

Pemberian Ekstrak Daun Sirsak Jangka Panjang Menyebabkan Cedera Jaringan Hati yang Bersifat Reversibel

Meta Syafitri, Maya Tejasari, Cice Tresnasari

Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Bandung

Abstrak

Hati dapat mengalami kerusakan yang disebabkan oleh obat-obatan (*drug-induced liver injury*). Tanaman sirsak banyak digunakan dalam pengobatan sebagai antioksidan, antitumor, antimikrob, dan antiparasit. Penelitian ini bertujuan mengetahui perubahan morfologi jaringan hati tikus pada pemberian ekstrak daun sirsak jangka panjang. Penelitian dilakukan menggunakan 28 ekor tikus jantan galur Wistar (*Rattus norvegicus*) yang terbagi dalam empat kelompok, yaitu kelompok kontrol positif dan tiga kelompok perlakuan dengan dosis ekstrak daun sirsak 20, 40, dan 80 mg/kgBB yang diberikan selama 60 hari. Semua perlakuan diberikan secara oral. Seluruh kelompok kemudian dikorbankan dan diambil organ hatinya, kemudian dibuat sediaan histopatologi dan dilihat menggunakan mikroskop cahaya. Parameter yang diukur adalah hepatosit yang membengkak. Hasil penelitian didapatkan jumlah hepatosit rata-rata yang membengkak pada tiap-tiap perlakuan sebanyak 40,00; 73,86; dan 175,29 per lapang pandang. Data dianalisis dengan uji *one-way* ANOVA dan dilanjutkan dengan uji *post-hoc*. Didapatkan perbedaan bermakna ($p=0,0001$; $p<0,05$) dan pemberian ekstrak daun sirsak jangka panjang dosis 80 mg/kgBB menunjukkan pembengkakan paling banyak. Hal tersebut disebabkan bioaktivitas obat menjadi metabolit reaktif yang berinteraksi dengan makromolekul seluler sehingga menyebabkan disfungsi mitokondria dan gangguan produksi ATP. Simpulan, pemberian ekstrak daun sirsak jangka panjang berpengaruh terhadap peningkatan hepatosit yang membengkak.

Kata kunci: Daun sirsak, *drug-induced liver injury*, pembengkakan hepatosit

Morphological Changes of Rat's Liver System by Giving Soursop Leaves Extract in the Long-Term

Abstract

Liver disease caused by a variety of factors, one of the most common factors is drug (*drug-induced liver injury*). Soursop plants are widely used as medicines such as antioxidants, antitumors, antimicrobials and antiparasites. The aim of this study is to determine the morphological changes of rat's liver system by giving soursop leaves extract to rat's liver in the long term. This research used 28 rats against Wistar (*Rattus norvegicus*) which divided into four groups: positive control group (normal) and three treatment groups with dosage soursop leaf extract of 20, 40, and 80 mg/kgBW given over 60 days. All treatments are administered orally. After 60 days of treatment, the rats were sacrificed and the liver was taken, then the histopathologic preparations were made and viewed using a light microscope. Parameter that was measured in this research is the increase of hepatocytes volume. The result obtained that the average number of hepatocytes swelling each treatment about 40,00; 73,86; and 175,29 per point of view. The data were analyzed by one-way ANOVA test and continued by post-hoc test. The different significant was found ($p=0,0001$; $p<0,05$) and the giving of soursop leaf extract in the long-term with 80 mg/dose kgBW showed the most increasing of hepatocytes volume. This case is caused by the creative metabolites of bioactivities drugs that interact with cellular macromolecules causing mitochondrial dysfunction and impaired production of ATP. The conclusion of this study is the giving of soursop leaf extract to the rat's liver in the long-term influence the increasing of hepatocytes.

Key words: Drug-induced liver injury, hepatocyte swelling, soursop leaves

Pendahuluan

Hati merupakan organ paling penting yang berperan dalam menjaga berbagai proses fisiologis dalam tubuh. Hati berfungsi sebagai pusat detoksifikasi dan ekskresi senyawa eksogen dan endogen. Retikulum endoplasma halus dalam hati adalah pokok "*metabolic clearing house*" untuk bahan kimia endogen (antara lain kolesterol, hormon steroid, asam lemak, dan protein), dan zat eksogen (antara lain obat-obatan).^{1,2} Hati dapat mengalami kerusakan atau masalah yang dapat disebabkan oleh beberapa hal, diantaranya penggunaan obat-obatan seperti obat sintetik maupun obat herbal yang sering dikonsumsi serta melebihi kadar yang tidak jelas dikonsumsinya, toksin dari makanan, alkohol, dan mikroorganisme patogen seperti virus dan bakteri.³

