

## Perubahan Histopatologi Hati Mencit (*Mus musculus*) yang Diberikan Ekstrak Daun Ashitaba (*Angelica keiskei*)

(THE HISTOPATHOLOGICAL CHANGE OF THE LIVER OF MICE THAT WERE GIVEN THE EXTRACT OF ASHITABA'S (*ANGELICA KESKEI*) LEAVES)

I Made Indrayadnya Swarayana<sup>1)</sup>, I Wayan Sudira<sup>2)</sup>, I Ketut Berata<sup>3)</sup>

<sup>1)</sup> Mahasiwa FKH UNUD, <sup>2)</sup> Lab. Farmakologi <sup>3)</sup> Lab Patologi  
FKH Universitas Udayana, Denpasar, Bali  
E-mail : [indrayadnya@gmail.com](mailto:indrayadnya@gmail.com)

### ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perubahan histopatologi hati mencit (*Mus musculus*) yang diberikan ekstrak daun Ashitaba (*Angelica keiskei*). Penelitian ini menggunakan 25 ekor mencit jantan yang dibagi secara acak sederhana menjadi 5 grup. Grup A sebagai kontrol diberikan aquades, dan grup B, C, D, dan E masing-masing diberikan 125 mg, 250 mg, 500 mg dan 1000 mg ekstrak Ashitaba secara oral. Pemberian ekstrak etanol daun Ashitaba dilakukan setiap hari selama 21 hari. Pada hari ke 22 semua mencit dinekropsi dan hati diambil untuk diproses pembuatan preparat dengan metode *embedding blocking* dengan paraffin serta pewarnaan *hematoxylin eosin* (HE). Pemeriksaan perubahan histopatologi dilakukan berdasarkan adanya degenerasi melemak dan nekrosis. Hasil penelitian menunjukkan adanya nekrosis dan degenerasi yang ringan pada semua grup perlakuan. Hasil analisis statistik dengan metode Kruskal Wallis menunjukkan hasil yang tidak berbeda diantara grup perlakuan. Penelitian ini membuktikan ekstrak daun Ashitaba (*Angelica keiskei*) antara dosis 125 mg sampai 1.000 mg tidak menimbulkan efek toksik pada hati mencit.

**Kata kunci :** ashitaba, histopatologi, hati

### ABSTRACT

The aim of this research is to study of the histopathological change mice's liver that were given the extract of Ashitaba (*Angelica keiskei*) leaves. This research used 25 male mice that were divided into 5 groups by simple random sampling. Group A as control group were given aquadest, and group B, C, D and E were given 125 mg, 250 mg, 500 mg and 1000 mg Ashitaba's leaves extract by oral administration respectively. Its were given treatment daily as long as 21 days. All of the mice were necropsied at day 22, and the liver were taken for to examined their histopathological changes. Each of the liver tissues were processed by paraffin block-embedded and hematoxylin eosin staining method. Histopathological changes examination were based on the present fat degeneration and necrosis lesions. These lesions often appeared in tissues that affected intoxicification. Result of this research showed present light necrosis and fat degeneration on all of the group treatment. Result of statistically analyzed by Kruskal Wallis method indicated no significance difference among the group treatment. The conclusion is Ashitaba's (*Angelica keiskei*) leaves extract between dosage 125 mg to 1.000 mg no significance toxicity effect on the liver of mice (*Mus musculus*)

