

GAMBARAN HISTOPATOLOGI HEPAR DENGAN INDUKSI CISPLATIN DAN EKSTRAK DAUN BANGUN-BANGUN (*Coleus amboinicus*) PADA TIKUS WISTAR (*Rattus novergicus*)

Irlandi¹, Rondius Solfaine², Desty Apritya³, dan Reina Puspita⁴

¹Program Studi Pendidikan Dokter Hewan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Wijaya Kusuma Surabaya

²Laboratorium Patologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Wijaya Kusuma Surabaya

³Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga

⁴Laboratorium Hewan Coba Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga

E-mail: irlandi117@gmail.com

Abstrak

Cisplatin adalah obat kemoterapi yang menyebabkan hepatotoksisitas. Cisplatin menyebabkan hepatotoksisitas dengan meningkatkan stres oksidatif yang memicu kematian sel. Tujuan penelitian ini adalah untuk menentukan gambaran histopatologi hepar tikus yang diinduksi cisplatin setelah pemberian ekstrak daun bangun-bangun (*Coleus amboinicus*). Sebanyak 18 ekor tikus Wistar dibagi menjadi 3 kelompok. Kelompok I (P0) sebagai kontrol negatif, kelompok II diinduksi cisplatin (5 mg/kg BB), kelompok III diberi ekstrak daun bangun-bangun (500 mg/kg BB) dan diinduksi cisplatin (5 mg/kg BB). Terapi dilakukan selama 7 hari dan induksi cisplatin dilakukan pada hari ke 4. Tikus dieutanasi dan hepar dikumpulkan untuk pemeriksaan histopatologi. Data analisis menggunakan uji Kruskal Wallis dan Mann Whitney Test. Hasil uji Kruskal Wallis menunjukkan bahwa skor histopatologi untuk kongesti ($P < 0,05$), hemoragi ($P < 0,05$), dan sel Kupffer ($P < 0,05$). Uji Mann Whitney menunjukkan bahwa kongesti P0 dibandingkan dengan P1 ($P < 0,05$), P0 dengan P2 ($P < 0,05$), dan P1 dengan P2 ($P < 0,05$). Selain itu hemoragi P0 dibandingkan dengan P1 ($P < 0,05$), P0 dengan P2 ($P < 0,05$), dan P1 dengan P2 ($P > 0,05$). Namun, skor perbandingan sel Kupffer antara P0 dan P1 ($P > 0,05$), P0 dengan P2 ($P > 0,05$), dan P1 dengan P2 ($P > 0,05$). Disimpulkan bahwa ekstrak daun bangun-bangun (*Coleus amboinicus*) mampu mencegah kongesti dan hemoragi pada hepar setelah diinduksi cisplatin.

Kata kunci: *Cisplatin, Ekstrak Daun Bangun-Bangun (Coleus amboinicus), Hepar, Histopatologi, Tikus Wistar (Rattus novergicus)*

1. Pendahuluan

Indonesia merupakan salah satu negara kepulauan terbesar di dunia yang memiliki keanekaragaman tumbuhan yang tinggi, dari sekian banyak keanekaragaman tumbuhan, terdapat tumbuhan yang berkhasiat sebagai obat-obatan dan telah digunakan sebagai pengobatan tradisional. Salah satu tumbuhan tradisional yang dijadikan sebagai alternatif pengobatan ialah daun tanaman bangun-bangun (*Coleus amboinicus*) (Hariana, 2008).

Pada daun bangun-bangun juga terdapat kandungan vitamin C, karbohidrat, riboflavin, beta karoten, kalsium, asam oksalat, zat besi dan serat. Senyawa-senyawa tersebut berpotensi terhadap berbagai aktivitas biologik, misalnya obat malaria, obat cacing, hepatoprotektif, bronkhitis, asma, diare, epilepsy, demam, batuk, sakit kepala, gangguan pencernaan, antioksidan, antitumor dan antimikroba (Kaliappan & Viswanathan, 2008).