Kerusakan organ hati yang disebabkan oleh obat-obatan disebut dengan *drug-induced liver injury* (DILI), Berbagai survei di dunia menunjukkan bahwa DILI sebagai penyebab penyakit hati akut maupun kronik dilaporkan sebesar 1:10.000 sampai 1:100.000 pasien. Pada sebagian besar kasus, mekanisme DILI diawali dengan bioaktivitas obat menjadi metabolit reaktif yang mampu berinteraksi dengan makromolekul seluler, seperti protein, lemak, dan asam nukleat. Hal ini menyebabkan disfungsi protein, peroksidasi lipid, kerusakan DNA, dan stres oksidatif. Selain itu, metabolit reaktif ini dapat mencetuskan gangguan pada gradien ionik dan penyimpanan kalsium intraseluler menyebabkan disfungsi mitokondria dan gangguan produksi energi. Hilangnya fungsi mitokondria dan deplesi ATP yang menyebabkan pembengkakan sel hepatosit.⁴

Drug-induced liver injury dapat disebabkan oleh obat herbal, di mana *herbal medicine-related hepatotoxicity* merupakan penyebab kedua DILI paling sering di negara Barat, sementara di Timur produk herbal merupakan penyebab umum DILI.⁵ Obat herbal sudah digunakan sejak berabad-abad yang lalu oleh masyarakat Mesir kuno, Cina, India, dan Sumeria.⁶ Penggunaan obat herbal dalam waktu jangka panjang dapat menimbulkan gejala toksisitas seperti toksisitas kronis, karsinogenik, mutagenik, dan teratogenik.⁷

Salah satu tanaman yang biasa digunakan sebagai obat herbal adalah sirsak (*Annona muricata* L.). Tanaman sirsak yang paling sering digunakan untuk obat yaitu daun. Daun

sirsak mengandung beberapa senyawa kimia seperti flavonoid, alkaloid, saponin, tanin, glikosida, glikosida antrakuinon, steroid/triterpenoid, kumarin, dan acetogenin. Senyawa yang terkandung di dalam daun sirsak tersebut menampilkan beberapa reaksi biologis atau farmakologis yang berperan sebagai antioksidan, antitumor, sitotoksitas selektif, antimikrob, dan antiparasit.⁸

Senyawa kimia tanaman sirsak yang dapat memberikan efek toksik adalah *annonaceous acetogenin*. Pada penelitian terbaru menunjukkan bahwa buah sirsak dengan *annonacin* sebagai *annonaceous acetogenin* utama berpotensi besar dalam proses degeneratif seperti penyakit parkinson. Tetapi penelitian *acetogenin* pada hati belum ada.⁹

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Rasyad dkk.⁷ bahwa penggunaan ekstrak etanol daun sirsak dengan dosis 450 mg/kgBB selama 35 hari pada tikus menyebabkan nekrosis pada sebagian kecil sel hati. Sementara penelitian yang dilakukan oleh Harissa¹⁰ didapatkan hasil bahwa pemberian ekstrak etanol daun sirsak pada mencit selama 60 hari dengan dosis 200 mg/kgBB menunjukkan pengaruh yang signifikan pada aktivitas *serum glutamic pyruvic transaminase* (SGPT) dan rasio berat organ hati. Penelitian ini dilakukan jangka panjang selama 60 hari pada tikus dengan dosis 20 mg/kgBB, 40 mg/kgBB, dan 80 mg/kg BB.

Penelitian tentang efek kuratif dan preventif dari daun sirsak telah banyak dilakukan sebelumnya. Akan tetapi, penelitian tentang efek jangka panjang ekstrak daun sirsak terhadap perubahan morfologi hati masih jarang dilakukan. Hal ini menarik peneliti untuk mengetahui lebih jauh tentang efek daun sirsak yang diberikan dalam jangka panjang terhadap organ hati dengan menggunakan jumlah hepatosit yang membengkak sebagai parameter kerusakan organ hati.

Metode

Penelitian ini adalah eksperimental laboratorium. Subjek penelitian yaitu tikus jantan galur Wistar (*Rattus norvegicus*) yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi. Kriteria inklusi subjek penelitian adalah tikus jantan galur Wistar (*Rattus norvegicus*), usia dewasa 8–10 minggu dengan berat 150–200 gram, serta berbadan sehat dengan ciri-ciri lincah, awas (*alert*), telinga berdiri tegak, dan tidak ada luka. Kriteria

eksklusi adalah tikus yang pernah dijadikan objek penelitian sebelumnya dan tikus yang mati selama masa adaptasi dan perlakuan. Penelitian ini telah mendapatkan persetujuan (*ethical approval*) dari Komite Etik Penelitian Kesehatan, Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Bandung dengan surat Nomor: 126/Komite Etik.FK/III/2017 tertanggal 6 Maret 2017.