**Keywords:** ashitaba, hispathological, liver

## PENDAHULUAN

Indonesia memiliki kekayaan alam berupa tanaman obat yang dapat dimanfaatkan sebagai sumber obat tradisional. Obat tradisional sangat penting bagi masyarakat karena lebih mudah diperoleh dan relatif murah karena dapat diperoleh tanpa resep dokter (Pudjarwoto, *et al*, 1992). Salah satu tanaman banyak dimanfaatkan bagi masyarakat, baik sebagai bahan makanan maupun obat-obatan adalah tanaman Ashitaba (*Angelica keiskei*). Ashitaba mempunyai nama latin yaitu *Angelica* yang berarti malaikat, *keiskei* digunakan untuk menghargai ahli botani Jepang pada abad 19 bernama Ito Keisuke yang menjadi penemu tanaman Ashitaba tersebut. Tanaman ini mirip dengan tanaman seledri, namun bedanya ukuran tanaman, Ashitaba lebih tinggi dan lebih besar. Ashitaba dan seledri masih satu *family Apiceae*, yang memiliki keistimewaan yaitu pertumbuhannya yang sangat cepat apabila tanaman ini dipetik daunnya hari ini, maka keesokan harinya daunnya sudah tumbuh lagi sehingga dikenal juga dengan sebutan “*Tomorrow leaf*”. Ashitaba juga dikenal dengan sebutan “Daun Malaikat” karena pengalaman dan kemampuan penyembuhan berbagai jenis penyakit dan manfaat yang banyak sebagai tanaman obat (Nagata, *et al*. 2007).

Masyarakat dunia belum banyak yang mengetahui tanaman Ashitaba ini, namun masyarakat Jepang sudah mengenal dengan baik tanaman ini. Tanaman ini biasanya ditambahkan pada makanan yang disajikan sehari-hari. Di Indonesia tanaman ini dapat tumbuh subur hanya di beberapa tempat, salah

satunya di Desa Sembalun, Kecamatan Sembalun Kabupaten Lombok Timur, Nusa Tenggara Barat. Daerah ini sangat cocok sebagai tempat tumbuhnya Ashitaba karena di desa Sembalun memiliki ketinggian daratan mencapai 1.200 meter di atas permukaan laut sampai saat ini lokasi ini adalah lokasi budidaya Ashitaba terbaik di Asia Tenggara. Suhu rata-ratanya 9-10°C pada siang hari dan 5°C pada malam hari sehingga sangat memenuhi kriteria tanaman Ashitaba untuk dapat tumbuh dengan baik, ditambah lagi dengan kesuburan tanah vulkanik yang berasal dari Gunung Rinjani, sehingga menghasilkan produk Ashitaba berkualitas tinggi (Tamlikha, 2011).

Organ hati merupakan organ dalam tubuh terbesar dan merupakan pusat metabolisme yang paling kompleks di dalam tubuh (Corwin, 2001). Selain organ tempat metabolisme, hati juga sebagai tempat penyimpan nutrisi yang diserap dari saluran pencernaan untuk selanjutnya dipakai oleh bagian tubuh lainnya. Ada empat fungsi hati yaitu pembentukan dan sekresi empedu, metabolisme zat-zat penting bagi tubuh, berperan dalam pertahanan tubuh baik berupa detoksifikasi maupun fungsi perlindungan, serta fungsi vaskuler (Dalimartha, 2001). Sebagai kelenjar, hati pada manusia menghasilkan empedu yang mencapai setengah liter setiap hari. Empedu berasal dari hemoglobin sel darah merah yang sudah tua. Empedu merupakan cairan kehijauan, mengandung kolesterol, garam mineral, garam empedu, pigmen bilirubin dan biliverdin. Melihat banyaknya fungsi hati, maka apabila terjadi kerusakan ataupun kelainan pada

hati akan mempengaruhi fungsi jaringan tubuh yang lainnya. Secara farmakokinetik, obat yang masuk ke dalam tubuh akan mengalami absorpsi, distribusi, metabolisme, dan ekskresi. Hati merupakan organ biotransformasi utama yang sangat penting bagi metabolisme tubuh (Guyton dan Hall, 1997).

Patofisiologi hati sangat berkaitan dengan makanan dan minuman yang dikonsumsi. Hati memiliki tiga fungsi yaitu, vaskuler untuk menyimpan dan menyaring darah, fungsi metabolisme yang berhubungan dengan sebagian sistem metabolisme tubuh, fungsi sekresi dan ekskresi yang berperan membentuk empedu yang mengalir melalui saluran empedu ke saluran pencernaan. Perubahan struktur histologis hati ini dipengaruhi oleh jumlah dan jenis senyawa yang masuk ke dalam organ hati, termasuk pemberian ekstrak Ashitaba pada suatu individu. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui efek ekstrak etanol daun Ashitaba pada organ hati secara histopatologi. Sebagai model penelitian untuk hal tersebut maka perlu dilakukan penelitian dengan pemeriksaan histopatologi untuk mengetahui efeknya pada mencit (*Mus musculus*).