Cisplatin merupakan logam berat, berikatan dengan DNA dan RNA berkerja sebagai *alkylating agent* atau bekerja secara langsung dengan merusak DNA sel sehingga mencegah

pembelahan sel kanker. Menurut Nasional Comprehensive Cancer Network (NCCN, 2016). cisplatin bekerja sebagai anti kanker dengan cara menggunakan ikatan silang DNA dan melakukan apoptosis pada sel yang sehat maupun sel kanker itu sendiri. Salah satu efek samping dari terapi cisplatin adalah hepatotoksisitas (El-Sayyad, et al., 2009).

Mekanisme induksi hepatotoksisitas dari cisplatin adalah melalui peningkatan produksi *Reactive Oxygen Spesies* (ROS) yang dapat menyebabkan stres oksidatif pada sel sehingga mamacu terjadinya kematian sel (Desoize & Madoulet, 2002). Senyawa antioksidan yang menghambat stres oksidatif dengan cara mengikat radikal bebas dan mencegah pembentukan radikal bebas dengan merubahnya mendai radikal bebas yang kurang reaktif atau merubahnya menjadi senyawa non radikal (Panovska, Kulenova, & Stefova, 2005).

Salah satu upaya yang dilakukan untuk mencegah efek samping tersebut adalah pemberian ekstrak daun bangun-bangun sebelum pemberian cisplatin. Pada ekstrak daun bangun-bangun mempunyai kemampuan antioksidan sehingga dapat digunakan sebagai protector organ hepar akibat dari paparan radikal bebas. Anti oksidan yang dimiliki oleh ekstrak daun bangun-bangun seperti vitamin C dan beta karoten mampu melawan oksigen perusak khususnya radikal bebas dan memproksidasi lipid dalam jaringan (Erkekoglu, Giray, & Basaran, 2011).

Sejauh mana pemberian ekstrak daun bangun-bangun dapat memproteksin hepar dari kejadian hepatotoksisitas karena kemungkinan efek cisplatin yang diberikan setelahnya. Oleh karena itu, perlunya penelitian lebih lanjut untuk menjawab pertanyaan tersebut.

2. Metode Penelitian

Penelitian ini bersifat *true experimental laboratories* dengan rancangan *posttest only with control group design*. Penelitian ini menggunakan tikus putih *strain* Wistar (*Rattus novergicus*) jantan yang dibagi menjadi 3 kelompok perlakuan. Tikus putih yang merupakan hewan coba dalam penelitian ini diperoleh dari Laboratorium Hewan Coba FK Unair. Penelitian ini berlangsung dari bulan Juli-Agustus 2018 di Laboratorium Hewan Coba FK Unair.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Tissue Processor, Tissue-Tek Tech, water bath, scapel, spuit injeksi, pot sampel, ember, alat bedah, cool box, pensil, sonde, mirotom, inkubator, objek glass, cover glass, dan mikroskop*. Kandang tikus berupa bak plastic tertutup kawat dan diberi alas serbuk gergaji serta dilengkapi dengan tempat makan dan minum. Sampel uji dalam penelitian ini adalah 18 ekor tikus putih *strain* Wistar jantan berumur delapan minggu dengan berat badan 200-250 g. bahan utama untuk perlakuan ini adalah cisplatin dan daun bangun-bangun (*Coleus amboinicus*) yang telah melalui proses ekstraksi. Bahan untuk pengujian laboratorium diantaranya larutan Buffer Neutral Formalin 10%, bahan pembuatan preparat histopatologi seperti alcohol, xylol, paraffin, dan pewarnaan Haematoxyline eosin.