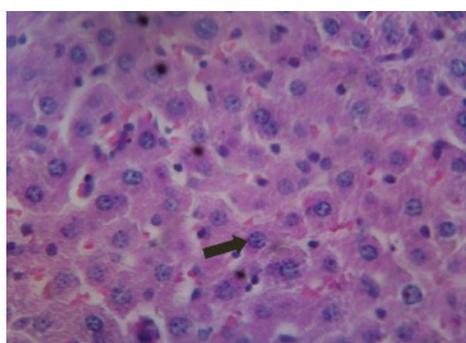
Jumlah subjek penelitian yang digunakan pada penelitian ini menggunakan perhitungan rumus Federer, yaitu digunakan 28 ekor tikus. Sebelum dilakukan penelitian ini, subjek penelitian diadaptasi selama tujuh hari. Setelah diadaptasi, subjek dibagi menjadi 4 (empat) kelompok terdiri atas kelompok I diberi pakan standar dan air minum, kelompok II diberi pakan standar per oral dan air minum kemudian diberikan sediaan ekstrak daun sirsak dengan konsentrasi 20 mg/kgBB/hari, kelompok III diberi pakan standar per oral dan air minum kemudian diberikan sediaan ekstrak daun sirsak dengan konsentrasi 40 mg/kgBB/hari, serta kelompok IV diberi pakan standar per oral dan

air minum kemudian diberikan sediaan ekstrak daun sirsak dengan konsentrasi 80 mg/kgBB/hari. Semua subjek penelitian akan diberi perlakuan sesuai dengan kelompoknya selama 60 hari. Kemudian tikus dikorbankan dengan cara dibedah, diambil organ hatinya, dan dibuat preparat dengan pewarnaan *hematoxylin and eosin* (H&E). Selanjutnya preparat diperiksa dan diobservasi menggunakan mikroskop cahaya dan optilab pada pembesaran 400× untuk melihat hepatosit yang membengkak.

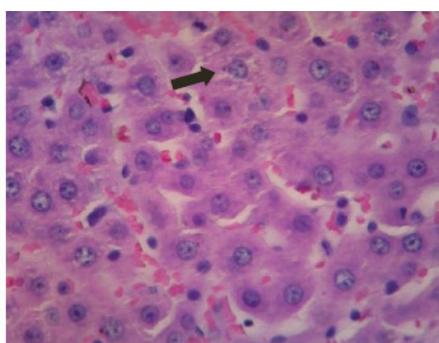
Hasil

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa terdapat hepatosit yang membengkak pada tiap-tiap kelompok. Gambaran hepatosit yang mengalami pembengkakan ditunjukkan pada Gambar 1.

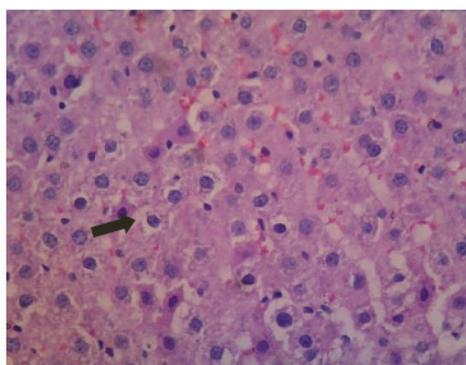
Hasil pembacaan preparat kelompok I didapatkan gambaran jaringan hati dengan arsitektur lobulus hati yang normal. Ditemukan sedikit sekali hepatosit yang mengalami pembengkakan, lempeng hepatosit tersusun



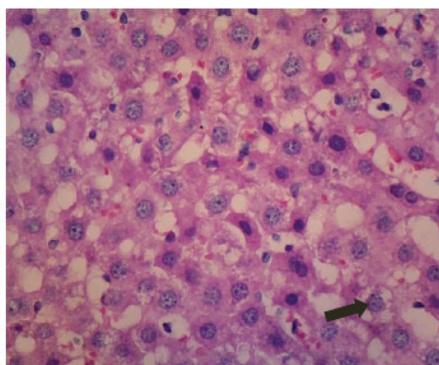
Kelompok I



Kelompok II



Kelompok III



Kelompok IV

Gambar 1 Gambaran Hepatosit yang Mengalami Pembengkakan pada Tiap-tiap Kelompok dengan Pembesaran 400×

