

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL KULIT BATANG PAKOBA (*Tricalysia minahassae*) TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI HEPAR DAN GINJAL PADA TIKUS PUTIH JANTAN (*Rattus norvegicus*)**

Michael V.L Tumbol, Elne Vieke Rambi, Telly Mamuaya

\*Jurusan Analis Kesehatan Poltekkes Kemenkes Manado

**ABSTRAK**

Zat aktif pada tanaman obat umumnya dalam bentuk metabolit sekunder dan hal ini memungkinkan tanaman tersebut memiliki lebih dari satu efek farmakologi. Beberapa obat tradisional baru diketahui memiliki efek toksik yang cukup serius setelah melewati berbagai pengujian toksikologi. Tumbuhan asli Sulawesi Utara banyak digunakan sebagai obat tradisional dan berpotensi digunakan sebagai obat antidiabetes yaitu kulit batang pakoba (*Tricalysia minahassae*). Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui gambaran mikroskopis dan makroskopis hepar serta ginjal pada ekstrak etanol Kulit Batang Pakoba (*Tricalysia minahassae*) terhadap tikus putih (*Rattus norvegicus*). Penelitian eksperimental laboratorium dengan rancangan post test only control group design, sebanyak 15 tikus dibagi menjadi 1 kelompok placebo dan 4 kelompok perlakuan yang diberi ekstrak etanol kulit batang pakoba dosis 200;400;600;800 mg/KgBB selama 30 hari kemudian semua tikus diterminasi dan dilakukan pemeriksaan makroskopis dan mikroskopis organ hepar serta ginjal. Hasil penelitian menunjukkan tidak ada pengaruh pemberian ekstrak etanol kulit batang pakoba terhadap gambaran makroskopis ginjal dan hepar tikus yaitu berat, volume dan warna organ dibandingkan kontrol negatif ( $P>0,05$ ). Ada pengaruh pemberian ekstrak etanol kulit batang pakoba terhadap gambaran mikroskopis sel hepar dan ginjal dibandingkan kontrol negatif ( $P<0,05$ ). Kandungan fitokimia pada ekstrak etanol kulit batang pakoba adalah flavonoida, tanin, alkaloida dan saponin

**Kata Kunci :** Ekstrak Etanol Kulit Batang Pakoba, Makroskopis hepar dan ginjal, mikroskopis sel hepar dan ginjal

**ABSTRACT**

The active substance in medicinal plants is generally in the form of secondary metabolites and this allows the plant to have more than one pharmacological effect. Some new traditional medicines are known to have serious toxic effects after passing various toxicological tests. Plants native to North Sulawesi are widely used as traditional medicine and have the potential to be used as an antidiabetic drug, namely the skin of the pakoba stem (*Tricalysia minahassae*). The purpose of this study was to determine the microscopic and macroscopic description of the liver and kidneys in the ethanol extract of Batang Pakoba Skin (*Tricalysia minahassae*) against white rats (*Rattus norvegicus*). Laboratory experimental study with post-test only control group design, 15 rats were divided into 1 placebo group and 4 treatment groups were given ethanol extract of pakoba stem skin dose of 200; 400; 600; 800 mg / KgBB for 30 days then all mice were terminated and Macroscopic and microscopic examination of hepatic organs and kidneys was carried out. The results showed no effect of the administration of ethanol extract of pakoba stem bark on the macroscopic picture of rats and hepatic rats, ie weight, volume and color of organs compared to negative controls ( $P> 0.05$ ). There was an effect of giving ethanol extract of pakoba bark to microscopic images of liver and kidney cells compared to negative controls ( $P <0.05$ ). The phytochemical content of the ethanol extract of pakoba stem bark is flavonoida, tannin, alkaloids and saponins

**Keywords:** Health promotion, puskesmas

**PENDAHULUAN**

Semakin tingginya penggunaan obat tradisional dikalangan masyarakat menandakan bahwa masyarakat pada

umumnya percaya akan khasiat dan kegunaan tanaman obat. Hal tersebut juga mendorong para ilmuwan untuk melakukan berbagai riset dan penelitian

terhadap tanaman obat yang secara empiris sering digunakan atau berpotensi sebagai obat. Dalam pengembangan teknologi pembuatan sediaan obat tradisional yang bermutu tinggi sangatlah diperlukan data-data mengenai tanaman obat tersebut baik itu kandungan senyawa fitokimianya maupun khasiat dan keamanan tanaman obat tersebut.<sup>1</sup>

Zat aktif pada tanaman obat umumnya dalam bentuk metabolit sekunder dan satu tanaman bisa menghasilkan beberapa metabolit sekunder sehingga hal ini memungkinkan tanaman tersebut memiliki lebih dari satu efek farmakologi. Efek tersebut dapat saling mendukung (*agonis*) tetapi ada juga bisa saling berlawanan (*antagonis*). Disamping itu beberapa obat tradisional baru diketahui memiliki efek toksik yang cukup serius setelah melewati berbagai pengujian toksikologi. Secara toksikologi, bahan yang berbahaya adalah suatu bahan (baik alami atau sintesis, organik maupun anorganik) yang karena komposisinya, jumlah, dosis dan bentuk tertentu dapat mempengaruhi fungsi organ tubuh manusia atau hewan sedemikian sehingga mengganggu kesehatan baik sementara, tetap atau sampai menyebabkan kematian.<sup>2</sup>

