

Gambaran histologi hati dan ginjal mencit (*Mus musculus* L.) yang diinduksi karbon tetraklorida (CCl₄) setelah pemberian ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* L.)

Histology of mice (*Mus musculus* L.) liver and kidney induced by carbon tetrachloride (CCl₄) after being given soursop leaf extract (*Annona muricata* L.)

Ni Desak Made Aprilia Dewi*, Ngurah Intan Wiratmini, dan Sang Ketut Sudirga

¹⁾ Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Udayana, Bali, Indonesia – 80361

*Email: desakaprilialia04@gmail.com

Diterima 2 Oktober 2021

Disetujui 25 November 2021

INTISARI

Karbon tetraklorida (CCl₄) merupakan senyawa kimia yang bersifat toksik, namun masih sering digunakan dalam industri bahan pendingin, alat pemadam kebakaran, dan pestisida. Penggunaan CCl₄ secara terus menerus dapat memicu terbentuknya radikal bebas sehingga berpotensi merusak organ hati dan ginjal. Tanaman sirsak (*Annona muricata* L.) salah satu tanaman yang dapat digunakan sebagai obat alternatif karena mengandung senyawa antioksidan yang dapat mencegah pembentukan radikal bebas. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak daun sirsak terhadap gambaran histologi hati dan ginjal mencit (*Mus musculus* L.) yang diinduksi karbon tetraklorida. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap dengan 24 ekor mencit jantan yang dikelompokkan menjadi 4 perlakuan yaitu kontrol negatif (K-) diberi larutan Na-CMC 0,5%, kontrol positif (K+) diinduksi CCl₄ 0,007 mL/20g BB yang dilarutkan dalam minyak kelapa 0,1 mL, dan dua perlakuan yang diinduksi CCl₄ 0,007 mL/20g BB serta diberi ekstrak daun sirsak dosis 100 mg/kg BB (P1) dan 200 mg/kg BB (P2). Parameter yang diamati pada histologi hati yaitu degenerasi melemak, degenerasi hidropik, nekrosis, kongesti, serta infiltrasi sel radang. Parameter yang diamati pada histologi ginjal yaitu degenerasi melemak, nekrosis, infiltrasi sel radang, dan pembengkakan glomerulus. Hasil penelitian menunjukkan terjadi penurunan kerusakan yang berbeda nyata ($p < 0,05$) pada P1 dan P2 dibandingkan dengan kontrol positif (K+) pada sayatan histologi hati dan ginjal, sehingga dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak daun sirsak mampu memperbaiki kerusakan hati dan ginjal setelah diinduksi karbon tetraklorida.

Kata kunci: karbon tetraklorida, sirsak, mencit, hati, ginjal

ABSTRACT

Carbon tetrachloride (CCl₄) is a chemical compound that is toxic, but is still often used in the refrigeration industry, fire extinguisher, and pesticide. Continuous use of CCl₄ can trigger the formation of free radicals, potentially damaging the liver and kidneys. Soursop (*Annona muricata* L.) is a plant that can be used as an alternative medicine because it contains antioxidant compounds that can prevent free radical formation. This study aims to determine the effect of soursop leaf extract on the histopathology of mice (*Mus musculus* L.) liver and kidneys induced by carbon tetrachloride. This research used a completely randomized design with 24 male mice, which were divided into 4 treatments consisting of negative control (K-) was given 0.5% Na-CMC solution, positive control (K+) induced by CCl₄ 0,007 mL/20g BW which was dissolved in

0,1 mL coconut oil, and two treatments induced CCl_4 0,007 mL/20g BW and given soursop leaf extract at a dose of 100 mg/kg BW (P1) and 200 mg/kg BW (P2). Parameters observed in liver histology were fatty degeneration, hydropic degeneration, necrosis, congestion, and inflammatory cell infiltration. Parameters observed in kidney histology were fatty degeneration, necrosis, inflammatory cell infiltration, and glomerular swelling. The results showed that there was significantly different decrease in damage ($p < 0,05$) in P1 and P2 compared to the positive control (K+) in liver and kidney histology incisions, it can be concluded that soursop leaf extract was able to repair liver and kidney damage after induced by carbon tetrachloride.

Keywords: carbon tetrachloride, soursop, mice, liver, kidney

PENDAHULUAN

Hati merupakan kelenjar terbesar di dalam tubuh dan termasuk ke dalam organ yang sangat penting dalam pengaturan homeostasis tubuh meliputi metabolisme, biotransformasi, sintesis, penyimpanan serta imunologi (Rafsanjani et al., 2018). Organ hati rentan mengalami kerusakan yang disebabkan oleh beberapa faktor, salah satunya yaitu stres oksidatif. Stres oksidatif merupakan kondisi yang menggambarkan ketidakseimbangan antara radikal bebas dan antioksidan yang berfungsi dalam mempertahankan kondisi terhadap kerusakan jaringan yang terjadi (Arief & Widodo, 2018).

Stres oksidatif selain mengakibatkan kerusakan pada organ hati juga menyebabkan terjadinya kerusakan pada ginjal (Hamed et al., 2012). Ginjal merupakan organ yang berfungsi untuk menyaring serta mengeluarkan zat-zat sisa metabolisme tubuh, sehingga rentan mengalami kerusakan akibat paparan zat toksik. Salah satu zat toksik yang dapat menimbulkan stres oksidatif hingga mengakibatkan terjadinya kerusakan adalah karbon tetraklorida (Sediarso et al., 2014).