Tabel 1 Rata-rata dan Hasil Uji *One-Way* ANOVA Jumlah Hepatosit yang Membengkak

Kelompok	Jumlah Hepatosit yang Membengkak	
	Rata-rata	p
I (Kontrol)	6,43	0,0001
II (Perlakuan I)	40,00	
III (Perlakuan II)	73,86	
IV (Perlakuan III)	175,29	

secara radier. Kelompok II didapatkan gambaran lempeng hepatosit yang masih memiliki pola radier, namun sudah ditemukan hepatosit yang membengkak. Pada kelompok III–IV didapatkan hepatosit yang membengkak dengan karakteristik sitoplasma yang membesar, berwarna pucat, terdapat vakuola berwarna putih karena berisi air yang tidak menyerap warna ketika dilakukan pewarnaan, dan batas sitoplasma yang sulit ditentukan.

Sebelum dilakukan analisis statistik, untuk data numerik dengan besar sampel ≤ 50 dilakukan uji normalitas menggunakan uji Shapiro Wilks. Berdasarkan hasil uji normalitas didapatkan bahwa data semua kelompok uji berdistribusi normal dengan nilai $p \geq 0,05$ selanjutnya dilakukan uji beda menggunakan *one-way analysis of variance* (ANOVA) untuk menilai perbedaan antara kelompok perlakuan dan kelompok kontrol. Hasil uji tersebut dapat dilihat pada Tabel 1.

Hasil uji ANOVA dengan derajat kepercayaan 95% diperoleh ($p=0,0001$; $p<0,05$) sehingga dapat diketahui bahwa terdapat perbedaan bermakna atau signifikan pada jumlah hepatosit yang membengkak. Untuk melihat perbedaan

jumlah hepatosit rata-rata yang membengkak tiap kelompok dilakukan uji *post-hoc*. Hasil uji *post-hoc* pada tiap kelompok dapat dilihat pada tabel 2 yang memperlihatkan kelompok IV berada pada *grouping* yang berbeda dengan kelompok I, jumlah hepatosit rata-rata yang membengkak pada kelompok I dan kelompok IV memiliki perbedaan yang bermakna.

Pembahasan

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian sediaan ekstrak daun sirsak jangka panjang selama 60 hari dan peningkatan pemberian dosis ekstrak daun sirsak terbukti dapat menyebabkan rerata jumlah hepatosit yang membengkak meningkat secara bermakna. Hal ini disebabkan bioaktivitas obat dapat menjadi metabolit reaktif yang mampu berinteraksi dengan makromolekul seluler seperti protein, lemak, dan asam nukleat. Sehingga menyebabkan disfungsi protein, peroksidasi lipid, kerusakan DNA, dan stres oksidatif. Selain itu, metabolit reaktif ini dapat mencetuskan gangguan pada gradien ionik dan penyimpanan kalsium intraseluler menyebabkan terjadinya disfungsi mitokondria dan gangguan produksi energi. Hilangnya fungsi mitokondria dan deplesi ATP menyebabkan pembengkakan sel hepatosit.⁴

Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Rasyad dkk pada tahun 2015 terhadap tikus. Perlakuan diberikan setiap hari selama 35 hari dengan diberikan ekstrak etanol daun sirsak dengan dosis 150 mg/kgBB, 300 mg/kgBB, dan 450 mg/kgBB. Hasil penelitian menunjukkan pada pemberian ekstrak etanol daun sirsak dosis 450 mg/kgBB/hari ditemukan fokal jaringan hati nekrosis.⁷ Penelitian lain yang dilakukan oleh Harissa pada tahun 2012 menunjukkan hasil bahwa pemberian ekstrak etanol daun sirsak pada mencit dengan lama pemberian 60 hari dengan dosis 200 mg/kgBB menunjukkan pengaruh yang signifikan terhadap gangguan fungsi pada aktivitas SGPT dan rasio berat organ hati.¹⁰ Hal ini kemungkinan disebabkan adanya kerusakan membran plasma sehingga sel hati kehilangan integritasnya dan menjadi lebih permeabel. Akibatnya adalah homeostasis kalsium akan terganggu dan masuknya natrium dan air menyebabkan terjadinya pembengkakan sel sehingga terjadi peningkatan pada berat organ hati. Selain itu, enzim-enzim yang ada di dalam hepatosit akan

Tabel 2 Perhitungan Hasil uji *Post-Hoc* dengan Metode Tukey

Kelompok	Jumlah Hepatosit yang Membengkak		
	<i>Grouping</i>	p	
I (Kontrol)	A	1,48	
II (Perlakuan I)	A		
III (Perlakuan II)	A	B	0,065
IV (Perlakuan III)	B		

terdeteksi di dalam darah dalam jumlah yang meningkat seperti SGPT.¹¹ Pada penelitian Harissa ini terjadi gangguan struktur hati.