## METODE PENELITIAN

### Materi Penelitian

Sebanyak 25 ekor mencit (*Mus musculus*) jantan yang memiliki berat rata-rata 25-30 gram, dibagi secara acak sederhana menjadi 5 grup. Mencit diberi pakan pelet komersial (CP 521® C.V. Charun Phokpand) dan air minum *ad libitum* setiap hari. Kandang dibuat dari

plastik dengan penutup kawat dan diberi alas sekam. Ekstrak etanol daun Ashitaba (*Angelica keiskei*), sonde untuk memasukkan ekstrak ke mencit dengan dosis bervariasi sesuai dengan grup perlakuan. Tahap pembuatan sediaan histopatologi dilakukan sesuai metode Kiernan.

### Metode Penelitian

#### Pembuatan ekstrak daun Ashitaba

Daun Ashitaba yang akan digunakan ditimbang terlebih dahulu, kemudian dirajang untuk menjadi bentuk yang lebih kecil. Selanjutnya diblender sehingga berbentuk lebih kecil lagi. Kemudian dikeringkan selama 1 minggu dimana proses pengeringannya dengan cara diletakkan di tempat terbuka dengan sirkulasi udara yang baik dan tidak terkena sinar matahari langsung karena pada pengeringan dengan suhu yang terlalu tinggi akibat sinar matahari secara langsung dapat merusak komponen aktif dalam daun Ashitaba.

Setelah kering daun yang telah berbentuk serbuk direndam dengan etanol 96% dengan volume dua kali lipat dari volume serbuk Ashitaba selama satu hari. Kemudian dilakukan penyaringan untuk mendapatkan cairan dari hasil perendaman. Hasil penyaringan diuapkan dengan *rotary evaporator* untuk mendapatkan ekstrak Ashitaba. Ekstrak yang telah didapat selanjutnya disimpan pada suhu -20°C sebelum dipakai.

#### Perlakuan pada mencit

Mencit yang akan digunakan penelitian diadaptasikan selama 1 minggu. Semua mencit yang digunakan penelitian berjenis kelamin jantan, umur 2 bulan dan berat badan 25 gram. Sebanyak

25 ekor mencit dibagi menjadi 5 grup, sehingga masing-masing grup terdiri dari 5 ekor mencit, sebagai ulangan. Setiap hari mencit diberikan ekstrak Ashitaba. Grup A digunakan sebagai kontrol yang tidak diberikan ekstrak Ashitaba tapi aquades; grup B diberikan ekstrak Ashitaba dengan dosis 125 mg/kg bb; grup C diberikan ekstrak Ashitaba dosis 250 mg/kg bb; grup D diberikan ekstrak Ashitaba dosis 500 mg/kg bb; dan grup E diberikan ekstrak Ashitaba dosis 1.000 mg/kg bb. Pemberian ekstrak Ashitaba dilakukan sampai hari ke 21. Pada hari ke-22 semua mencit dinekropsi dan selanjutnya hati diambil secara aseptis. Organ hati diambil masing-masing berukuran 1x1x1 cm selanjutnya dimasukkan ke formalin buffer 10% sebagai tahap fiksasi pembuatan preparat histopatologi.

#### **Pembuatan preparat histopatologi dan pewarnaan HE**

Tahap pembuatan sediaan histopatologi dilakukan sesuai metode Kiernan. Fiksasi jaringan dengan cara merendam dalam formalin buffer fosfat 10% selama 24 jam, kemudian diiris (*trimming*) agar dapat dimasukkan dalam kotak untuk diproses dalam *tissue processor*. Tahap berikutnya, jaringan tersebut dimasukkan ke dalam alkohol 70%, alkohol 80%, alkohol 90%, alkohol 96%, toluene 1 dan toluene 2 masing-masing selama 2 jam. Selanjutnya jaringan dimasukkan ke dalam paraffin cair dengan suhu 56°C selama 2 jam sebanyak 2 kali. Jaringan kemudian diambil dengan pinset, dilanjutkan dengan pemblokkan menggunakan parafin blok. Pemotongan (*cutting*) dilakukan

dengan menggunakan mikrotom dengan ketebalan 4-5 µm. Jaringan yang terpotong dikembangkan di atas air dalam waterbath, kemudian ditangkap dengan gelas objek. Kemudian dikeringkan dalam suhu kamar dan preparat siap diwarnai dengan Hematoxylin Eosin (HE).