Karbon tetraklorida (CCl_4) merupakan senyawa halogen hidrokarbon alifatik yang banyak digunakan sebagai pestisida, pemadam kebakaran, bahan pendingin, dan pembersih pakaian (Marks et al., 2013). Menurut Timbrell (2008), karbon tetraklorida merupakan salah satu senyawa yang sering digunakan untuk menginduksi kerusakan hati dan ginjal. Metabolisme dari karbon tetraklorida dengan bantuan katalis enzim sitokrom P₄₅₀ di hati menghasilkan radikal bebas triklorometil (CCl_3).

Peningkatan produksi radikal bebas dapat menyebabkan terjadinya kerusakan pada berbagai organ target seperti steatosis, nekrosis sentrilobular dan sirosis pada organ hati serta *Acute Tubular Necrosis* (ATN) pada organ ginjal (Hendra et al., 2014).

Radikal bebas dapat dinetralisir dengan menggunakan antioksidan. Daun sirsak (*Annona muricata* L.) diketahui memiliki aktivitas antioksidan yang mampu mencegah terjadinya kerusakan oksidatif. Beberapa senyawa kimia yang terkandung di dalam daun sirsak yaitu senyawa *acetogenin*, flavonoid, alkaloid, tannin, dan saponin (Parapaga et al., 2018). Penelitian Agata et al. (2016), menyatakan kandungan flavonoid pada ekstrak daun sirsak mampu melindungi hati dari efek toksik *Benzo(a)piren*. Penelitian Suharyadi et al. (2014) juga menyatakan bahwa senyawa flavonoid pada ekstrak daun sirsak terbukti mampu melindungi ginjal tikus dari kerusakan DMBA (*Dimetilbenz(a)antrasena*).

Berdasarkan uraian diatas serta ditinjau dari banyaknya manfaat daun sirsak, maka perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak daun sirsak terhadap gambaran histologi hati dan ginjal mencit yang diinduksi karbon tetraklorida.

MATERI DAN METODE

Persiapan Hewan Coba

Hewan coba yang digunakan adalah mencit (*Mus musculus* L.) berjenis kelamin jantan sebanyak 24 ekor dengan berat badan 25-30g.

Mencit diletakkan pada kandang berukuran 33×25×14 cm dan diberi pakan standar berupa pellet serta diberi minum secara *ad libitum*. Sebelum diberi perlakuan, mencit diaklimatisasi selama 7 hari.

Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri atas empat perlakuan yaitu kontrol negatif (K-) (diberikan larutan Na-CMC 0,5% sebanyak 0,3 mL) dan diberikan selama 24 hari, kontrol positif (K+) diinduksi karbon tetraklorida (CCl₄) dan diberikan selama 10 hari, dan dua perlakuan diinduksi karbon tetraklorida (CCl₄) selama 10 hari serta dilanjutkan dengan diberi ekstrak daun sirsak selama 14 hari berikutnya. P1 diberikan dosis ekstrak daun sirsak sebanyak 100 mg/kg BB dan P2 diberikan dosis ekstrak daun sirsak sebanyak 200 mg/kg BB (El-Kaream, 2019). Masing-masing perlakuan dilakukan pengulangan sebanyak 6 kali dengan pemberian perlakuan dilakukan secara oral (Sumbayak & Vebriyani, 2019).

Pembuatan Ekstrak Daun Sirsak

Daun sirsak dicuci bersih, dipotong kecil dan dikeringanginkan. Setelah kering, daun kemudian dihaluskan dengan blender hingga menjadi serbuk dan ditimbang sebanyak 150 g dengan timbangan digital. Serbuk daun sirsak kemudian dimasukkan ke dalam wadah dan dilakukan proses maserasi dengan cara serbuk direndam ke dalam etanol sebanyak 1.500 mL dengan perbandingan 1:10 (b/v). Wadah kemudian ditutup rapat serta disimpan pada suhu ruang selama 5 hari. Ekstrak selanjutnya disaring dengan kain kasa dan kertas saring serta dimasukkan ke dalam botol. Tahapan selanjutnya dilakukan proses evaporasi dengan *rotary evaporator* pada suhu 40°C sehingga diperoleh ekstrak kasar (Sudirga, 2015).

Pembuatan Sediaan Larutan Na-CMC 0,5%

Sediaan larutan Na-CMC dibuat dengan cara ditimbang sebanyak 0,5 g Na-CMC, kemudian dimasukkan ke dalam gelas Beaker yang sudah

diisi 10 mL air hangat dan didiamkan hingga 15 menit. Sediaan kemudian diaduk hingga homogen dan diencerkan dengan aquadest hingga volume 100 mL.

Pembuatan Larutan Karbon Tetraklorida (CCl₄)

Larutan karbon tetraklorida (CCl₄) dibuat dengan cara sebanyak 0,007 mL CCl₄ dilarutkan dalam 0,1 mL minyak kelapa. Larutan kemudian diaduk hingga homogen dan siap untuk digunakan (Sumbayak & Vebriyani, 2019).

