

**Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Leilem (*Clerodendrum minahassae*)
Terhadap Gambaran Histopatologik Hepar Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*)
yang Diinduksi Obat Parasetamol Dosis Toksik**

*(The Effect of Giving Leilem (*Clerodendrum minahassae*) Leaf Extract on the
Histopathological Features of the Liver of Wistar Rats (*Rattus norvegicus*) Induced by
Toxic Doses of Paracetamol)*

Vania¹⁾, Meilany F. Durry^{2)*}, Carla F. Kairupan²⁾

¹⁾ Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Sam Ratulangi Manado

²⁾ Bagian Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Sam Ratulangi Manado

*Email korespondensi: meilanydurry@unsrat.ac.id

ABSTRAK

Daun leilem mengandung senyawa fenol dan flavonoid yang relatif tinggi yang berpotensi terhadap aktivitas antioksidan dalam melindungi hepar dari radikal bebas yang salah satunya dapat diakibatkan oleh penggunaan parasetamol dosis toksik. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak daun leilem terhadap gambaran histopatologik hepar tikus wistar yang diberikan parasetamol dosis toksik. Penelitian eksperimental ini terbagi menjadi 5 kelompok. Kelompok A tidak diberikan perlakuan selama 14 hari. kelompok B, C, D, dan E diberikan parasetamol 270 mg/kgBB pada 14 hari pertama. Kelompok C tidak diberi perlakuan pada 7 hari berikutnya. Kelompok D dan E diberikan ekstrak daun leilem masing-masing 150 mg/kgBB dan 300 mg/kgBB selama 3 hari berikutnya. Kelompok A menunjukkan gambaran histopatologik hepar tikus normal. Kelompok B menunjukkan nekrosis, degenerasi sel, dan sebum sel radang. Kelompok C, D, dan E tampak adanya regenerasi sel tetapi masih terdapat juga nekrosis dan degenerasi sel. Serta pada kelompok C masih terdapat sebum sel radang. Pemberian ekstrak daun leilem mampu membantu proses regenerasi sel hepatosit dan menghambat reaksi inflamasi yang ditandai dengan pengurangan sebum sel radang, nekrosis, dan degenerasi sel pada hepar tikus wistar yang diberikan parasetamol dosis toksik. Dosis ekstrak daun leilem 150 mg/kgBB dan 300 mg/kgBB tidak menunjukkan perbedaan yang jelas terkait regenerasi sel hepar.

Kata kunci: parasetamol; daun leilem; hepar; histopatologik

ABSTRACT

Leilem leaves contain relatively high phenol and flavonoid compounds that have potential for antioxidant activity in protecting the liver from free radicals, one of which can be caused by the use of toxic doses of paracetamol. The purpose of this research is to determine the effects of leilem leaf extract on the histopathologic features of wistar rat liver that given toxic dose of paracetamol. This experimental study divided into 5 groups. Group A was not given treatment for 14 days. Groups B, C, D, and E were given 270 mg/kgBB paracetamol for the first 14 days. Group C was not given treatment for the next 7 days. Groups D and E were given leilem leaf extract 150 mg/kgBB and 300 mg/kgBB respectively for the next 3 days. Group A showed normal histopathologic features of liver's rat. Group B showed necrosis, cell degeneration, and inflammatory cell infiltrates. Groups C, D, and E showed cell regeneration but there was still necrosis and cell degeneration. And in group C there are inflammatory cell infiltrates. Leilem leaf extract is able to help the process of hepatocyte cell regeneration and inhibit inflammatory reactions that characterized by a reduction in inflammatory cell infiltrates, necrosis, and cell degeneration in liver's rats that given toxic doses of paracetamol. Doses of leilem leaf extract 150 mg/kgBW and 300 mg/kgBW did not show obvious differences related to regeneration of hepatocyte cell.