Hasil penelitian ini tidak sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Rasyad dkk pada tahun 2015. Pada penelitian ini pemberian dosis yang paling signifikan terhadap peningkatan jumlah hepatosit yang membengkak yang diberi sediaan ekstrak daun sirsak jangka panjang adalah 80 mg/kgBB/hari. Adanya perbedaan dengan penelitian Rasyad karena dosis dan lama waktu yang digunakannya berbeda. Pada penelitian tersebut digunakan dosis yang lebih tinggi yaitu 450 mg/kgBB/hari selama 35 hari sehingga kerusakan jaringan hati yang timbul lebih berat,⁷ sedangkan pada penelitian ini dosis yang diberikan adalah dosis yang diketahui dapat memberikan efek penurunan terhadap kadar asam sialat pada jaringan hati tikus yang diinduksi *dimethylbenzanthracene* (DMBA), tetapi diberikan dalam jangka panjang selama 60 hari, sehingga kerusakan hati yang timbul lebih ringan.¹² Penelitian ini merupakan penelitian pertama yang meneliti tentang pemberian ekstrak daun sirsak jangka panjang terhadap perubahan morfologi jaringan hati tikus.

Simpulan

Simpulan penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun sirsak (*Annona muricata*) jangka panjang berpengaruh terhadap peningkatan jumlah hepatosit yang membengkak.

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Laboratorium Eyckman Universitas Padjajaran, Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran UNISBA, dan Laboratorium Ilmu Hayati ITB.

Daftar Pustaka

- Ilyas U, Katare DP, Aeri V, Naseef PP. A Review on Hepatoprotective and Immunomodulatory Herbal Plants. *Pharmacogn Rev.* 2016; Jan-Jun; 10(19): 66-70.
- Tortora GJ, Derrickson B. Principles of anatomy and physiology. 12th edition. USA: John Wiley & Sons Inc; 2009: 991-995.
- Surya DH. Efek ekstrak buah mengkudu (*Molinda citrifolis* L) terhadap kadar enzim SGOT dan SGPT pada mencit dengan induksi karbon tetraklorida. Universitas Sebelas Maret Surakarta. 2009
- Loho I, Hasan I. Drug-Induced Liver Injury—Tantangan dalam Diagnosis. 2014;41(3), 167–170.
- Stournares E, Tziomalos K. Herbal medicine-related hepatotoxicity. *World J Hepatol.* 2015 Sep 8; 7(19): 2189-2193.
- Larson AM, MD, FACP, FAASLD, AGAF. Hepatotoxicity due to herbal medications and dietary supplements. 2017 Jan 12.
- Rasyad AA, Handayani AF, Meisyayati S. Uji hepatotoksik ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata*) terhadap tikus putih jantan galur wistra. Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi (STIFI) Bhakti Pertiwi. ISBN: 978-602-73060-1-1. 2015.
- Setyorini HA, Kurniatri AA, Adelina R dan Winarsih. Karakterisasi mutu ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* L.) dari tiga tempat tumbuh. Pusat Penelitian dan Pengembangan Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan. 2016
- Patel S, Patel JK. A review on a miracle fruits of *Annona muricata*. *J Pharmacogn Phytochem.* 2016;5(51):137-148.
- Harissa M. Uji toksisitas sub kronis dari ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata*) terhadap hati dan ginjal pada mencit putih. Fakultas Farmasi Universitas Andalas Padang. 2012.
- Kumar V, Abbas AK, Fausto N, Aster J. Robbin and Cotran pathologic basis of disease. Eighth edition. Philadelphia: ELSEVIER; 2010: 835-889.
- Selviana BY. Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Sirsak (*Annona Muricata*.L) Terhadap Asam Sialat Pada Jaringan Hati Tikus yang Diinduksi Senyawa 7,12-Dimethylbenz[A] Anthracene (DMBA). Universitas Lampung. 2015.
- Yuniarti Y, Sastramihardja S, Purbaningsih W, Tejasari M, Respati T, Hestu E, Adithya A. Soursop effect in cervical cancer apoptosis mechanism. *GMHC.* 2014;2(1):6–14.