Pemberian Perlakuan

Mencit pada kontrol negatif (K-) diberikan larutan Na-CMC 0,5% sebanyak 0,3 mL/ekor/hari yang dilakukan secara oral selama 24 hari, sedangkan pada mencit (K+), P1, dan P2 diberikan larutan CCl₄ selama 10 hari. Setiap satu ekor mencit diberikan CCl₄ dengan dosis 0,007 mL/20 g BB yang dilakukan secara oral sebanyak 0,3 mL/ekor/hari dengan menggunakan sonde (Sumbayak & Vebriyani, 2019). Setelah pemberian CCl₄, mencit P1 dan P2 diberikan ekstrak daun sirsak yang sudah dilarutkan dengan Na-CMC 0,5% sebanyak 0,3 mL/ekor/hari selama 14 hari berikutnya. Masing-masing perlakuan diberikan ekstrak daun sirsak dengan dosis 100 mg/kg BB (P1) dan 200 mg/kg BB (P2) (El-Kaream, 2019).

Mencit dibius pada hari ke-25 dengan ketamin dosis 100 mg/kg BB dan xylazine dosis 10 mg/kg BB (Tsukamoto et al., 2015). Mencit yang sudah dibius kemudian didislokasi leher dan dibedah untuk diambil organ hati dan ginjal. Organ kemudian dicuci dengan larutan NaCl 0,9% serta dikeringkan dengan kertas saring dan ditimbang. Setelah ditimbang organ kemudian direndam dalam larutan NBF (*Neutral Buffered Formaline*) 10% untuk diawetkan sebelum dilakukan preparasi sayatan histologi.

Uji Fitokimia Ekstrak Daun Sirsak

Uji Flavonoid

Sebanyak 1-2 mL ekstrak daun sirsak ditambahkan serbuk Mg, HCl, dan etanol

sebanyak 4-5 tetes, kemudian dihomogenkan. Ekstrak positif mengandung flavonoid apabila larutan berwarna kemerahan atau jingga (Kurniasih et al., 2015).

Uji Alkaloid

Sebanyak 1-2 mL ekstrak daun sirsak ditambahkan 2 mL kloroform dan 2 mL amoniak, kemudian dihomogenkan dan disaring. Filtrat selanjutnya ditambahkan H₂SO₄ sebanyak 3-5 tetes, kemudian dihomogenkan hingga terbentuk dua lapisan. Lapisan bagian atas kemudian diambil dan ditetesi pereaksi Mayer sebanyak 4-5 tetes. Ekstrak positif mengandung alkaloid apabila terdapat endapan berwarna putih keruh (Kurniasih et al., 2015).

Uji Saponin

Sebanyak 1-2 mL ekstrak daun sirsak ditambahkan dengan air panas dan dikocok selama 10 detik. Ekstrak positif mengandung saponin apabila terbentuk busa (Kurniasih et al., 2015).

Uji Terpenoid

Sebanyak 0,5 mL ekstrak daun sirsak ditambahkan kloroform dan dipanaskan selama 10 menit. Ekstrak kemudian diletakkan pada plat tetes dan ditambahkan dengan pereaksi Lb (asam anhidrat asetat + H₂SO₄ pekat). Ekstrak positif mengandung terpenoid apabila larutan berwarna merah muda atau violet (Santoso et al., 2012).

Preparasi dan Pengamatan Sayatan Histologi

Preparasi sayatan histologi hati dan ginjal mencit menggunakan metode paraffin dan pewarnaan Hematoksin-Eosin. Pengamatan preparat histologi hati dan ginjal mencit dilakukan di Laboratorium Struktur dan Perkembangan Hewan Program Studi Biologi Universitas Udayana dengan menggunakan beberapa alat seperti mikroskop, OptiLab, laptop, aplikasi *Image Raster* dan aplikasi OptiLab viewer. Gambaran sayatan histologi hati dan ginjal mencit diamati dengan pengamatan secara lapang pandang dan setiap preparat diamati sebanyak 5 lapang pandang. Untuk satu kali

lapang pandang dihitung jumlah sel hati dan ginjal yang normal dan sel yang mengalami kerusakan seperti nekrosis, degenerasi melemak, dan degenerasi hidropik pada sel hati serta degenerasi melemak, nekrosis serta pembengkakan glomerulus pada ginjal. Setelah diperoleh hasil kemudian dilakukan perhitungan persentase sel yang mengalami kerusakan untuk setiap lapang pandang serta dilakukan juga perhitungan rata-rata persentase kerusakan sel dari masing-masing perlakuan dengan rumus:

$$\text{Persentase kerusakan sel} = \frac{\text{Jumlah sel yang mengalami kerusakan}}{\text{Jumlah keseluruhan sel (sel normal dan rusak)}} \times 100\%$$

Variabel Penelitian

Variabel yang digunakan dalam penelitian ini adalah variabel kontrol, variabel bebas dan variabel terikat. Variabel kontrol meliputi karbon tetraklorida dan larutan Na-CMC 0,5% sebanyak 0,3 mL. Variabel bebas meliputi ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* L.) dengan dosis yang berbeda pada setiap kelompok yaitu 100 mg/kg BB dan 200 mg/kg BB. Variabel terikat meliputi gambaran histologi hati dengan jenis kerusakan seperti nekrosis, kongesti, infiltrasi sel radang, degenerasi melemak, dan degenerasi hidropik serta gambaran histologi ginjal dengan kerusakan seperti degenerasi melemak, nekrosis, infiltrasi sel radang, dan pembengkakan glomerulus.

Analisis data

Data hasil pengamatan sayatan histologi hati dan ginjal yang diperoleh dianalisis dengan uji statistik menggunakan program SPSS versi 25. Normalitas distribusi data dianalisis dengan uji *Saphiro-Wilk*. Data yang terdistribusi normal kemudian dianalisis dengan menggunakan *One Way Anova*. Apabila terdapat perbedaan nyata, maka analisis dilanjutkan dengan uji DMRT (*Duncan's Multiple Range Test*).