Key words: paracetamol; leilem leaf; liver; histopathology

PENDAHULUAN

Hepar adalah salah satu organ penting yang berfungsi dalam mendukung metabolisme, pencernaan, imunitas, serta detoksifikasi xenobiotik (Kalra *et al.*, 2023). Salah satu penyebab kerusakan sel hepar adalah penggunaan senyawa kimia yang mempunyai daya hepatotoksik (Chitturi *et al.*, 2022). Hepatotoksisitas

yang diinduksi obat (*Drug Induced Liver Injury* atau DILI) merupakan cedera hepar oleh obat (Sahar *et al.*, 2023). Parasetamol atau asetaminofen merupakan salah satu obat yang sering mengakibatkan hepatotoksisitas yang diinduksi obat (Francis *et al.*, 2023). Penggunaan parasetamol secara berlebih atau dengan dosis berlebih akan menghabiskan simpanan *glutathione* seluler yang menyebabkan peningkatan pembentukan radikal bebas dan akhirnya akan menginduksi kematian sel (Saccomano, 2019). Oleh sebab itu, perlu dilakukan pengurangan pembentukan radikal bebas yang salah satunya dapat dilakukan dengan pemberian hepatoprotektor yang dapat melindungi hepar.

Daun leilem (*Clerodendrum minahasae*) merupakan tanaman khas Sulawesi Utara dan sering digunakan pada berbagai makanan yang berbasis daging dan ikan. Selain itu, masyarakat banyak menggunakan daun leilem sebagai obat sakit perut, penyakit paru-paru, serta obat cacingan (Rachmatiah *et al.*, 2022). Daun leilem mengandung senyawa polifenol yang potensial terhadap aktivitas antioksidan, serta mengandung kadar total flavonoid dan fenolik yang relatif tinggi yang berperan sebagai pengendali oksidasi yang dihasilkan dari radikal bebas. Penelitian sebelumnya menyimpulkan bahwa ekstrak etanol daun leilem dapat mengandung fenol total sebesar 139,88 mg/g dan flavonoid total sebesar 34,46 mg/g (Kairupan *et al.*, 2019).

Berdasarkan pencarian literatur yang dilakukan peneliti, belum terdapat pengujian spesifik terkait pemanfaatan tumbuhan leilem sebagai pengobatan alternatif hepatotoksisitas, terutama terkait gambaran histopatologik dari hepar. Hal tersebut membuat peneliti tertarik dalam meneliti pengaruh daun leilem terhadap gambaran histopatologik hepar tikus wistar yang diinduksi obat parasetamol.

METODE

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Sam Ratulangi Manado pada bulan Agustus hingga Desember 2023. penelitian ini adalah penelitian eksperimental dengan subjek penelitian yaitu 25 ekor tikus wistar jantan dengan berat 150-200 g. Penelitian ini menggunakan parasetamol berupa parasetamol tablet 500 mg dengan pemberian dosis toksik 270 mg/kgBB/hari. Ekstrak daun leilem dibuat dengan metode maserasi dan digunakan dengan dosis 150 mg/kgBB/hari dan 300 mg/kgBB/hari. Parasetamol dan ekstrak daun leilem masing-masing dilarutkan menggunakan 1 ml dan 2 ml aquades dan pemberian dilakukan secara oral dengan menggunakan sonde.