Tahapan pewarnaan HE metode Harris adalah sebagai berikut : preparat di atas gelas objek direndam dalam xylol I 5 menit, dilanjutkan xylol II, III masing-masing 5 menit. Kemudian preparat direndam dalam alkohol 100% I dan II masing-masing 5 menit, selanjutnya ke dalam aquades dan kemudian direndam dalam Harris Hematoxylin selama 15 menit. Celupkan ke dalam aquades dengan cara mengangkat dan menurunkannya. Preparat kemudian dicelupkan ke dalam acid alkohol 1% selama 7-10 celupan, direndam dalam aquades 15 menit, dan dalam eosin selama 2 menit. Selanjutnya preparat direndam dalam alkohol 96% I dan II masing-masing 3 menit, alkohol 100 % I dan II masing-masing 3 menit, dan dalam xylol IV dan V masing-masing 5 menit. Preparat dikeringkan dan dilakukan mounting dengan menggunakan entelan. Preparat diperiksa di bawah mikroskop untuk pemeriksaan terhadap perubahan histopatologi.

#### **Pemeriksaan histopatologi**

Preparat histopatologi diperiksa di bawah mikroskop masing-masing pada 5 lapang pandang mikroskopik. Pemeriksaan dengan mikroskop dilakukan dengan pembesaran 100x kemudian dilanjutkan dengan pembesaran 400x. Perubahan histopatologi yang diamati meliputi adanya degenerasi meleak (vakuolisasi) dan nekrosis.

### Analisis Data

Data hasil pemeriksaan ditabulasi dan dianalisis dengan statistik non parametrik Kruskal Wallis, dengan bantuan program SPSS 13.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Hasil

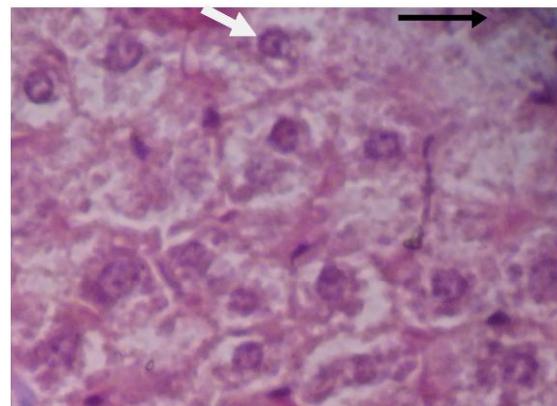
Hasil pemeriksaan histopatologi hati mencit (*Mus musculus*) setelah diberikan ekstrak etanol daun Ashitaba (*Angelica keiskei*) secara oral dengan dosis 0 mg/kg bb; 125 mg/kg bb (0,03 ml); 250 mg/kg bb (0,06 ml); 500 mg/kg bb (0,12 ml); dan 1.000 mg/kg bb (0,24 ml) dalam waktu 21 hari, dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Pemeriksaan Perubahan Histopatologi

Perlakuan (Grup)	Ulangan	Degenerasi melemak	Nekrosis
A (placebo)	1	0	0
	2	0	0
	3	0	0
	4	0	0
	5	0	0
B	1	0	0
	2	0	0
	3	0	0
	4	0	0
	5	0	0
C	1	0	1
	2	1	0
	3	0	0
	4	0	0
	5	0	0
D	1	1	0
	2	0	1
	3	0	0
	4	0	0
	5	0	0
E	1	1	1
	2	1	1
	3	1	1
	4	0	0
	5	0	0

Keterangan : Skor 0 = tidak ada lesi, 1 = lesi setempat, 2 = lesi di beberapa tempat, 3 = lesi merata

Hasil pemeriksaan histopatologi hati mencit yang diberikan ekstrak etanol daun Ashitaba, tidak ditemukannya adanya nekrosis dan degenerasi melemak pada kontrol. Sedangkan pada perlakuan grup B, C, D dan E ditemukan nekrosis dan degenerasi melemak pada tingkat ringan (Gambar 1). Hasil analisis statistik non parametrik dengan uji Kruskal-Wallis diperoleh hasil tidak ada perbedaan bermakna ( $P > 0,05$ ) terhadap lesi degenerasi melemak dan lesi nekrosis antara grup perlakuan dengan kontrol.