HASIL

Histologi Hati

Berdasarkan hasil pengamatan pada sayatan histologi hati mencit ditemukan adanya kerusakan berupa degenerasi melemak, degenerasi hidropik,

nekrosis, infiltrasi sel radang, dan kongesti (Gambar 1.). Hasil analisis dengan uji *One Way Anova* menunjukkan adanya perbedaan nyata antara perlakuan dengan kontrol ($p < 0,05$). Untuk mengetahui letak perbedaan nyata antar kelompok perlakuan maka dilanjutkan dengan uji lanjut DMRT.

Hasil analisis dengan uji DMRT pada histologi hati mencit yang mengalami degenerasi melemak, nekrosis, infiltrasi sel radang, dan kongesti

Berdasarkan hasil sayatan histologi pada ginjal mencit ditemukan kerusakan berupa degenerasi melemak, nekrosis, infiltrasi sel radang, dan pembengkakan glomerulus (Gambar 2.). Hasil analisis dengan uji *One Way Anova* menunjukkan adanya perbedaan nyata antara perlakuan dengan kontrol ($p < 0,05$). Hasil uji kemudian dilanjutkan dengan uji lanjut DMRT.

menunjukkan bahwa K(-) berbeda nyata dengan K(+), P1 dan P2; K(+), P1 dan P2; K(+), P1 dan P2; serta P1 berbeda nyata dengan P2. Sedangkan hasil analisis pada histologi hati mencit yang mengalami degenerasi hidropik menunjukkan K(-) berbeda nyata dengan K(+), P1, namun tidak berbeda nyata dengan P2; K(+), P1 dan P2; serta P1 berbeda nyata dengan P2 (Tabel 1.).

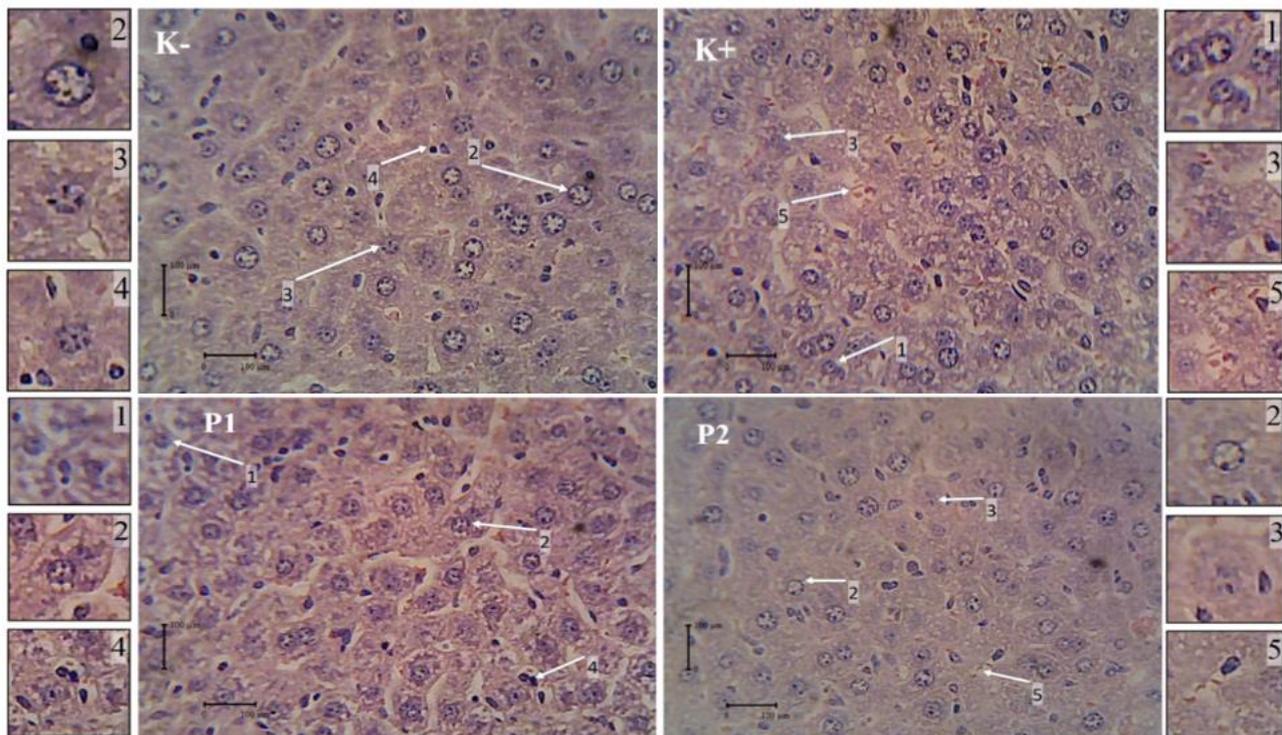
Histologi Ginjal

Hasil analisis menggunakan uji DMRT pada histologi ginjal mencit yang mengalami degenerasi melemak, nekrosis, infiltrasi sel radang, dan pembengkakan glomerulus menunjukkan bahwa K(-) berbeda nyata dengan K(+), P1 dan P2; K(+), P1 dan P2; K(+), P1 dan P2; serta P1 berbeda nyata dengan P2 (Tabel 2.).