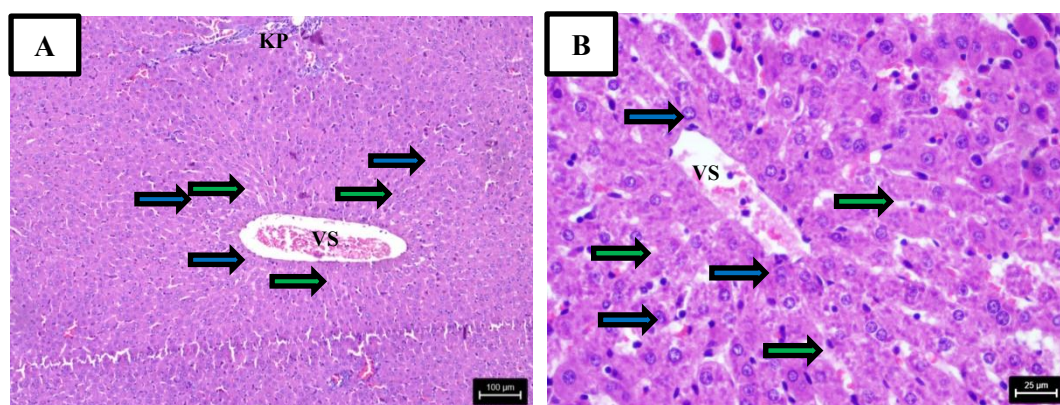
Subjek penelitian terbagi dalam 5 kelompok dengan 5 ekor hewan coba pada setiap kelompok. Kelompok A atau kontrol negatif hanya diberikan makan pelet selama 14 hari. Kelompok B atau kontrol positif diberikan parasetamol selama 14 hari. Kelompok C atau kelompok perlakuan 2 diberikan parasetamol pada 14 hari pertama dan selanjutnya diberikan makan pelet selama 7 hari. Kelompok D atau kelompok perlakuan 3 diberikan parasetamol pada 14 hari pertama dan selanjutnya diberi ekstrak daun leilem berdosis 150 mg/kgBB/hari selama 3 hari. Kelompok E atau kelompok perlakuan 4 diberi parasetamol pada 14 hari pertama dan selanjutnya diberi ekstrak daun leilem berdosis 300 mg/kgBB/hari selama 3 hari. Terminasi hewan coba dilaksanakan di hari ke-15, hari ke-18, dan hari ke-22

untuk diambil organ hepar. Selanjutnya, organ hepar tersebut diproses menjadi preparat histopatologik dan digunakan mikroskop cahaya untuk mengamati preparat.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kelompok A (kontrol negatif)

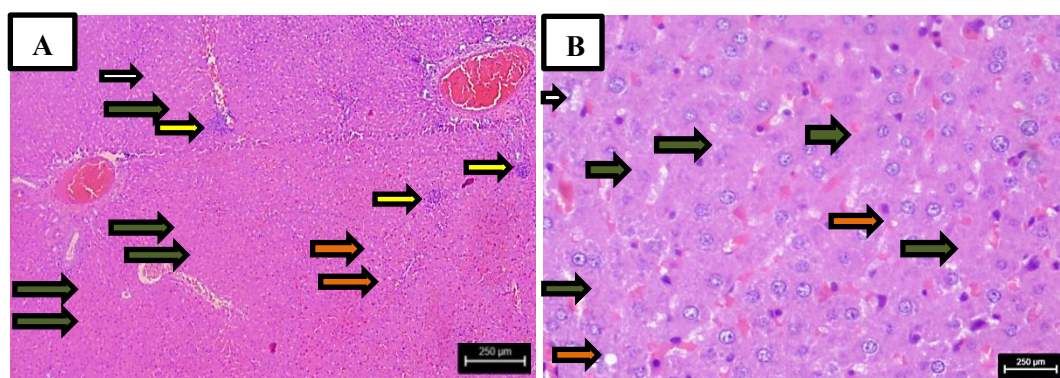
Kelompok tikus wistar ini diberi makan pelet selama 14 hari kemudian diterminasi pada hari ke-15. Pada kelompok ini menunjukkan struktur dari sel hepatosit normal yang tampak pada **Gambar 1**. Tampak letak, susunan dan struktur yang normal dari sel hepatosit, sinusoid, vena sentralis, serta kanalis porta pada gambaran histopatologik kelompok ini.