Gambar. 1 Struktur histopatologi hati mencit grup C (HE, 400X). Tanda panah hitam menunjukkan adanya nekrosis. Tanda panah putih menunjukkan degenerasi melemak.

### Pembahasan

Secara umum berdasarkan hasil penelitian dan pengamatan histopatologi hati mencit (*Mus musculus*), diperoleh hasil pemberian ekstrak etanol daun Ashitaba (*Angelica keiskei*) sampai dosis pemberian tertinggi 1.000 mg/kg bb

masih aman (tidak toksik) jika diberikan secara oral. Beberapa hasil penelitian melaporkan bahwa zat-zat beracun, baik yang berasal dari luar tubuh seperti dari obat maupun dari sisa metabolisme yang dihasilkan sendiri oleh tubuh akan didetoksifikasi (dinetralsir) oleh enzim-enzim hati sehingga menjadi zat yang tidak aktif. Namun, peracunan dari zat psikotropika dengan dosis besar dan bahan-bahan kimia industri dapat merusak sel hati. Obat yang metabolismenya meningkatkan toksisitas dan menghasilkan nekrosis hepatis adalah isoniazid (Gibson dan Skett, 1991). Zat kimia yang terlalu banyak berada di dalam hati akan mengakibatkan kerusakan sel, seperti infiltrasi sel radang, degenerasi melemak, piknosis dan kongesti (Guyton dan Hall, 1997).

Secara makroskopis jaringan yang mengalami nekrosis terlihat lebih pucat dan transparan bila dibandingkan dengan jaringan normal disekitarnya. Secara mikroskopik nukleus akan mengalami piknosis yaitu nukleus terlihat lebih bundar, ukuran lebih kecil dan tercat lebih gelap (Sudiono *et al*, 2001).

Degenerasi melemak setempat ditemukan pada dosis pemberian 250 mg/kg bb dan 500 mg/kg bb pada 1 ekor dari 5 ekor sampel. Pada dosis pemberian 1.000 mg/kg bb ditemukan 3 ekor sampel dari 5 ekor sampel yang mengalami degenerasi melemak setempat. Degenerasi melemak (*fatty degeneration*) merupakan akumulasi lemak dalam sitoplasma sel. Biasanya terjadi dalam sel-sel parenkimatososa, seperti sel hepar. Pada pewarnaan hematoksilin eosin (HE), lemak yang hilang akibat proses dehidrasi dengan alkohol akan terbentuk vacuola-

vacuola sehingga sering disebut degenerasi vacuola. Lemak dalam sitoplasma sel dapat mendesak inti sel ke pinggir yang tampak pada pemeriksaan mikroskopik. Penyebabnya antara lain : gangguan hepatosit (diet, toksik) sehingga tidak terbentuk lipoprotein (Himawan, 1992). Dalam beberapa sel, inti dipertahankan walaupun ada yang tergeser ke pinggir sitoplasma vakuola lemak (Robbins dan Kumar, 1992). Kemungkinan mencit sebelum diberikan perlakuan telah menderita infeksi atau gangguan yang lain yang menyebabkan adanya degenerasi melemak.