Tabel 1. Hasil analisis histologi hati mencit dengan uji DMRT

Variabel	Perlakuan	Rerata \pm SD
Degenerasi Melemak	K-	1,69 \pm 0,35 ^a
	K+	12,77 \pm 0,66 ^d
	P1	11,02 \pm 0,55 ^c
	P2	6,47 \pm 0,52 ^b
Degenerasi Hidropik	K-	12,31 \pm 1,21 ^a
	K+	29,35 \pm 1,65 ^c
	P1	24,55 \pm 1,15 ^b
	P2	13,07 \pm 1,67 ^a
Nekrosis	K-	20,55 \pm 1,36 ^a
	K+	61,33 \pm 1,56 ^d
	P1	56,94 \pm 1,60 ^c
	P2	35,38 \pm 1,50 ^b
Infiltrasi Sel Radang	K-	20,89 \pm 1,90 ^a
	K+	49,60 \pm 1,80 ^d
	P1	38,41 \pm 2,78 ^c
	P2	31,60 \pm 2,26 ^b
Kongesti	K-	16,76 \pm 0,66 ^a
	K+	48,37 \pm 1,71 ^d
	P1	33,14 \pm 1,31 ^c
	P2	26,69 \pm 1,65 ^b

Keterangan: K- (kontrol negatif), K+ (kontrol positif), P1 (dosis 100 mg/kg BB), P2 (dosis 200 mg/kg BB). Angka yang diikuti dengan huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan nyata ($p < 0,05$).

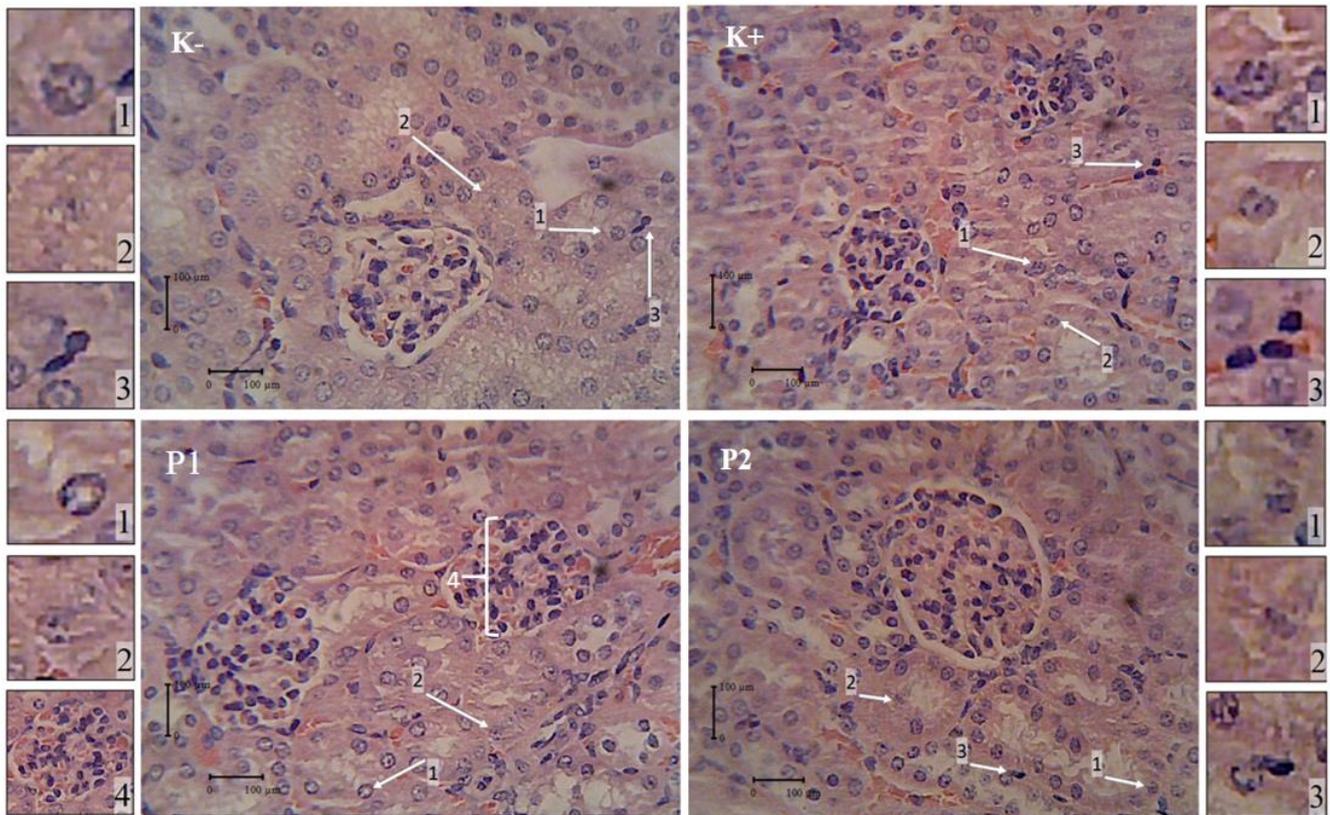


Gambar 1. Hasil Pengamatan Histologi Hati Mencit (Perbesaran 400x)
 Keterangan: 1. Degenerasi Melemak, 2. Degenerasi Hidropik, 3. Nekrosis, 4. Infiltrasi Sel Radang, 5. Kongesti; K- (kontrol negatif), K+ (kontrol positif), P1 (dosis 100 mg/kg BB), P2 (dosis 200 mg/kg BB).