Gambar 1. Gambar histopatologik hepar tikus wistar kelompok A (kontrol negatif). Terlihat gambaran histopatologik hepar tikus wistar yang normal dengan struktur sel hepatosit (panah biru), sinusoid (panah hijau), vena sentralis (VS), dan kanalis porta (KP). Pewarnaan: Hematoksilin dan Eosin. A: Pembesaran 100x dan B: Pembesaran 400x.

Kelompok B

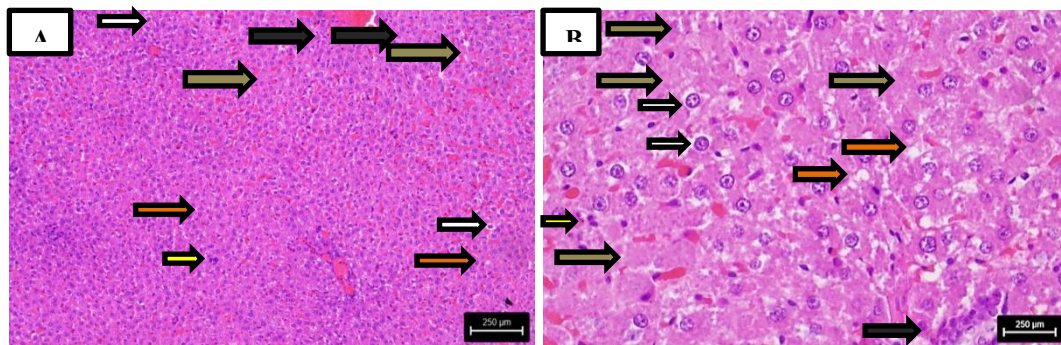
Kelompok tikus wistar ini diberi parasetamol berdosisi 270 mg/kgBB pada 14 hari pertama kemudian diterminasi pada hari ke-15. Pada **Gambar 2**, terlihat adanya sebaran sel radang, nekrosis, degenerasi lemak, dan degenerasi hidropik pada gambaran histopatologik kelompok ini.



Gambar 2. Gambar histopatologik hepar tikus wistar kelompok B (kontrol positif). Terlihat gambaran histopatologik hepar yang abnormal dengan ditandai adanya nekrosis (panah hijau), sebaran sel radang (panah kuning), degenerasi lemak (panah jingga), dan degenerasi hidropik (panah putih). Pewarnaan: Hematoksilin dan Eosin. A: Pembesaran 100x dan B: Pembesaran 400x.

Kelompok C

Kelompok tikus wistar ini diberi parasetamol berdosis 270 mg/kgBB pada 14 hari pertama kemudian pada 7 hari berikutnya diberikan makan pelet dan diterminasi pada hari ke-22. Pada **Gambar 3**, terlihat adanya regenerasi sel hepatosit tetapi masih terdapat juga nekrosis, sebulan sel radang, degenerasi lemak, serta degenerasi hidropik pada gambaran histopatologik kelompok ini. Pada **Gambar 3**, juga tampak inti sel hepatosit yang lebih jelas yang ditandai dengan inti sel hepatosit berwarna lebih gelap bila dibandingkan dengan kelompok B.



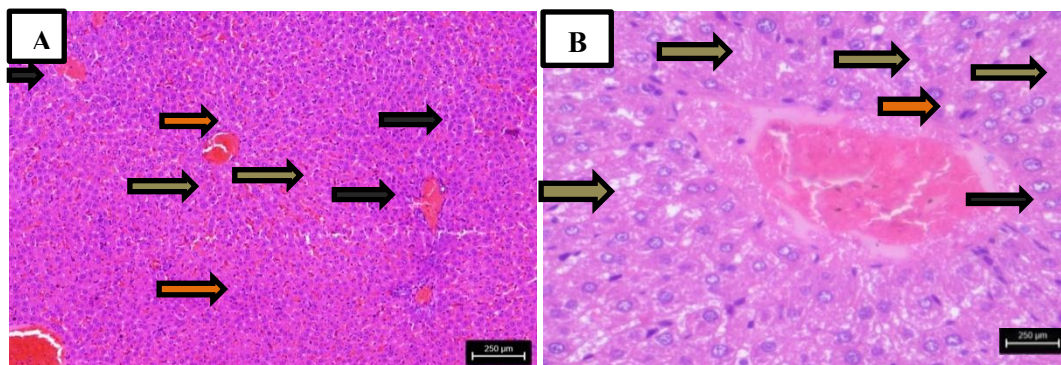
Gambar 3. Gambar histopatologik hepar tikus wistar kelompok C (Kelompok Perlakuan 2).