Tumbuhan asli Sulawesi Utara banyak digunakan sebagai obat tradisional. Beberapa tumbuhan berpotensi digunakan sebagai obat antidiabetes yaitu kulit batang pakoba (*Tricalysia minahassae*). Tumbuhan pakoba berasal dari genus *Syzygium*, tumbuh di daerah Minahasa. Tumbuhan ini dikenal dengan nama Pakuwa dan masyarakat Minahasa menggunakan kulit pohon tanaman pakoba sebagai wanteks untuk mewarnai pakaian dengan cara tradisional, buahnya dapat di makan dan dibuat rujak. Kulit batang pakoba mengandung flavonoida, saponin, tannin dan alkaloida serta memiliki efek penurunan kadar gula dalam darah sehingga berpotensi digunakan sebagai alternatif pengobatan penyakit diabetes mellitus.<sup>3,4,5</sup>

Potensi penggunaan kulit batang pakoba sebagai alternatif pengobatan diabetes sangat besar karena prevalensi penderita diabetes mellitus yang selalu meningkat dari tahun ke tahun. Menurut data Riskesdas 2013 prevalensi diabetes mellitus di Sulawesi Utara mengalami peningkatan dari 1.6% menjadi 3%.<sup>6</sup> Untuk menjamin keamanan penggunaan obat tradisional, diperlukan serangkaian pengujian toksikologi yang meliputi toksisitas akut, toksisitas subkronis, toksisitas kronis dan toksisitas selektif dan diharapkan melalui pengujian tersebut akan didapatkan data-data

mengenai tingkat keamanan pada penggunaan obat tradisional karena sampai saat ini tidak semua obat tradisional memiliki profil toksisitas yang lengkap untuk dapat menjamin keamanan penggunaannya.<sup>1</sup>

Toksisitas ekstrak kulit batang Pakoba sudah diteliti dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) menggunakan larva udang dan dari hasil uji BSLT diperoleh nilai *lethal concentration*(LC50) di bawah 1000 ppm dan menurut Meyer et al., (1982), hasil tes BSLT dengan nilai LC50 di bawah 1000 ppm diasumsikan bahwa ekstrak ini beracun.<sup>3,4</sup> Pengujian toksisitas akut yang dilakukan oleh Tangka J dkk (2015) pada mencit tidak menunjukkan adanya kerusakan atau kelainan pada gambaran mikroskopis dan makroskopis organ hepar pada maksimal dosis 5000 mg/KgBB tidak terjadi kematian hewan uji.<sup>7</sup>

Berdasarkan hal diatas yang menjadi permasalahan dalam penelitian ini belum diketahui pengaruh pemberian ekstrak etanol kulit batang pakoba (*Tricalysia minahassae*) terhadap gambaran makroskopis dan mikroskopis organ hepar dan ginjal pada tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*), sedangkan yang menjadi tujuan dari penelitian ini mengkaji pengaruh pemberian dosis ekstrak etanol kulit batang pakoba (*Tricalysia minahassae*)

selama 30 hari terhadap gambaran makroskopis berupa berat, volume dan warna organ hepar dan ginjal serta gambaran mikroskopis sel hepar dan ginjal pada tikus putih (*Rattus norvegicus*).

## **METODE PENELITIAN**

Penelitian eksperimental laboratorium dengan rancangan *post test only control group design*. Hewan uji yaitu 15 ekor tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) dibagi secara acak menjadi kelompok perlakuan dan kelompok kontrol. Pada kelompok kontrol (P1) merupakan kelompok kontrol yang hanya diberi placebo (CMC Natrium 0,5%), sedangkan kelompok perlakuan (P2, P3, P4 dan P5) adalah kelompok perlakuan yang diberi ekstrak etanol kulit batang pakoba dengan dosis 200 mg/kgBB, 400 mg/kgBB, 600 mg/kgBB, dan 800 mg/kgBB melalui per oral dengan dosis berulang pada tiap-tiap kelompok dan dipantau berat badannya selama 25 hari. Setelah mencapai 30 hari, tikus pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan dipuasakan makan tetapi minum tetap diberikan selama 8-12 jam kemudian tikus terminasi dan diambil hepar dan ginjal untuk dilakukan pemeriksaan histopatologi.

### **Alat dan Bahan**

Kulit batang Pakoba (*Tricalysia minahassae*) diperoleh dari Kota Tomohon, Desa Kakaskasen, diambil pada waktu pagi hari bagian kulit batang bagian korteks dari batang dahan dengan diameter batang minimal 15 cm, aqua destilata, Natrium CMC, hewan uji tikus putih jantan, berat badan 200-300 gram dan berumur 2-3 bulan, larutan giemza, tip biru, tip kuning, sarung tangan, masker, etanol 70%, pakan hewan uji, kapas pembersih, tabung darah EDTA, ketamin injeksi, pipa kapiler, set pewarnaan Hematoksilin-Eosin (HE)

Timbangan gram, pisau, blender, stoples, corong penyaring, rotary evaporator, cawan penguap 150 cc, mortir dan stamper, rak tabung, Erlenmeyer, beker gelas, batang pengaduk, penangas air, gelas arloji, labu takar 25 ml, gelas ukur 100 ml, gelas ukur 10 ml, kandang hewan uji, timer/stopwatch, timbangan hewan uji, jarum atau sonde oral untuk tikus, kaki segitiga, seperangkat alat untuk bedah minor, pinset, lup, mikroskop, neraca analitik, kaca objek, kamera, botol timbang, gelas arloji, tissue processor system, tissue embedding system, microtome, pipet mikro 10 ul; 100 ul; 500 ul dan 1000 ul, sentrifuse, staining jar, chamber preparasi jaringan, hot

plate magnetic stirrer, oven, spuit 1 ml dan 3 ml.