Tabel 2. Hasil analisis histologi ginjal mencit dengan uji DMRT.

Variabel	Perlakuan	Rerata ± SD
Degenerasi Melemak	K-	2,60 ± 0,46 ^a
	K+	8,87 ± 0,83 ^d
	P1	7,57 ± 0,47 ^c
	P2	6,71 ± 0,64 ^b
Nekrosis	K-	8,60 ± 0,68 ^a
	K+	26,43 ± 1,43 ^d
	P1	17,10 ± 0,88 ^c
	P2	14,41 ± 0,56 ^b
Infiltrasi Sel Radang	K-	18,26 ± 1,62 ^a
	K+	34,07 ± 1,52 ^d
	P1	28,46 ± 0,31 ^c
	P2	22,25 ± 0,62 ^b
Pembengkakan Glomerulus	K-	24,38 ± 2,25 ^a
	K+	48,95 ± 2,01 ^d
	P1	40,36 ± 2,09 ^c
	P2	33,60 ± 1,90 ^b

Keterangan: K- (kontrol negatif), K+ (kontrol positif), P1 (dosis 100 mg/kg BB), P2 (dosis 200 mg/kg BB). Angka yang diikuti dengan huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan nyata ($p < 0,05$).



Gambar 2. Hasil Pengamatan Histologi Ginjal Mencit (Perbesaran 400x)
 Keterangan: 1. Degenerasi Melemap, 2. Nekrosis, 3. Infiltrasi Sel Radang, 4. Pembengkakan Glomerulus; K- (kontrol negatif), K+ (kontrol positif), P1 (dosis 100 mg/kg BB), P2 (dosis 200 mg/kg BB).

Uji Fitokimia Ekstrak Daun Sirsak

Hasil uji fitokimia ekstrak daun sirsak (*A. muricata* L.) menunjukkan bahwa ekstrak daun sirsak positif mengandung senyawa flavonoid, alkaloid dan saponin, namun pada senyawa terpenoid menunjukkan hasil negatif (Tabel 3.).

Tabel 3. Hasil uji fitokimia ekstrak daun sirsak (*A. muricata* L.)

Uji Fitokimia	Hasil	Keterangan
Flavonoid	+	Terjadi perubahan warna menjadi kemerahan
Alkaloid	+	Terbentuk endapan putih keruh
Saponin	+	Terbentuk busa
Terpenoid	-	Tidak terjadi perubahan warna

Keterangan: (+) = Hasil positif (terdeteksi senyawa metabolit sekunder)
 (-) = Hasil negatif (tidak terdeteksi senyawa metabolit sekunder)

PEMBAHASAN

Histologi Hati

Hasil pengamatan yang dilakukan pada sayatan histologi hati mencit setelah diberikan perlakuan berupa karbon tetraklorida dosis 0,007 mL/20g BB menunjukkan adanya kerusakan berupa degenerasi melemap, degenerasi hidropik, nekrosis, infiltrasi sel radang serta kongesti (Gambar 1.). Degenerasi melemap (steatosis) merupakan akumulasi abnormal lemak di dalam sitoplasma sel yang disebabkan oleh gangguan metabolisme lemak. Terbentuknya degenerasi melemap disebabkan karena radikal bebas triklorometil (CCl₃) bereaksi dengan oksigen membentuk radikal triklorometil peroksil yang mengakibatkan terjadinya peroksidasi lipid (Islam et al., 2020). Peroksidasi lipid ini menimbulkan kerusakan pada membran plasma yang dapat menyebabkan pengaktifan sejumlah enzim seperti *ATPase*. Aktivasi enzim ini menyebabkan penurunan sintesis ATP dan

berakibat pada penurunan produksi lipoprotein sehingga transport lipid terganggu dan lipid akan terakumulasi dalam hepatosit (Sulistianto et al., 2004). Menurut Istikhomah & Lisdiana (2016), penurunan sintesis ATP juga mengakibatkan terjadinya penurunan aktivitas pompa natrium sehingga air yang terdapat di luar sel tertarik masuk ke dalam dan sel menjadi membengkak. Pembengkakan sel ini mengakibatkan terjadinya degenerasi hidropik.

Sel hepatosit yang mengalami degenerasi dapat kembali normal apabila agen pemicu kerusakan dihentikan, namun jika keadaan ini terus berlanjut maka akan mengakibatkan nekrosis. Panjaitan & Masriani (2014) menyatakan bahwa nekrosis dapat terjadi karena radikal bebas triklorometil peroksil menyebabkan terjadinya peroksidasi lipid, sehingga mengganggu homeostasis Ca^{2+} . Hal ini menyebabkan terjadinya hiperkalsemia intraseluler sehingga mengakibatkan terjadinya kematian sel (nekrosis) hepatosit. Kerusakan membran sel yang diakibatkan oleh radikal bebas juga memicu terjadinya respon inflamasi berupa infiltrasi sel radang. Infiltrasi sel radang merupakan suatu keadaan masuknya sel-sel radang ke dalam jaringan sebagai respon akibat adanya penyakit atau agen toksik (Ramadhan et al., 2014). Penelitian ini juga ditemukan adanya kerusakan berupa kongesti yang disebabkan karena reaksi tubuh terhadap proses peradangan atau karena pembuluh darah mengalami dilatasi sehingga vaskularisasi pada lokasi jejas melebar serta berisi darah yang terbungung (Makiyah & Khumaisah, 2018). Penelitian Okolo et al. (2017), menyatakan penginduksian senyawa CCl_4 menyebabkan terjadinya kerusakan seperti proliferasi epitel duktus empedu, dilatasi sinusoid dan kongesti.