Terlihat gambaran histopatologik hepar yang abnormal dengan ditandai adanya nekrosis (panah hijau tua), sebulan sel radang (panah kuning), degenerasi lemak (panah jingga), dan degenerasi hidropik (panah putih). Selain itu, tampak adanya regenerasi sel hepatosit (panah hitam).

Pewarnaan: Hematoksilin dan Eosin. A: Pembesaran 100x dan B: Pembesaran 400x.

Kelompok D

Kelompok tikus wistar ini diberi parasetamol berdosis 270 mg/kgBB pada 14 hari pertama kemudian pada 3 hari berikutnya diberikan ekstrak daun leilem berdosis 150 mg/kgBB dan diterminasi pada hari ke-18. Pada **Gambar 4**, terlihat adanya regenerasi sel hepatosit tetapi masih terdapat nekrosis dan degenerasi lemak. Nekrosis tampak berkurang bila dibandingkan dengan kelompok C (kelompok perlakuan 2) serta tidak terdapat sebulan sel radang pada gambaran histopatologik kelompok ini.

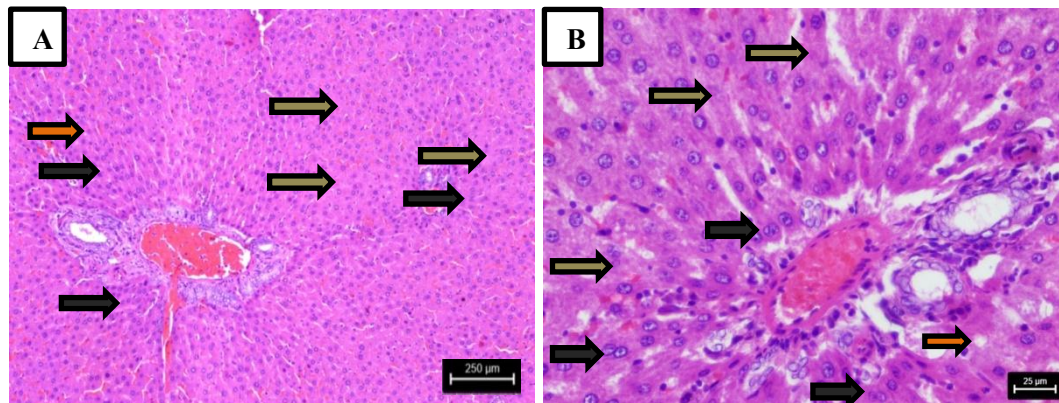


Gambar 4. Gambar histopatologik hepar tikus wistar kelompok D (Kelompok Perlakuan 3).

Terlihat gambaran histopatologik hepar yang abnormal dengan ditandai adanya nekrosis (panah hijau tua), degenerasi lemak (panah jingga). Selain itu, tampak adanya regenerasi sel hepatosit (panah hitam). Pewarnaan: Hematoksilin dan Eosin. A: Pembesaran 100x dan B: Pembesaran 400x.