### **Lokasi penelitian**

Lokasi Penelitian di Laboratorium Toksikologi dan Laboratorium Sitohistoteknologi Jurusan Analisis Kesehatan Poltekkes Kemenkes Manado.

### **Pembuatan Ekstrak Etanol Kulit Batang Pakoba**

Kulit batang tanaman Pakoba (*Tricalysia minahassae*) bagian korteks dipisahkan dengan cara diserut dan dikeringkan terhindar dari cahaya matahari langsung, setelah itu dihaluskan dan diayak dengan derajat halus yang cocok sampai diperoleh serbuk agak halus (44/85) dengan bobot 3 s/d 4 Kg serbuk. Kemudian dilakukan maserasi dengan cara 10 bagian serbuk dituangi dengan 75 bagian etanol 95%, tutup, biarkan selama 5 hari terlindung dari cahaya matahari sambil sering diaduk, diserkai, diperas dan dicuci ampas dengan cairan penyari secukupnya, lalu pindahkan ke dalam bejana tertutup, dibiarkan ditempat sejuk, terlindung dari cahaya, selama 2 hari kemudian diendapkan, tuangkan atau disaring kemudian diuapkan pada tekanan rendah dengan suhu 50°C menggunakan Rotary Evaporator sampai diperoleh sejumlah volume yang masih

dapat tertuang ke cawan penguap dan uapkan sisa etanol diatas waterbath pada suhu 80°C sampai diperoleh ekstrak kental tanpa tercium bau etanol. Lalu ekstrak yang dihasilkan dilakukan pemeriksaan karakterisasi /skrining fitokimia ekstrak etanol kulit batang pakoba.<sup>9,10</sup>

#### **Aklimatisasi dan Seleksi Hewan Uji**

Sebelum digunakan hewan harus melalui tahap aklimatisasi terlebih dahulu, kandang hewan harus memenuhi syarat : suhu, kelembapan, cahaya, bunyi, nutrisi dan kebersihan. Pemilihan strain, jenis kelamin, berat badan dan umur harus tepat berusia 3-4 bulan dengan berat badan 200-300 g, kondisi sehat, aktivitas dan agresivitas normal, tidak ada cacat tubuh, suhu rektal 37,5°C, konsumsi pakan per hari 5 gr/100 grBB, konsumsi air minum per hari 8-11 ml/100 gr BB, eksresi urine per hari 5,5 ml/100 grBB, hewan uji ditempatkan pada kandang individual yang bersih dengan alas sekam, suhu ruangan laboratorium toksikologi dipertahankan pada suhu 25°C, selama proses aklimatisasi dipilih sejumlah hewan uji yang memenuhi syarat seperti diatas untuk digunakan sebagai subjek penelitian.<sup>8</sup>

#### **Pembuatan Sediaan Uji**

Sediaan uji yang terdiri dari ekstrak etanol kulit batang pakoba sesuai dosis perlakuan dibuat dengan melarutkannya dalam suspensi CMC 0,5% sampai volume tertentu dan ditempatkan dalam labu takar 25 ml.

#### **Perlakuan Hewan Uji**

Pemberian ekstrak etanol kulit batang pakoba menggunakan sonde lambung, dengan dosis berulang pada tiap-tiap kelompok selama 30 hari. Setelah mencapai 30 hari tikus dipuaskan makan tetapi minum tetap diberikan selama 8-12 jam kemudian terminasi dan dilakukan pemeriksaan histopatologi organ hepar dan ginjal. Pembuatan preparat histopatologi organ hepar dan ginjal dilakukan melalui beberapa tahap yaitu : fiksasi, embedding, blocking parafin, cutting, staining dan clearing yang dilaksanakan di laboratorium sitohistoteknologi.

#### **Analisis Data**

Setelah tahap perlakuan selesai maka akan diperoleh data-data histopatologis organ hepar dan ginjal secara makroskopis dan mikroskopis, Semua data disajikan dalam tabel, dianalisa secara deskriptif dan uji statistik *one way anova* dengan taraf kepercayaan 95% kemudian dilanjutkan dengan uji Tukey dan LSD untuk melihat

perbedaan antar kelompok bermakna ( $p < 0,05$ ) atau tidak bermakna ( $p > 0,05$ ).<sup>11</sup>

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Karakteristik Ekstrak Etanol Kulit Batang Pakoba

Proses maserasi dilakukan terhadap serbuk kulit batang Pakoba selama 7 hari dengan menggunakan pelarut etanol 95% dan cairan penyari ditarik menggunakan alat *rotary evaporator* pada suhu 50°C dengan kondisi vakum sehingga diperoleh cairan ekstrak kental yang dikeringkan diatas waterbath pada suhu 80°C. Konsistensi ekstrak yang terbentuk adalah kristal pada berwarna merah bata gelap dengan aroma khas.



Gambar 1. Konsistensi Ekstrak etanol kulit batang Pakoba berupa kristal padat berwarna merah bata gelap dengan aroma yang khas. (Sumber: dokumentasi penelitian)

Pengujian skrining fitokimia dilakukan untuk melihat kandungan fitokimia pada ekstrak etanol kulit batang Pakoba dapat dilihat pada tabel 1 dibawah ini yang menunjukkan kandungan fitokimia ekstrak etanol kulit

batang Pakoba adalah flavonoida, tanin dan saponin.