Nekrosis ringan ditemukan pada dosis pemberian 250 mg/kg bb dan 500 mg/kg bb pada 1 ekor dari 5 ekor sampel. Pada dosis pemberian 1.000 mg/kg bb ditemukan 3 ekor sampel dari 5 ekor sampel yang mengalami nekrosis ringan. Nekrosis merupakan kematian sel jaringan akibat jejas saat individu masih hidup. Secara mikroskopik terjadi perubahan intinya yaitu hilangnya gambaran khromatin, inti menjadi keriput, tidak vasikuler lagi, inti tampak lebih padat, warnanya gelap (piknosis), inti terbagi atas fragmen-fragmen, robek (karioreksis), inti tidak lagi mengambil warna banyak karena itu pucat tidak nyata (kariolisis) (Himawan, 1992). Nekrosis dapat disebabkan oleh bermacam-macam agen etiologi dan dapat menyebabkan kematian dalam beberapa hari. Agen penyebabnya yaitu racun kuat (misal fosfor, jamur beracun, dan lainnya), gangguan metabolik (biasanya pada metabolisme protein), infeksi virus yang menyebabkan bentuk fluminan atau maligna virus (Thomson, 1994). Kemungkinan mencit sebelum diberikan

perlakuan telah menderita infeksi atau gangguan yang lain yang menyebabkan adanya nekrosis ringan.

## SIMPULAN DAN SARAN

### Simpulan

Dari hasil penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak etanol daun Ashitaba (*Angelica keiskei*) dengan rentang dosis 125 mg/kg bb sampai 1.000 mg/kg bb selama 21 hari, tidak menyebabkan perubahan histopatologis hati mencit (*Mus musculus*).

### Saran

Untuk mengetahui efek lebih lanjut dan lebih luas dari ekstrak etanol daun Ashitaba (*Angelica keiskei*) terhadap perubahan struktur histopatologi hati perlu dilakukan penelitian dengan dosis yang lebih besar dari 1.000 mg/kg bb dan waktu pemberian lebih dari 21 hari.

## UCAPAN TERIMAKASIH

Peneliti mengucapkan terimakasih dan penghargaan kepada Bapak Dekan Fakultas Kedokteran Hewan atas fasilitas yang telah diberikan selama penelitian dan kepada Bapak Drh. I Wayan Sudira, MKes dan Bapak Prof. Dr.Drh I Ketut Berata, MSi sebagai pembimbing yang telah banyak memberikan bimbingan selama melakukan penelitian

## DAFTAR PUSTAKA

Corwin, E.J. 2001. Buku Saku Patofisiologi. Alih Bahasa dr. Brahm U. Pendit, Sp.K. K. Penerbit Buku Kedokteran, EGC. Jakarta.

Dalimartha, S. 2001. Ramuan Tradisional Untuk Pengobatan Hepatitis. Penebar Swadaya. Jakarta

Gibson, G.G., and Skett P. 1991. Pengantar Metabolisme Obat. Penerjemah: Iis Aisyah. UI-Press.

Guyton dan Hall,. 1997. Buku ajar fisiologi kedokteran. Setiawan I, editor. Ed. 9. Jakarta: EGC,.

Himawan, S. 1992. Kumpulan Kuliah Patologi. Jakarta:UI Press

Nagata J, Morino T, Saito M. 2007. "Effects of dietary *Angelica keiskei* on serum and liver lipid profile, and body fat accumulations in rats", Journal of Nutrition Scientific Vitaminology, National Institute of Health and Nutrition, Tokyo.

Pudjarwoto, T., Simanjuntak, C, H; Nur Indah P. 1992. Daya Antimikroba Obat Tradisional Diare Terhadap Beberapa Jenis Bakteri Enteropatogen. Cermin Kedokteran 76(1): 45-47

Robbins, S. L. dan Kumar, V.1992. Buku Ajar Patologi 1. Edisi 4. Alih bahasa : Staf pengajar Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. Surabaya. Penerbit buku Kedokteran EGC, Jakarta.1-66.

Sudiono, J., Kurniadhi B., Hendrawan A., dan Djimantoro B. 2001. Penuntun Praktikum Patologi Anatomi. Buku Kedokteran EGC. Jakarta

Tamlikha, M. 2011. Lokasi Budidaya Ashitaba di Desa Sembalun. <http://rinjaniashitaba.com/lokasi-budidaya/> [2 Mei 2012]

Thomson, R.G. 1994. General Veterinary Pathology. Second Edition. W.B. Saunders Company. Philadelphia