Kelompok E

Kelompok tikus wistar ini diberi parasetamol berdosis 270 mg/kgBB pada 14 hari pertama kemudian pada 3 hari berikutnya diberikan ekstrak daun leilem berdosis 300 mg/kgBB dan diterminasi pada hari ke-18. Pada **Gambar 5**, terlihat adanya regenerasi sel hepatosit tetapi masih terdapat degenerasi lemak dan nekrosis. Pada kelompok ini terlihat nekrosis sel hepatosit yang lebih banyak namun degenerasi lemak tampak cenderung lebih sedikit dibandingkan dengan kelompok D.



Gambar 5. Gambar histopatologi hepar tikus wistar kelompok E (Kelompok Perlakuan 4). Tampak gambaran histopatologi hepar yang abnormal dengan ditandai adanya nekrosis (panah hijau tua), degenerasi lemak (panah jingga). Selain itu, tampak adanya regenerasi sel hepatosit (panah hitam). Pewarnaan: Hematoksin dan Eosin. A: Pembesaran 100x dan B: Pembesaran 400x.

Hepar adalah salah satu organ yang berperan penting dalam mendukung metabolisme, pencernaan, imunitas, serta detoksifikasi xenobiotik (Kalra *et al.*, 2023). Secara mikroskopik, bagian lobulus hepar tersusun atas vena sentralis yang dikelilingi oleh sel hepatosit serta sinusoid yang menghubungkan kanalis porta (Sherwood. 2013). Hal tersebut terlihat pada hasil penelitian kelompok A yang menunjukkan letak, susunan, serta struktur normal dari sel hepatosit, sinusoid, vena sentralis, serta kanalis porta.

Salah satu penyebab kerusakan hepar adalah penggunaan obat yang mempunyai daya hepatotoksik, seperti parasetamol dengan dosis toksik atau berlebih. Parasetamol adalah obat antipiretik dan analgesik para-aminofenol yang bila digunakan dengan dosis berlebih dapat menyebabkan kerusakan hepar salah satunya adalah nekrosis sel hepatosit (Sahar, 2023). Nekrosis merupakan kematian sel yang dalam penelitian ini disebabkan oleh berbagai proses stres oksidatif akibat penumpukan NAPQI. Protein mitokondria akan berikatan dengan NAPQI kemudian membentuk adisi sitotoksik yang menyebabkan disfungsi mitokondria dan nekrosis sel hepatosit yang parah (Freo *et al.*, 2021).

Hasil penelitian ini memperlihatkan bahwa kelompok B, C, D, dan E yang diberikan parasetamol dosis toksik menunjukkan adanya nekrosis sel hepatosit, di mana kelompok B yang menunjukkan paling banyak dan kelompok D yang paling sedikit nekrosis sel hepar dibandingkan dengan kelompok hewan coba lainnya. Pada kelompok B juga terlihat adanya nekrosis zonal yang parah dan ditandai dengan nekrosis yang melibatkan lebih dari satu zona dalam suatu lobulus

dan/atau meluas dari satu lobulus ke lobulus lain yang berdekatan (Krishna, 2017). Selain itu juga, pada kelompok B memperlihatkan hasil yang sejalan dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Parapaga *et al.* (2018) yaitu pada kelompok yang diinduksikan parasetamol tampak adanya nekrosis yang banyak.

Parasetamol dosis toksik akan dibioaktifasi menjadi NAPQI reaktif yang akan berikatan dengan makromolekul seluler dan akan merusak sel hepatosit. Sehingga menyebabkan terjadinya pelepasan pola molekul terkait kerusakan (DAMPs) yang menstimulasi sel inflamasi dan produksi mediator inflamasi seperti sel Kupffer, neutrofil polimorfonuklear (PMN), dan sel pembunuh alami (NK) (Roth *et al.*, 2013). Sehingga efek hepatotoksik langsung dari NAPQI dapat menimbulkan reaksi inflamasi berupa sebaran sel radang (Freo *et al.*, 2021). Mekanisme di atas menjelaskan hasil dari kelompok B dan C pada penelitian ini yang menunjukkan adanya sebaran sel radang.