Pemberian ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* L.) dosis 100 mg/kg BB (P1) dan 200 mg/kg BB (P2) dapat menyebabkan terjadi penurunan tingkat kerusakan sel hati yang disebabkan oleh karbon tetraklorida. Hal ini ditunjukkan dari hasil pengamatan pada P1 dan P2 secara nyata mengalami penurunan persentase kerusakan sel dibandingkan dengan kontrol

positif (K+) (Tabel 1.). Kerusakan sel berupa degenerasi hidropik pada P2 dalam penelitian ini menunjukkan hasil tidak berbeda nyata dengan kontrol negatif (K-). Hasil ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun sirsak pada dosis 200 mg/kg BB mampu menurunkan persentase kerusakan sel berupa degenerasi hidropik hingga mencapai keadaan normal. Kardena & Winaya (2011) menyatakan bahwa tipe awal dari degenerasi yang terjadi pada sel hati dapat berupa degenerasi hidropik. Degenerasi merupakan tanda awal kerusakan sel yang bersifat sementara serta dapat kembali ke keadaan normal.

Adanya penurunan kerusakan sel ini dapat disebabkan karena senyawa antioksidan yang terkandung dalam ekstrak daun sirsak seperti flavonoid, alkaloid, dan saponin (Tabel 3.). Flavonoid diketahui mampu mendonorkan atom hidrogennya kepada senyawa yang bersifat radikal bebas sehingga menjadikan senyawa tersebut menjadi lebih stabil. Saponin memiliki kemampuan meredam senyawa yang bersifat radikal bebas melalui pembentukan intermediet hidroperoksida yang dapat mencegah kerusakan biomolekuler pada tubuh (Kartikasari et al., 2019). Penelitian dari Yuhernita & Juniarti (2011) juga menyatakan bahwa senyawa antioksidan berupa alkaloid yang terkandung dalam daun sirsak dapat menghentikan reaksi berantai dari radikal bebas.

Histologi Ginjal

Pemberian senyawa karbon tetraklorida dosis 0,007 mL/20g BB dalam penelitian ini menyebabkan terjadinya kerusakan pada struktur ginjal mencit yang dapat dilihat pada Gambar 2. Kerusakan berupa degenerasi melemak disebabkan karena peroksidasi lipid yang menyebabkan lisis pada membran sel dan diikuti oleh kerusakan mitokondria, sehingga sel tidak mampu mengeliminasi air dan trigliserida (Soepraptini et al., 2012). Degenerasi melemak ditandai dengan ditemukannya vakuola yang berisi lemak di dalam sitoplasma serta inti yang terdesak ke tepi. Kerusakan berupa nekrosis juga ditemukan yang disebabkan karena oksidasi lipid, protein, karbohidrat, dan DNA oleh ROS yang

mengakibatkan terjadinya mutasi DNA sehingga berakibat pada kematian sel (Venkatanarayana et al., 2012).

Pada penelitian ini juga menunjukkan adanya kerusakan berupa pembengkakan glomerulus, sehingga ruang Bowman tampak menyempit. Pembengkakan glomerulus dapat disebabkan karena masuknya zat toksik ke dalam glomerulus yang mengakibatkan peningkatan permeabilitas kapiler dan filtrasi pada glomerulus, sehingga terjadi kebocoran protein plasma dan sel darah merah serta berakibat pada pembengkakan glomerulus (Mayori et al., 2013).

Hasil perhitungan data yang diperoleh pada sayatan histologi ginjal setelah pemberian ekstrak daun sirsak dosis 100 mg/kg BB (P1) serta 200 mg/kg BB (P2) menunjukkan adanya penurunan jumlah kerusakan sel berupa degenerasi melemak, nekrosis, infiltrasi sel radang serta pembengkakan glomerulus secara nyata dibandingkan dengan kontrol positif (K+). Penurunan kerusakan sel ini dapat disebabkan karena senyawa antioksidan berupa flavonoid, alkaloid dan saponin yang terdapat pada ekstrak daun sirsak (Tabel 3.). Hasil penelitian ini didukung oleh penelitian Idrus et al. (2014), yang menyatakan bahwa antioksidan berupa alkaloid, flavonoid, saponin, fenolik, steroid dan terpenoid pada ekstrak daun bawang mekah mampu menurunkan derajat kerusakan paru-paru yang terpapar radikal bebas akibat asap rokok.

Kandungan Fitokimia Ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata* L.)

Hasil pengujian ekstrak daun sirsak dalam penelitian ini menunjukkan hasil positif mengandung senyawa flavonoid, alkaloid dan saponin (Tabel 3.). Hasil ini juga didukung oleh penelitian Rumiyanti et al. (2019) yang menyatakan bahwa ekstrak daun sirsak mengandung senyawa aktif berupa flavonoid, alkaloid, tannin, dan saponin yang berpotensi dalam menangkal radikal bebas. Penelitian Minari & Okeke (2014) menyatakan bahwa senyawa flavonoid pada ekstrak daun sirsak ditemukan lebih tinggi dibandingkan dengan

senyawa alkaloid. Pengujian senyawa flavonoid menunjukkan hasil positif yang ditandai dengan ditemukannya perubahan warna menjadi kemerahan. Hal ini dikarenakan penambahan logam Mg dan HCl untuk mereduksi inti benzopiron yang terdapat dalam senyawa flavonoid, sehingga terbentuk warna kemerahan pada senyawa tersebut.