Hasil pemeriksaan karakteristik fitokimia ekstrak etanol kulit batang Pakoba menunjukkan adanya senyawa flavonoida, tanin dan saponin, dimana senyawa ini sudah terbukti memiliki aktifitas menurunkan gula darah pada penderita diabetes melitus.

Tabel 1 Hasil Pengujian Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Kulit Batang Pakoba

No	Parameter Pengujian	Hasil Pengujian	Metode Pengujian
1	Alkaloid	Positif	Reaksi Pengendapan
2	Flavonoid	Positif	Uji Bate-smith dan Metcalf
3	Tanin	Positif	Uji gelatin
4	Saponin	Positif	Uji Buih
5	Antrakinon	Negatif	Uji Borntrager

Hasil penelitian ini menunjukkan hasil yang sama seperti yang diteliti oleh Lis dkk (2012) dimana kulit batang Pakoba mengandung senyawa flavonoida, tanin dan saponin dan berpotensi sebagai tanaman obat yang berkhasiat menurunkan gula darah.

### Gambaran Makroskopis Ginjal

Parameter yang diamati pada gambaran makroskopis ginjal adalah berat, volume dan warna ginjal tikus. Pada tabel dibawah ini merupakan gambaran berat rata-rata ginjal tikus pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan pemberian ekstrak etanol kulit batang pakoba dosis 200; 400; 600 dan 800 mg/KgBB selama 30 hari.

Tabel 2 Gambaran Berat Rata-Rata Ginjal Tikus Kelompok Kontrol dan Kelompok Perlakuan pada pemberian Ekstrak Etanol Kulit Batang Pakoba Selama 30 Hari

Kelompok Perlakuan	Rata-rata berat ginjal tikus (gr), n =3
Kontrol Negatif	1,5667±0,30551
200 mg/KgBB	1,7767±0,41633
400 mg/KgBB	1,7333±0,05774
600 mg/KgBB	1,5000±0,30000
800 mg/KgBB	1,7000±0,31848

Pada tabel 2 diatas menunjukkan berat ginjal tikus yang paling tinggi adalah kelompok perlakuan dosis 200 mg/KgBB, sedangkan yang paling rendah kelompok perlakuan 600 mg/KgBB. Jika dibandingkan dengan kontrol maka berat ginjal tikus yang melebihi berat tikus kontrol adalah kelompok perlakuan dosis 200; 400 dan 800 mg/KgBB. Variasi berat ginjal

sangat dipengaruhi oleh berat badan, usia, intake makanan/minuman dan paparan senyawa toksik dan faktor abnormalitas ginjal itu sendiri. Paparan senyawa toksik pada ginjal dapat menyebabkan perubahan berat ginjal. Hal ini disebabkan terjadinya akumulasi cairan dan senyawa toksik dalam sel-sel ginjal yang menyebabkan terjadinya perubahan bobot ginjal.

Gambaran volume rata-rata ginjal tikus pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan pemberian ekstrak etanol kulit batang pakoba dosis 200; 400; 600 dan 800 mg/KgBB selama 30 hari dapat dilihat pada tabel 3, menunjukkan volume rata-rata ginjal tikus yang paling tinggi adalah kelompok perlakuan dosis 200 mg/KgBB, sedangkan yang paling rendah kelompok perlakuan 600 mg/KgBB.

Tabel 3 Gambaran Volume Rata-Rata Ginjal Tikus Kelompok Kontrol dan Kelompok Perlakuan pada pemberian Ekstrak Etanol Kulit Batang Pakoba Selama 30 Hari

Kelompok Perlakuan	Rata-rata volume ginjal tikus (ml), n=3
Kontrol Negatif	1,8333± 0,23570
200 mg/KgBB	1,8333±0,28868
400 mg/KgBB	1,6667±0,28868
600 mg/KgBB	1,5000±0,00000
800 mg/KgBB	1,6667±0,23570

Jika dibandingkan dengan kontrol maka berat ginjal tikus yang sama dengan berat tikus kontrol adalah kelompok perlakuan dosis 200 mg/KgBB sedangkan kelompok perlakuan lainnya nilai volume ginjal relatif lebih rendah dibandingkan kelompok kontrol. Variasi volume ginjal juga sangat dipengaruhi oleh berat badan, usia, intake makanan /minuman dan paparan senyawa toksik dan faktor abnormalitas ginjal itu sendiri. Paparan senyawa toksik pada ginjal dapat menyebabkan perubahan volume ginjal. Hal ini disebabkan terjadinya akumulasi cairan dan senyawa toksik dalam sel-sel ginjal yang menyebabkan terjadinya perubahan volume ginjal.

Tabel 4 dibawah ini memperlihatkan kondisi gambaran tampilan warna ginjal tikus pada

kelompok kontrol dan kelompok perlakuan pemberian ekstrak etanol kulit batang pakoba dosis 200; 400; 600 dan 800 mg/KgBB selama 30 hari.