Selain itu, NAPQI menargetkan protein mitokondria serta saluran ion yang dapat menyebabkan hilangnya produksi energi serta ketidakseimbangan ion (Freo *et al.*, 2021). Jika terjadi gangguan metabolisme dan pompa sel ATP-ase maka akan menyebabkan terjadinya degenerasi lemak dan degenerasi hidropik. Degenerasi lemak adalah perubahan abnormal pada sel hepatosit yang ditandai adanya vakuolisasi sitoplasma hepatosit akibat adanya akumulasi dari lemak (Karina *et al.*, 2022). Degenerasi lemak terlihat pada kelompok B, C, D, dan E pada penelitian ini. Kelompok B memiliki paling banyak dan kelompok E paling sedikit degenerasi lemak. Degenerasi hidropik ditandai dengan adanya sitoplasma yang pucat dan tampak membesar yang disebabkan oleh akumulasi ion natrium dalam sel hepatosit. (Manatar *et al.*, 2013) Degenerasi hidropik terlihat pada kelompok B dan C, di mana kelompok B lebih banyak mengalami degenerasi hidropik dibandingkan dengan kelompok C pada penelitian ini.

Sel-sel hepatosit memiliki kemampuan regenerasi dengan mengalami proses replikasi sel hepatosit. Pada tikus, regenerasi hepar berlangsung dengan cepat dan memerlukan waktu sekitar 5 hingga 7 hari untuk kembali pada ukuran yang normal (Hall *et al.*, 2014). Hal tersebut tampak pada kelompok C, D, dan E penelitian ini. Pada kelompok D dan E yang diberikan ekstrak daun leilem setelah diinduksi parasetamol dosis toksik tampak lebih banyak mengalami regenerasi sel hepatosit dibandingkan dengan kelompok C yang tidak diberikan perlakuan setelah diinduksi parasetamol dosis toksik. Dengan demikian, dapat dikatakan bahwa ekstrak daun leilem mampu memperbaiki gambaran histopatologik hepar tikus wistar yang diberi parasetamol dosis toksik.

Daun leilem memiliki kandungan antioksidan yang berperan dalam mengendalikan oksidasi yang dihasilkan oleh radikal bebas. Komponen antioksidan utama pada daun leilem adalah flavonoid dan fenol (Kairupan *et al.*, 2019). Flavonoid berperan sebagai penstabil spesies oksigen reaktif melalui reaksi dengan senyawa radikal bebas dan polifenol berperan dalam menonaktifkan radikal bebas untuk mengurangi stres oksidatif (Rahimi *et al.*, 2021). Pada penelitian ini didapatkan bahwa hewan coba kelompok D dan E lebih banyak mengalami regenerasi sel hepatosit dibandingkan dengan kelompok C. Namun kelompok D dan E tidak menunjukkan perbedaan yang nyata terkait regenerasi sel hepatosit yang terjadi.

Kelompok C, D, dan E belum mencapai gambaran histopatologik normal hepar

tikus wistar karena masih terdapat gambaran sel hepatosit yang abnormal, seperti nekrosis, degenerasi lemak, degenerasi hidropik, dan sebulan sel radang walaupun tampak lebih sedikit dibandingkan dengan kelompok B. Hal ini dapat disebabkan oleh berbagai hal, seperti masih terdapatnya parasetamol dalam tubuh tikus wistar sebagai faktor yang dapat mencederai sel hepatosit, durasi pemberian daun leilem yang kurang, serta terdapat kelainan hepar yang tidak terdeteksi sebelum perlakuan.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan di atas, maka disimpulkan bahwa pemberian ekstrak daun leilem dapat membantu proses regenerasi sel hepatosit dan menghambat reaksi inflamasi yang ditandai dengan pengurangan sebulan sel radang, nekrosis, degenerasi hidropik dan degenerasi lemak pada hepar tikus wistar yang diinduksi parasetamol dosis toksik. Regenerasi sel hepar tidak menunjukkan perbedaan yang jelas pada dosis ekstrak daun leilem 150 mg/kgBB dan 300 mg/kgBB.