Sampel dibagi menjadi 3 kelompok, sehingga pada tiap kelompok berjumlah 6 ekor tikus. Perlakuan pada setiap kelompok ialah sebagai berikut: P0 merupakan kelompok kontrol negatif yang hanya diberi akuades; P1 ialah kelompok positif yang diinduksi cisplatin dosis 5 mg/kg BB; sedangkan pada kelompok perlakuan diinduksi cisplatin 5 mg/kg BB dan pemberian ekstrak daun bangun-bangun 500 mg/kg BB. Pemberian ekstrak daun bangun-bangun dilakukan per oral sekali sehari selama 7 hari menggunakan sonde lambung. Induksi cisplatin diberikan pada hari ke-4 menggunakan spuit injeksi melalui intra peritoneal. Selanjutnya pada hari ke-8 semua tikus dieutanasia dan dinekropsi. Organ hepar diambil dan dilanjutkan proses pembuatan preparat histopatologi.

Organ hepar yang telah difiksasi dengan BNF 10% kemudian dipotong secara makroskopis, kemudian dimasukkan kedalam *tissue casset*, diberi label dan direndam kembali dalam larutan BNF 10%. Sampel yang berada dalam BNF 10% kemudian

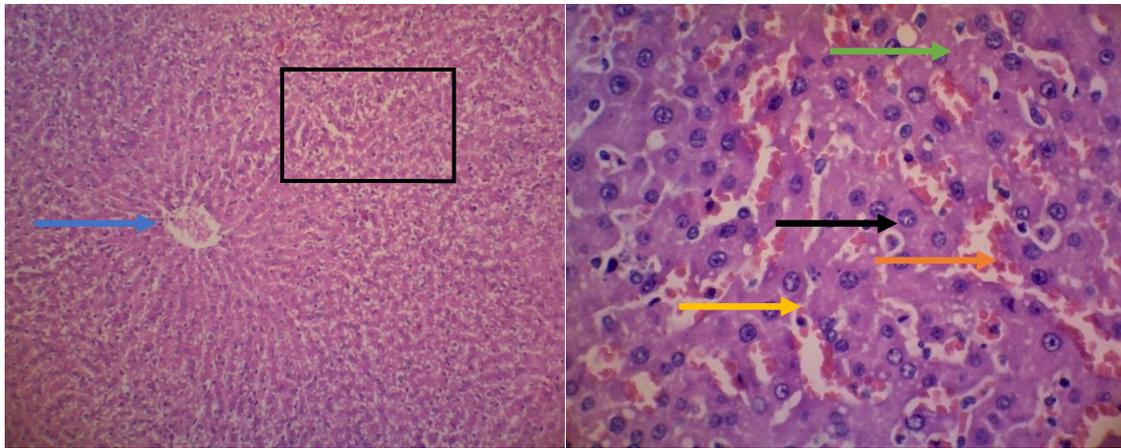
dimasukkan kedalam *tissue processor* selama 18 jam untuk dilakukan dehidrasi dengan alcohol 70, 80, 90, 96, absolute, clearing dengan xylol I, II, III, IV dan finishing dengan *activated carbon*. Setelah proses dalam *Tissue Tek-Tech* setelah itu, dilakukan pemotongan kasar dengan mikrotom. Setelah dilakukan pemotongan kasar selesai, sampel dimasukkan kedalam lemari es dan di diamkan selama 24 jam. Setelah itu sampel kemudian dipotong menggunakan mikrotom dengan ketebalan 3 μm dan ditaruh pada objek glass. Setelah itu sampel yang berada di objek glass di inkubasi selama 1 malam.

Sampel di rendam dalam xylol I dan II selama 2 menit, kemudian dilakukan proses dehidrasi dengan alcohol absolute I, II, 96% dan 70% yang kemudian dibilas dengan air mengalir selama 3-5 menit. Setelah itu diangkat, keringkan dan kemudian slide sampel di rendam dalam pewarna Haematoxylin selama 7-10 menit, lalu larutkan dengan air mengalir 3-5 menit. Setelah itu, sampel dicelupkan dalam lithium carbon sebanyak 6 kali celupan kemudian di bilas dengan air mengalir 2-5 menit setelah itu direndam didalam Eosin selama 5 menit, kemudian larutkan dengan percikan air kembali. Setelah slide diwarnai, lakukan proses dehidrasi dengan alcohol bertingkat, mulai dari alcohol 70%, 80%, 90% , 96%, absolute I, absolute II dan dilanjutkan dengan proses clearing dengan xylol I dan II. Setelah itu tiriskan, lap dengan tisu kemudian slide ditutup dengan cover glass dengan bahan perekat permount dan slide siap diperiksa dibawah mikroskop.