Tabel 4. Gambaran Tampilan Warna Ginjal Tikus Kelompok Kontrol dan Kelompok Perlakuan pada pemberian Ekstrak Etanol Kulit Batang Pakoba Selama 30 Hari

Kelompok Perlakuan	Warna ginjal tikus (n=3)
Kontrol Negatif	Normal
200 mg/KgBB	Normal
400 mg/KgBB	Normal
600 mg/KgBB	Normal
800 mg/KgBB	Normal

Hasil pengamatan pada Tabel 4 menunjukkan tampilan warna pada ginjal tikus pada kelompok kontrol dan perlakuan menunjukkan warna normal. Warna normal ginjal tikus adalah merah bata. Jika terjadi kelainan umumnya warna ginjal akan berubah memudar karena terjadi kerusakan sel-sel ginjal. Pada gambar 2 dibawah ini menunjukkan kondisi dan tampilan ginjal tikus kelompok kontrol dan perlakuan pemberian ekstrak etanol kulit batang pakoba selama 30 hari.



(A) (B)  
Gambar 2. Kondisi dan tampilan ginjal tikus tikus kelompok kontrol dan perlakuan pemberian ekstrak etanol kulit batang pakoba selama 30 hari. (A). Ginjal Tikus Kelompok Kontrol; (B). Ginjal Tikus Kelompok Perlakuan

#### Gambaran Mikroskopis Ginjal

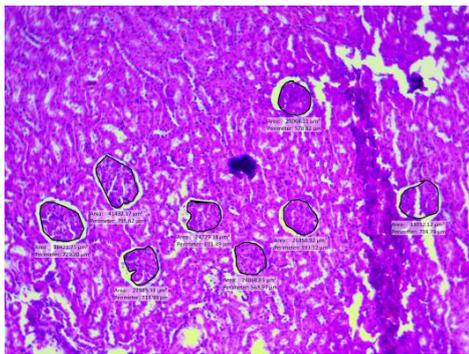
Gambaran mikroskopis ginjal yang diamati pada penelitian ini adalah ukuran dari sel filtrat glomerulus pada 10 lapang pandang yang diamati dibawah mikroskop pada perbesaran 400 kali dengan pewarnaan hematoxilinen eosin (HE). Tabel 5 dibawah ini merupakan gambaran rata-rata luas sel filtrat glomerulus tikus kelompok kontrol dan kelompok perlakuan pemberian ekstrak etanol kulit batang pakoba selama 30 hari.

Tabel 5 Gambaran rata-rata luas sel filtrat glomerulus tikus kelompok kontrol dan kelompok perlakuan pemberian ekstrak etanol kulit batang pakoba selama 30 hari.

Kelompok Perlakuan	Rata-rata luas sel filtrat glomerulus tikus (um <sup>2</sup> )
Kontrol Negatif	35.356,05±10.966,39
200 mg/KgBB	37.566,35±9.559,29
400 mg/KgBB	22.761,90±7.048,04
600 mg/KgBB	25.303,40±4.776,43
800 mg/KgBB	27.510,69±5.371,50

Berdasarkan tabel 5 diatas rata-rata luas sel filtrat glomerulus tikus menunjukkan nilai tertinggi terdapat pada kelompok dosis 200 mg/KgBB sedangkan nilai terendah pada kelompok 400 mg/KgBB. Nilai rata-rata luas sel filtrat glomerulus pada kelompok dosis 400; 600 dan 800 mg/KgBB lebih rendah dibandingkan kelompok kontrol. Kerusakkan sel filtrat glomerulus terjadi akibat paparan senyawa toksik yang menyebabkan terjadinya atrofi atau penciutan sel filtrat glomerulus. Pada gambar 3 dibawah ini memperlihatkan gambar lapang pandang sel-sel filtrat glomerulus. Sel-sel yang masih normal ditunjukkan oleh garis melingkar dan disertai ukuran. Kerusakkan ginjal dapat terjadi pada pemberian ekstrak tanaman obat. umumnya merusakkan yang terjadi

mengalami peningkatan seiring dengan kenaikan dosis. Kerusakan ginjal yang umum terjadi adalah kongesti. Kongesti adalah peningkatan cairan pada sel ginjal yang terjadi karena proses pasif kegagalan aliran cairan yang keluar dari jaringan ginjal misalnya pada kerusakan vena. Penelitian yang dilakukan oleh AF Manggarwati (2010) pada tanaman Valerian menunjukkan tanaman ini mampu menyebabkan kerusakan ginjal dan tingkat kerusakan semakin meningkat seiring dengan kenaikan dosis pemberian.<sup>14</sup>



Gambar 3. Ukuran beberapa sel-sel filtrat glomerulus ginjal pada tikus.

### Gambaran Makroskopis Hepar

Parameter yang diamati pada gambaran makroskopis hepar adalah berat, volume, warnadan tampilan permukaan. Pada tabel 6 dibawah ini merupakan gambaran berat rata-rata hepar tikus pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan pemberian ekstrak etanol kulit

batang pakoba dosis 200; 400; 600 dan 800 mg/KgBB selama 30 hari.

Tabel 6. Gambaran Berat Rata-Rata Hepar Tikus Kelompok Kontrol dan Kelompok Perlakuan pada pemberian Ekstrak Etanol Kulit Batang Pakoba Selama 30 Hari

Kelompok Perlakuan	Rata-rata berat Hepar tikus (gr), n=3
Kontrol Negatif	7,0667±1,69362
200 mg/KgBB	6,4000±1,77675
400 mg/KgBB	5,7000±0,75498
600 mg/KgBB	5,2333±0,49329
800 mg/KgBB	6,3667±1,19304

Pada tabel 6 diatas menunjukkan berat hepar tikus kelompok kontrol lebih tinggi nilainya dibandingkan semua kelompok perlakuan pemberian ekstrak etanol kulit batang pakoba. Variasi berat hepar sangat dipengaruhi oleh berat badan, usia, intake makanan/minuman dan tingkat kerusakan atau abnormalitas hepar. Umumnya semakin berkurang berat hepar berarti sedang terjadi kerusakan sel-sel hepar atau nekrosis yang tidak diimbangi dengan regenerasi sel-sel hepar. Kerusakan tersebut akibat paparan senyawa-senyawa toksik.