DAFTAR PUSTAKA

- Kalra, A., Yetiskul, E., Wehrle, C., & Tuma, F. (2023). *Physiology, Liver*. Treasure Island: StatPearls Publishing.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK535438/>. Diakses pada 1 Agustus 2023.
- Chitturi, S., Teoh, N.C., & Farrell, G.C. (2022). Bab 88: Liver Disease Caused by Drugs. Dalam: Sleisenger and Fordtran's Gastrointestinal and Liver Disease- 2 Volume Set (pp. 1367-1398). 11th ed. Elsevier Inc.
- Sahar, T., & Talia Z. (2023). Drug-Induced Liver Injury. ClinicalKey.
https://www.clinicalkey.com/#!/content/derived_clinical_overview/76-s2.0-B9780323755733002857. Diakses pada 1 Agustus 2023.
- Francis, P., & Navarro, V. J. (2022). Drug-Induced Hepatotoxicity. Treasure Island: StatPearls Publishing.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK557535/>. Diakses pada 1 Agustus 2023.
- Saccomano, S. (2019). Acute acetaminophen toxicity in adults. *Nurse Pract*, 44(11):42-47.
- Kairupan, C.F., Mantiri, F.R., & Rumende, R.R.H. (2019). Phytochemical Screening and Antioxidant Activity of Ethanol Extract of Leilem (*Clerodendrum minahassae* Teijsm. & Binn) as an Antihyperlipidemic and Antiatherosclerotic Agent. *IOP Conf Ser Earth Environ Sci*, 217(1).
- Rachmatiah, T., Daud, J.J., & Artanti, N. (2022). Aktivitas Antioksidan, Toksisitas, Kandungan Senyawa Fenol dan Flavonoid Total dari Daun Leilem (*Clerodendrum minahassae* Teijsm. & Binn). *Sainstech Farma*, 15(1):35-43.
- Hall, J., Guyton, A. (2014). Bab 70: Hati Sebagai Suatu Organ. Dalam: Buku Ajar Fisiologi Kedokteran (pp.837-840). 12th ed. Saunders Elsevier.
- Sherwood, L. (2013). Bab 16: Sistem Pencernaan. Dalam: Introduction to Human Physiology (pp. 611-665). 8th ed. Brooks/Cole, Cengage Learning.

- Freo, U., Ruocco, C., Valerio, A., Scagnol, I., Nisoli, E. (2021). Paracetamol: A review of guideline recommendations. *J Clin Med*, 10(15):1–22.
- Rahimi, M., Kordrostami, M., Mohamadhasani, F., Chaeikar, S.S. (2021). Antioxidant gene expression analysis and evaluation of total phenol content and oxygen-scavenging system in tea accessions under normal and drought stress conditions. *BMC Plant Biol*, 21(1):1–12.
- Karina, E., Berata, I.K., Setiasih, N.L.E. Histopatologi Hati Tikus yang Terpapar Logam Berat Timbal. *Bul Vet Udayana*. 2022;(158):1. Doi: 10.24843/bulvet.2023.v01.i01.p01
- Parapaga V, Durry M, Lintong P. (2018) Efek Pemberian Ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata L.*) terhadap Gambaran Histopatologik Hati Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) yang Diinduksi Rifampisin. *J Biomedik*, 6(2):105-199.
- Krishna M. (2017). Patterns of necrosis in liver disease. *Clin Liver Dis (Hoboken)*, 10(2):53-56.
- Roth R, Ganey P. (2013). Bab 10: Role of Inflammation in Drug-Induced Liver Injury. Dalam: *Drug-Induced Liver Disease*. 3rd ed. Elsevier Inc. 2013. p. 157-160.