Sampel histopatologi akan di skoring berdasarkan ada atau tidaknya kongesti, hemoragi dan sel Kupffer dengan pengamatan lima lapang pandang. Kemudian skoring awal ditotal nilainya, dibagi lima. Data yang diperoleh hasil skoring histopatologi hepar dipresentasikan dan dianalisis dengan metode nonparametric *Kruskal Wallis Test* untuk menentukan perbedaan kelompok dan kelompok perlakuan. Kemudian dilanjutkan lagi dengan metode *Mann Whitney Test* untuk menentukan perbedaan data masing-masing kelompok perlakuan. Hipotesis dianggap bermakna apabila $P < 0,05$.

3. Hasil dan Pembahasan

Subyek penelitian terdiri atas 18 ekor tikus jantan *strain Wistar* yang telah mengalami adaptasi di laboratorium selama tujuh hari. Hasil penelitian gambaran histopatologi hepar tikus putih *strain Wistar* yang diinduksi cisplatin pasca pemberian ekstrak daun bangun-bangun (*Coleus amboinicus*) dilakukan perbandingan dengan akuades. Setelah hasil penelitian terkumpul, dilakukan pengolahan data dengan analisis awal pengujian distribusi data, kemudian data yang diperoleh dari hasil pengamatan histopatologi hepar dipresentasikan serta dianalisis dengan uji statistic nonparametrik *Kruskal Wallis* dan *Mann Whirney*.



Gambar 1. Histopatogis hepar tikus Vena sentralis (biru); Hepatosit (kuning); kongesti(orange); hemoragi (hijau); dan Sel Kupffer (hitam) (HE, 100x, 400x)

Tabel 1. Nilai rata-rata gambaran histopatologi hepar tikus putih *strain* Wistar yang diinduksi cisplatin setelah pemberian ekstrak daun bangun-bangun

Kelompok	Kerusakan	n	Nilai Rata-rata
P0	Kongesti	6	4,50
P1		6	14,17
P2		6	9,83
P0	Hemoragi	6	4,50
P1		6	14,67
P2		6	9,33
P0	Sel Kupffer	6	9,83
P1		6	14,00
P2		6	9,50

Tabel 2. Perbedaan data masing-masing kelompok perlakuan

	Kongesti			Hemoragi			Sel Kupffer		
	P0	P1	P2	P0	P1	P2	P0	P1	P2
P0		0,002	0,019	0	0,001	0,021		0,056	0,056
P1			0,056			0,023			0,056
P2									

*P< 0,05 dibandingkan dengan kontrol (kelompok P0)

Nilai rata-rata pada table 2 diatas menunjukkan bahwa untuk kerusakan kongesti dengan nilai awal sebesar 4,50 setelah diberi perlakuan P1 menjadi 14,17 dan setelah diberi perlakuan P2 menjadi 9,83. Adapun pada perubahan hemoragi dengan nilai rata-rata P0 sebesar 4.50 setelah diberi perlakuan P1 menjadi 14,67 kemudian berubah pada perlakuan P2 dengan nilai 9,33. Sedangkan rata-rata pada sel Kupffer tidak terjadi perubahan yang signifikan dari nilai awal 9,83 kemudian pada perlakuan P1 sebesar 14,00 dan pada perlakuan P2 dengan nilai 9,50.Induksi cisplatin dan pemberian ekstrak daun bangun-bangun (*Coleu amboinicus*) mempengaruhi gambaran histopatologi hepar tikus putih (*Rattus nivergicus*) dengan pewarnaan *Haematoxyline Eosin* yang dapat dilihat pada uji *Mann Whitney Test*memperlihatkan perbedaan yang nyata pada sebagian kelompok.