Gambaran volume rata-rata hepar tikus pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan pemberian ekstrak

etanol kulit batang pakoba dosis 200; 400; 600 dan 800 mg/KgBB selama 30 hari dapat dilihat pada tabel 7. Pada tabel 7 menunjukkan volume rata-rata hepar tikus kelompok kontrol lebih tinggi nilainya dibandingkan semua kelompok perlakuan pemberian ekstrak etanol kulit batang pakoba, sedangkan volume rata-rata hepar tikus antar kelompok pemberian Ekstrak Etanol Kulit Batang Pakoba relatif tidak menunjukkan adanya perbedaan yang berarti.

Tabel 7. Gambaran Volume Rata-Rata Hepar Tikus Kelompok Kontrol dan Kelompok Perlakuan pada pemberian Ekstrak Etanol Kulit Batang Pakoba Selama 30 Hari

Kelompok Perlakuan	Rata-rata volume Hepar tikus (ml), n=3
Kontrol Negatif	7,0000±1,00000
200 mg/KgBB	5,8333±1,60728
400 mg/KgBB	5,3333±0,76376
600 mg/KgBB	5,0000±0,50000
800 mg/KgBB	6,0000±1,32288

Gambaran tampilan warna hepar tikus kelompok kontrol dan kelompok perlakuan pemberian ekstrak etanol kulit batang pakoba selama 30 hari dapat dilihat pada tabel 8.

Berdasarkan hasil pengamatan pada tabel 8 menunjukkan gambaran

tampilan warna hepar tikus kelompok kontrol dan perlakuan semuanya normal. Warna normal hepar tikus yaitu merah bata (lihat gambar 8), adanya kelainan warna pada hepar menunjukkan tingkat kerusakan sel hepar.

Tabel 8. Gambaran Tampilan Warna Hepar Tikus Kelompok Kontrol dan Kelompok Perlakuan pada pemberian Ekstrak Etanol Kulit Batang Pakoba Selama 30 Hari

Kelompok Perlakuan	Warna Hepar tikus, n=3
Kontrol Negatif	Normal
200 mg/KgBB	Normal
400 mg/KgBB	Normal
600 mg/KgBB	Normal
800 mg/KgBB	Normal

Distribusi warna hepar disetiap bagian hepar juga menunjukkan tingkat kerusakan hepar karena adanya pembagian zona pada hepar berdasarkan letak pembuluh darah besar.<sup>7</sup> Pada gambar 4 (B) tampak permukaan hepar tikus kelompok perlakuan yang mengalami multifokal hepatitis dengan gambaran makroskopik permukaan hati tampak foci nekrotik berwarna putih kekuningan dan ukuran agak membesar. Peradangan pada hepar ini sering disertai infiltrasi sel neutrofil dan makrofag.<sup>12</sup>



(A) (B)  
Gambar 4. Kondisi dan tampilan hepar tikus tikus kelompok kontrol dan perlakuan pemberian ekstrak etanol kulit batang pakoba selama 30 hari. (A). Hepar Tikus Kelompok Kontrol; (B). Hepar Tikus Kelompok Perlakuan, tampak adanya abnormalitas pada permukaan sel hepar

#### Gambaran Mikroskopis Hepar

Gambaran mikroskopis hepar ditunjukkan dengan adanya beberapa tingkat kerusakan sel hepatosit. Kerusakan sel hepatosit dapat bersifat reversibel dan ireversibel. Pada penelitian ini tingkat kerusakan sel hepatosit yang diamati adalah degenerasi parenkimatosa, degenerasi hidropik dan nekrosis. Pengamatan histopatologis dilakukan dengan pewarnaan HE pada 10 lapang pandang hepar.

Gambaran jumlah sel normal, sel degenerasi parenkimatosa, degenerasi hidropik dan nekrosis pada hepar tikus kelompok kontrol dan kelompok perlakuan pemberian ekstrak etanol kulit batang pakoba selama 30 hari dapat dilihat pada tabel 9.

Hasil penelitian yang ditunjukkan pada tabel 9 diatas yaitu jumlah sel yang mengalami degenerasi parenkimatosa pada kelompok dosis 200 mg/KgBB lebih tinggi dibandingkan kelompok dosis 400; 600 dan 800 mg/KgBB, jumlah sel yang mengalami degenerasi hidropik pada kelompok perlakuan dosis 600 mg/KgBB lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok dosis 200, 400 dan 800 mg/KgBB, sedangkan jumlah sel nekrosis pada kelompok 800 mg/KgBB lebih tinggi dibandingkan kelompok kontrol, kelompok perlakuan dosis 200; 400 dan 600 mg/KgBB.

Tabel 9. Gambaran Jumlah sel normal, sel degenerasi parenkimatososa, degenerasi hidropik dan nekrosis pada hepar tikus kelompok kontrol dan kelompok perlakuan pemberian ekstrak etanol kulit batang pakoba selama 30 hari.

