M, H., 2013. Studi histopatologi hepar tikus putih yang diinduksi aspirin pasca pemberian madu per oral. Bali. Skripsi.
- Lim, S.N., Cheung, P.C.K., Ooi, V.E.C., and Ang, P.O. 2002, Evaluation of Antioxidative Activity of Extracts from a Brown Seaweed, *Sargassum siliquastrum*, *J.Agric Food Chem.*, 50 (13): 3862-6.
- Lu, F.C. 1995. Toksikologi Dasar; Asas, Organ Sasaran, dan Penilaian Resiko. Edisi ke-2. Penerbit Universitas Indonesia. UI Press. Jakarta. *Cit.* Wicaksono, H, S, 2015. Struktur hati mencit (*mus musculus* l.) Setelah pemberian ekstrak daun kaliandra merah (*calliandra calothyrsus* meissn). Bali. Skripsi.
- Makita T, Hakoi K. Proliferation and alteration of hepatic peroxisomes and reduction of ATPase activity on their limiting membrane after oral administration of acetylsaliatic acid (aspirin) for four weeks to male rats. *Journal: Ann N Y Acad Sci* 748:640-4, 1995. *Cit.* Irvanda R, 2007. Pengaruh Pemberian Aspirin Berbagai Dosis Per Oral Terhadap Gambaran Histopatologi Hepar Tikus *Wistar*. Semarang. Skripsi.
- Mangkoewidjojo S. dan Smith J. B. 1988. *Pemeliharaan, Pembiakan Dan Penggunaan Hewan Percobaan di Daerah Tropis.* Jakarta : UI press. Hal :10- 18. *Cit.* Erdiana, A. N. 2009. Pengaruh ekstrak pegagan (*Centella Asiatica*) terhadap kadar sgpt mencit (*mus musculus*) yang diinduksi parasetamol. Surakarta. Skripsi
- Mescher, A.L. 2013, *Junqueira's Basic Histology Text and Atlas.* McGraw-Hill Education. Bloomington, Indiana. Mustamu, H.L., Evacuaciany, E. dan Liana, L.K. 2016, The Ethanol Extract of Neem Leaf (*Azadirachta Indica* A. Juss) Effect towards Wound Healing in Male Swiss Webster Mice. *Journal of Medicine and Health.* 1 (3): 241-251.
- Pamudji G. 2003. *Petunjuk Praktikum Farmakologi.* Surakarta : Bagian Farmakologi Universitas Setia Budi. Hal : 1-6. *Cit.* Haki, M., 2009. Efek ekstrak daun talok (*muntingia*

- calabura* l.) Terhadap Aktivitas enzim sgpt pada mencit yang diinduksi karbon Tetraklorida. Surakarta. Skripsi.
- Paulsen F. D. 2000. *Histology and Cell Biology*. Lange Medical Book. Cit. Oktiari, Y. 2013, 'Pengaruh Ekstrak Biji Kakao (*Theobroma cacao*) Terhadap Hapatotoksitas Parasetamol Pada Mencit (*Mus musculus*)', *Skripsi*. Fakultas Kedokteran. Universitas Sebelas Maret. Surakarta.
- Podolsky dan Isselbacher, 2002. Tes Diagnostik pada Penyakit Hati. Dalam: *Harisson Prinsip- Prinsip Ilmu Penyakit Dalam*. Edisi 13. Volume 4. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC. Hal: 1623-1624. Cit. Haki, M., 2009. Efek ekstrak daun talok (*muntingia calabura* l.) Terhadap Aktivitas enzim sgpt pada mencit yang diinduksi karbon Tetraklorida. Surakarta. Skripsi.
- Romzah, V. 2005. Pengaruh fasa air daun (*Genarussa vulgaris*, Nees) terhadap perubahan histopatologi hati, ginjal dan usus halus mencit jantan. *Skripsi Fakultas Farmasi*. Surabaya: Universitas Airlangga.
- Schmutterer, H 1995. *The Neem Tree: Source of Unique Natural Products for Integrated Pest Management, Medicine, Industry and Other Purposes*, VCH, Weinheim, Germany, 1-696.
- Setiawati, M., Murtiningshi, R., Gunaeni, N., Dan Rubiati, T. 2008, *Tumbuhan Pestisida Nabati*. Balai Penelitian Tanaman Sayur, Bandung. Indonesia.
- Sherwood, Lauralee. 2001. Fisiologi Manusia: dari sel ke sistem. Edisi 2. Alih bahasa: Brahm. Judul asli: "Human Physiology: from Cells to Systems" Jakarta: EGC.
- Somsak, V., Chachiyo, S., Jaihan, U. and Nakinchat, S. 2015, Protective Effect of Aqueous Crude Extract of Neem (*Azadirachta indica*) Leaves on Plasmodium berghei-Induced Renal Damage in Mice. *Journal of Tropical Medicine*. 5(2):1-5.
- Suarsana, I. N. dan Budiasa, I. K. 2005, Potensi hepatoprotektif ekstrak mengkudu pada keracunan parasetamol. *Jvet* 6(3).
- Wicaksono, H, S, 2015. Struktur hati mencit (*mus musculus* l.) Setelah pemberian ekstrak daun kaliandra merah (*calliandra calothyrsus* meissn). Bali.
- Widmann F.K. 1995. *Tinjauan Klinis atas Hasil Pemeriksaan Laboratorium*. Edisi 9. Jakarta : Penerbit Buku Kedokteran EGC. Hal :331. Cit. Haki, M., 2009. Efek ekstrak daun talok (*muntingia calabura* l.) Terhadap Aktivitas enzim sgpt pada mencit yang diinduksi karbon Tetraklorida. Surakarta. Skripsi.
- Wood D.M., Dargan P.I., Jones A.L., 2005, Measuring plasma salicylate concentrations in all patients with drug overdose or altered consciousness: is it necessary *Emerg Med J* 22: 401-403. DOI: 10.1136/emj.2003.010298. Cit. Miladiyah I., 2012. *Therapeutic Drug Monitoring (TDM) pada Penggunaan Aspirin sebagai Antireumatik*. Departemen Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia (FK UII) Yogyakarta.
- Zorn, A.M. 2008, *Liver Development*. Division Of Developmental Biology, Cincinnati Children's Research Foundation, USA.