Hasil uji *Mann Whitney Test* terhadap kongesti P0 dibandingkan dengan P1 ($P=0,002$) berbeda nyata, pada kelompok P0 dengan P2 ($P=0,019$) berbeda nyata sedangkan pada kelompok P1 dengan P2 ($P=0,056$) tidak memiliki perbedaan yang nyata. Selain itu, pada hemoragi kelompok P0 dibandingkan dengan P1 ($P=0,001$) berbeda nyata, pada kelompok P0 dengan P2 ($P=0,021$) berbeda nyata, dan pada kelompok P1 dengan P2 ($P=0,023$) memiliki perbedaan yang nyata. Namun, skor perbandingan sel Kupffer antara P0 dan P1 ($P=0,056$) tidak berbeda nyata, pada kelompok P0 dengan P2 ($P=0,056$) tidak berbeda nyata, dan pada kelompok P1 dengan P2 ($P=0,056$) tidak memiliki perbedaan yang nyata.

Berdasarkan hasil uji terakhir yaitu *Mann Whitney Test*. Kongesti pada kelompok P0 dengan P1 ($P=0,002$) berbeda nyata dikarenakan P0 (kontrol) dan P1 (terinduksi cisplatin), pada kelompok P0 dengan P2 ($P=0,019$) berbeda nyata dikarenakan P0 (kontrol) dan P2 (diberi terapi ekstrak daun bangun-bangun sebagai antioksidan), sedangkan pada kelompok P1 dengan P2 ($P=0,056$) tidak memiliki perbedaan yang nyata dikarenakan pada ekstrak daun bangun-bangun kurang efektif untuk mengurangi kerusakan kongesti.

Pada hemoragi jaringan hepar, kelompok P0 dengan P1 ($P=0,001$) berbeda nyata dikarenakan P0 (kontrol) dan P1 (terinduksi cisplatin), pada kelompok P0 dengan P2 ($P=0,021$) berbeda nyata dikarenakan P0 (kontrol) dan P2 (diberi terapi ekstrak daun bangun-bangun sebagai antioksidan), serta pada kelompok P1 dengan P2 ($P=0,023$) berbeda nyata dikarenakan ekstrak daun bangun-bangun efektif dalam mengurangi kerusakan hemoragi.

Sel Kupffer pada hepar dikelompok P0 dengan P1 ($P=0,056$) berbeda nyata dikarenakan P0 (kontrol) dan P1 (terinduksi cisplatin), pada kelompok P0 dengan P2 ($P=0,056$) yang berarti tidak memiliki perbedaan nyata dikarenakan P0 (kontrol) dan P2 (diberi terapi ekstrak daun bangun-bangun sebagai antioksidan) dan pada kelompok P1 dengan P2 ($P=0,056$) yang berarti tidak memiliki perbedaan yang nyata.

Hal yang menyebabkan terjadinya kongesti dan hemoragi pada P1 adalah cisplatin. Penggunaan dalam dosis tinggi dapat menyebabkan terjadinya hepatotoksitas. Mekanisme induksi hepatotoksitas dari cisplatin adalah melalui peningkatan produksi ROS yang dapat menyebabkan stres oksidatif pada sel sehingga memacu terjadinya kematian sel (Marie & Prasad D., 2008) sehingga munculah beberapa kerusakan seperti kongesti dan hemoragi. Kerusakan tingkat sedang yaitu kongesti dan hemoragi, sedangkan tingkat berat ditandai dengan nekrosis (Triadayani, Aryawati R., & Diansyah G., 2010). Karena cisplatin bersifat toksik, maka bisa menyebabkan kerusakan tingkat sedang yaitu kongesti dan hemoragi sedangkan infiltrasi sel Kupffer ke jaringan hepar menunjukkan terjadinya peradangan dengan gradasi tertentu pada jaringan tersebut (Knights, 2011).