Kelompok	Jumlah sel pada 10 lapang pandang mikroskopik dengan perbesaran 400 kali, pewarnaan HE		
	Degenerasi Parenkimatososa	Degenerasi Hidropik	Nekrosis
Kontrol	672±8,08	516±15,63	322±4,83
200 mg/KgBB	534±11,41	260±6,84	832±8,33
400 mg/KgBB	484±12,78	402±7,07	726±7,68
600 mg/KgBB	618±6,40	562±9,36	466±8,10
800 mg/KgBB	264±4,84	252±3,97	1084±8,01

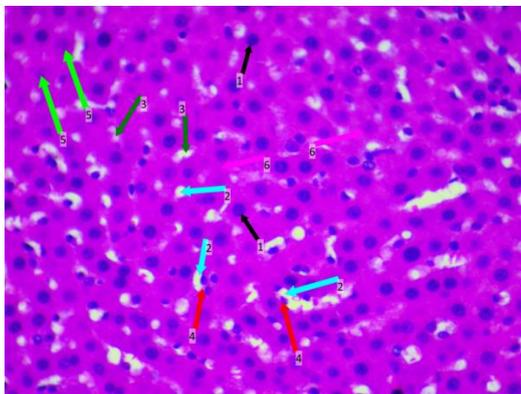
Tingkatan kerusakan sel hepar dapat dibagi dalam 3 tahap yaitu : degenerasi parenkimatososa, degenerasi hidropik, dan nekrosis. Sel yang mengalami degenerasi adalah perubahan morfologi sel yang bersifat reversibel. Perubahan ini ditandai adanya akumulasi beberapa produk hasil metabolisme seperti air, lemak, protein, glikogen. Kondisi seperti ini dapat dikatakan terjadinya akumulasi patologis intraseluler (lihat gambar 5). Degenerasi parenkimatososa merupakan degenerasi paling ringan, terjadi pembengkakan dan kekeruhan sitoplasma. Degenerasi ini reversibel karena hanya terjadi pada mitokondria dan retikulum endoplasma akibat gangguan oksidasi. Sel yang terkena jejas tidak dapat mengeliminasi air sehingga tertimbun di dalam sel dan sel mengalami pembengkakan. Terjadi peningkatan produksi asam lemak.

Secara makroskopik terlihat ukuran sel membesar, inti sel terdesak ke tepi, terdapat vakuola lemak, dan vakuola tampak kosong pada pewarnaan HE.<sup>12</sup>

Degenerasi hidropik merupakan derajat kerusakan yang lebih berat, disebut juga *balloning degeneration*, tampak vakuola yang berisi air dalam sitoplasma dan kelihatan jernih. Perubahan ini umumnya merupakan akibat gangguan metabolisme seperti hipoksia atau keracunan bahan kimia. Secara mikroskopik tampak pembesaran ukuran sel karena akumulasi cairan di sitoplasma, inti sel normal (lihat gambar 5). Degenerasi ini juga bersifat reversibel meskipun tidak menutup kemungkinan bisa menjadi irreversibel apabila penyebab cederanya menetap.

Sel yang telah cedera kemudian bisa mengalami robekan membran plasma dan perubahan inti sehingga sel

mati atau nekrosis dengan gambaran inti piknotik.<sup>12</sup> Beberapa obat tradisional dapat menyebabkan kerusakan hepar, bahkan tanaman obat yang sudah sering dikonsumsi masyarakat pada umumnya ternyata dapat menimbulkan kerusakan pada sel-sel hepatosit seperti pada penelitian yang dilakukan oleh Hestianah E.P dkk (2014) menemukan komponen toksik dari *Curcuma aeruginosa* Rhizoma yang dapat menyebabkan nekrosis pada sel-sel hepatosit mencit.<sup>13</sup>



Gambar 5. Gambaran mikroskopik sel-sel hepatosit pada pembesaran 400 kali, pewarnaan HE. Ket. 1. Sel Normal; 2. Vakuola; 3. Sinusoid; 4. Sel degenerasi parenkimatososa; 5. Degenerasi hidropik; 7. Sel nekrosis

### Analisis Statistik

Gambaran makroskopis hepar dan ginjal yang meliputi berat, volume dan tampilan warna, dianalisis secara statistik uji anova one way dengan menggunakan SPSS versi 20. Nilai signifikansi berat ginjal, volume ginjal, berat hepar dan volume hepar adalah  $P$

$> 0,05$  sehingga nilai berat ginjal, volume ginjal, berat hepar dan volume hepar tidak berbeda signifikan dan dapat disimpulkan tidak ada pengaruh nilai berat ginjal, volume ginjal, berat hepar dan volume hepar pada kelompok perlakuan dengan pemberian ekstrak etanol kulit batang pakoba selama 30 hari dibandingkan kelompok kontrol.