Pada kelompok P2, ekstrak daun bangun-bangun yang memiliki bahan aktif yang efektif dalam mengurangi hemoragi sedangkan pada kongesti tidak efektif. Daun bangun-bangun kurang efektif karena tidak adanya kandungan kuarsetin. Kuarsetin adalah senyawa flavonol dengan aktivitas antioksidan yang kuat, dengan kekuatan 4-5 kali lebih tinggi dibandingkan vitamin C dan vitamin E (Middleton, Kandaswani C., & Theorides T. C., 2000).

Pengaruh kandungan bahan aktif ekstrak daun bangun-bangun sebagai antioksidan terhadap infiltrasi sel Kupffer tidak signifikan karena sel Kupffer adalah salah satu sel stelata yang ditemukan normal pada permukaan lumina sel-sel endotel dalam sinusoid dan mencakup 15% dari populasi sel hepatosit (Martinez, Gordon S., Locati M., & Mantovani A., 2004). Sel Kupffer mempunyai reseptor permukaan untuk *immunoglobulin* (Ig) yang mampu merespon rangsangan inflamasi serta mempunyai kemampuan untuk mencerna mikroorganisme dan debris sel (Ibelgaufts, 2011).

4. Kesimpulan

Berdasarkan hasil dan pembahasan dari penelitian ini, dapat ditarik kesimpulan bahwa induksi cisplatin dan ekstrak daun bangun-bangun (*Coleus amboinicus*) berpengaruh terhadap gambaran histopatologi kongesti dan hemoragi hepar tikus putih dengan pewarnaan *Haematoxylin Eosin*. Pemberian ekstrak daun bangun-bangun tidak signifikan untuk menurunkan kerusakan kongesti. Namun efektif untuk menurunkan kerusakan hemoragi sedangkan untuk sel Kupffer tidak signifikan disebabkan karena sel tersebut ditemukan 15% dari jumlah hepatosit secara normal diorgan hepar.

Daftar pustaka

- Desoize, B., & Madoulet. (2002). Particular Aspects Of Platinum Compounds Used At Present In Cancer Treatment. *Crit. Rev. Oncol. Hematol.*, 317-325.
- El-Sayyad, H., Ismail MF., Shalaby FM., Abou-Elmagd RF., Gaur RL., & Fernando A. (2009). Histopathological Effects Of Cisplatin. *Int J Biol Sci*.
- Erkekoglu, P., Giray, B., & Basaran, N. (2011). Principle and Alternative Toxicity Testing Methods. *FABAD J Pharm Sci*, 7-101.
- Hariana, A. (2008). Tumbuhan Obat dan Khasiatnya. *Penabar Swadaya*, 111.
- Ibelgaufts, H. (2011). *Cytokines and Cells on Pathfinder Encyclopedia Kupffer Cells*.
- Kaliappan, & Viswanathan. (2008). Pharmacognostical Studies On the Leaves Of *Plectranthus Amboinicus* (Lour) Spreng. *Internasional Journal Green Pharm*, 182-184.
- Knights, K. (2011). *What are Kupffer Cells*.
- Marie, H., & Prasad D. (2008). Cisplatin Nephrotoxicity. *Nasional Institute of Health*, 47-61.
- Martinez, F., Gordon S., Locati M., & Mantovani A. (2004). Transcriptional Profiling of the Human Monocyte to Macrophage Differentiation and Polarization. *J Immunol*, 86-277.
- Middleton, E. J., Kandaswani C., & Theorides T. C. (2000). *The Effect of Plant Flavonoids on Mammalian Cells*. USA: American Society for Pharmacology and Experimental Therapeutics.
- NCCN. (2016). Clinical Practice Guidelines in Oncology Ovarian Cancer Including Fallopian Tube Cancer .
- Panovska, K. T., Kulenova, S., & Stefova, M. (2005). In Vitro Antioxidant Activity Of Some Teucrium Species (Lamiaceae). *Pharmacol Rev.*, 673-751.
- Triadayani, A. E., Aryawati R., & Diansyah G. (2010). Pengaruh Logam Timbal (pb) Terhadap Jaringan Hati Ikan Kerapu Bebek (*Cromileptes altivelis*). *Maspuri Journal*, 42-47.