Hasil uji statistik pengaruh luas sel filtrat glomerulus terhadap kelompok kontrol dan kelompok perlakuan dengan pemberian ekstrak etanol kulit batang pakoba dengan nilai signifikansi luas sel filtrat glomerulus ginjal tikus  $P < 0,05$  sehingga nilai luas sel filtrat glomerulus ginjal tikus berbeda signifikan dan dapat disimpulkan ada pengaruh luas sel filtrat glomerulus ginjal tikus pada kelompok perlakuan dengan pemberian ekstrak etanol kulit batang pakoba selama 30 hari dibandingkan kelompok kontrol

Hasil uji statistik pengaruh tingkat kerusakan sel hepatosit terhadap kelompok kontrol dan kelompok perlakuan dengan pemberian ekstrak etanol kulit batang pakoba nilai signifikansi sel-sel hepatosit tikus yang mengalami degenerasi parenkimatososa, hidropik dan nekrosis adalah  $P < 0,05$  sehingga nilai sel-sel hepatosit tikus yang mengalami degenerasi parenkimatososa, hidropik dan nekrosis berbeda signifikan dan dapat disimpulkan terdapat pengaruh sel-sel

hepatosit tikus yang mengalami degenerasi parenkimatos, hidropik dan nekrosis pada kelompok perlakuan dengan pemberian ekstrak etanol kulit batang pakoba selama 30 hari dibandingkan kelompok kontrol. Variasi dosis yang paling mempengaruhi tingkat kerusakan sel yaitu dosis 600 mg/KgBB pada sel yang mengalami degenerasi hidropik, dosis 800 mg/KgBB mempengaruhi sel yang mengalami nekrosis.

#### **KESIMPULAN**

1. Tidak ada pengaruh dosis terhadap perubahan gambaran makroskopis hepar tikus pada pemberian ekstrak etanol kulit batang pakoba (*Tricalysia minahassae*) dibandingkan dengan kelompok kontrol
2. Ada pengaruh dosis terhadap perubahan gambaran mikroskopis hepar tikus yang terjadi pada pemberian ekstrak etanol kulit batang pakoba (*Tricalysia minahassae*) dibandingkan dengan kelompok kontrol
3. Tidak ada pengaruh dosis terhadap perubahan gambaran makroskopis ginjal tikus yang terjadi pada pemberian ekstrak etanol kulit batang pakoba (*Tricalysia minahassae*) dibandingkan dengan kelompok kontrol

4. Ada pengaruh dosis terhadap perubahan gambaran mikroskopis ginjal tikus yang mungkin terjadi pada pemberian ekstrak etanol kulit batang pakoba (*Tricalysia minahassae*) dibandingkan dengan kelompok kontrol

#### **SARAN**

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk melihat perubahan parameter kimia klinik terhadap fungsi hepar dan ginjal
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap toksisitas sub kronis untuk mengkaji lebih dalam tingkat keamanan penggunaan ekstrak etanol kulit batang pakoba sebagai obat antidiabetes

#### **DAFTAR PUSTAKA**

1. Dewoto HR, Pengembangan Obat Tradisional Indonesia Menjadi Fitofarmaka. Majalah Kedokteran Indonesia. 2007.57(7):205-211.
2. Tracy ST, Kingston RL. Herbal Product Toxicology and Clinical Pharmacology. Second Edition. Humana Press Totowa. New Jersey. 2007. p.6-15.
3. Lis N and Julianus K. Utilization of Natural Plant by The North Sulawesi Community as a Lowering of Diabetic. Prosiding International Conference on Forest and Biodiversity. Manado 5 Juli, 2013:443-452.
4. Lis N, Supratman T, Muh. Syarif. Senyawa Kimia dan Toksisitas

- Ekstrak Kulit Pakoba (*Tricalysia minahassae*) Berpotensi sebagai Penurun Gula Darah. Prosiding Seminar Nasional Masyarakat Peneliti Kayu Indonesia XV. Makassar 6-7 November, 2012:498-504.
5. Sukandar. D, Tatu. R, Tumbol. M., Uji Aktivitas Antidiabetes Dari Ekstrak Etanol Kulit Batang Pakoba (*Tricalysia minahassae*) Terhadap Tikus Putih Jantan (*Rattus norvegicus*) Yang Diinduksi Aloxxan. Risbinakes 2014.(unpublish).
  6. Riset Kesehatan Dasar 2013. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kementerian Kesehatan RI. 2013. Halaman 121.
  7. Tangka J, Barung EN, Bongakaraeng. Toksisitas Akut Dan Pengaruh Pemberian Ekstrak Kulit Batang Pakoba (*Tricalysia minahassae*) Pada Hepar Mencit. Risbinakes 2015. (Unpublish).
  8. *Harmita, Maksum R. Buku Ajar Analisis Hayati. Edisi 3. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC. 2008. p.42-77, 159-163.*
  9. Dirjen Pemeriksaan Obat dan Makanan.Farmakope Indonesia. Edisi III. Jakarta. Departemen Kesehatan RI. 1979.p. 32-33.
  10. Raaman N. Phytochemical Techniques. India. Jai Barat Printing Press. 2006. p.9-10, 19-24, 197-274.
  11. Wirakusumah FF, Satari HS. Konsistensi Penelitian dalam Bidang Kesehatan. Bandung. Refika Aditama. 2010. p.40-84.
  12. Azmijah A, Darsoeno R, Arimbi, dkk. Buku Petunjuk Praktikum Patologi Umum. Surabaya. Departemen Patologi Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. 2015.p. 7-8, 10-11
  13. Hestianah E.P, Kusumawati I, Tri Suwanti L, Subekti S. Toxic compounds of *Curcuma aeruginosa* causes necrosis of mice hepatocytes. *Universa Medicine*. 33(2); 2014. p:118-125
  14. Manggarwati, Andina Fitriana. *Uji Toksisitas Subkronis Ekstrak Valerian pada Tikus Wistar: Studi Terhadap Gambaran Mikroskopis Ginjal dan Kadar Kreatinin*. 2010. PhD Thesis. Faculty of Medicine.