Pengujian senyawa alkaloid menunjukkan hasil positif yang ditandai dengan terbentuknya endapan putih keruh. Pengendapan dapat terjadi karena adanya peran atom nitrogen yang memiliki pasangan elektron bebas pada alkaloid dapat mengganti ion iodo dalam pereaksi tersebut sehingga membentuk ikatan kovalen koordinasi dengan ion logam (Agustina et al., 2017). Pengujian senyawa saponin juga menunjukkan hasil positif yang ditandai dengan terbentuknya busa. Akan tetapi, pada pengujian senyawa terpenoid tidak menunjukkan hasil positif dalam penelitian ini. Hal ini dikarenakan pengaruh dari faktor lingkungan tempat pengambilan sampel. Menurut Setyorini & Yusnawan (2016), produksi metabolit sekunder dipicu oleh beberapa faktor seperti cekaman pada tanaman, ketinggian tempat tumbuh, suhu, pH, serta intensitas cahaya. Sejalan dengan penelitian Ayun et al. (2020), bahwa senyawa terpenoid tidak ditemukan pada pengujian senyawa fitokimia dari ekstrak daun sirsak.

SIMPULAN

Ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* L.) dosis 100 mg/kg BB dan 200 mg/kg BB dapat memperbaiki kerusakan hati dan ginjal mencit (*Mus musculus* L.) setelah diinduksi karbon tetraklorida (CCl₄), dengan golongan senyawa kimia yang terkandung dalam ekstrak daun sirsak yaitu flavonoid, alkaloid dan saponin.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Kepala Laboratorium Struktur dan Perkembangan Hewan Universitas Udayana, dan Kepala Laboratorium Biokimia Universitas Udayana

yang telah memberikan izin dalam penggunaan fasilitas laboratorium selama penelitian, serta kepada orang tua dan teman-teman yang membantu penulis selama proses penelitian berlangsung.

KEPUSTAKAAN

- Agata A, Widiastuti EL, Susanto GN, Sutyarso. 2016. Respon Histopatologis Hepar Mencit (*Mus musculus*) yang Diinduksi Benzo(α)Piren terhadap Pemberian Taurin dan Ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata*). *Jurnal Natur Indonesia* **16(2)**: 54-63.
- Agustina W, Nurhamida, Handayani D. 2017. Skrining Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Beberapa Fraksi dari Kulit Batang Jarak (*Ricinus communis* L.). *Jurnal Pendidikan dan Ilmu Kimia* **1(2)**: 117-122.
- Arief H, Widodo MA. 2018. Peranan Stres Oksidatif dalam Penyembuhan Luka. *Jurnal Ilmiah Kedokteran Wijaya Kusuma* **5(2)**: 22-29.
- Ayun NQ, Kusmardi, Nurhuda, Elya B. 2020. Anti-inflammation of Soursop Leaves (*Annona muricata* L.) Against Hemorrhoids in Mice Induced by Croton Oil. *Pharmacognosy Journal* **12(4)**: 784-792.
- El-Kaream SAA. 2019. Biochemical and Biophysical Study of Chemopreventive and Chemotherapeutic Anti-Tumor Potential of Some Egyptian Plant Extracts. *Biochemistry and Biophysic Reports* **18(1)**: 1-19.
- Hamed HA, Ali SA, El-Rigal NS. 2012. Therapeutic Potential of Ginger against Renal Injury Induced by Carbon Tetrachloride in Rats. *The Scientific Word Journal* **10(1)**: 1-12.
- Hendra P, Krisnadi G, Perwita NLPD, Kumalasari I, Quraisyin YA. 2014. Efek Hepatoprotektif dan Nefroprotektif Biji Alpukat Pada Tikus Terinduksi Karbon Tetraklorida. *Traditional Medicine Journal* **19(3)**: 133-137.
- Idrus HRA, Iswahyudi, Wahdaningsih S. 2014. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Bawang Mekah (*Eleutherine Americana* Merr.) terhadap Gambaran Histopatologi Paru Tikus (*Rattus norvegicus*) Wistar Jantan Pasca Paparan Asap Rokok. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia* **1(2)**: 51-60.
- Islam MA, Mamun MAA, Faruk M, Islam MTU, Rahman MM, Alam MN, Rahman AT, Reza HM, Alam HA. 2020. Astaxanthin Ameliorates Hepatic Damage and Oxidative Stress in Carbon Tetrachloride-administered Rats. *Pharmacognosy Research* **9(1)**: 84-91.
- Istikhomah, Lisdiana. 2016. Efek Hepatoprotektor Ekstrak Buah Pedada (*Sonneratia caseolaris*) pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*). *Life Science* **5(1)**: 52-58.
- Kardena IM, Winaya IBO. 2011. Kadar Perasan Kunyit yang Efektif Memperbaiki Kerusakan Hati Mencit yang Dipicu Karbon Tetraklorida. *Jurnal Veteriner* **12(1)**: 34-39.
- Kartikasari DM, Indahyani DE, Praharani D. 2019. Jumlah Trombosit Pada Mencit Diabetes Setelah Pemberian Ekstrak Rumput Laut Merah (*Rhodophyceae*). *e-Journal Pustaka Kesehatan* **7(3)**: 171-176.
- Kurniasih N, Kusmiyati M, Nurhasanah, SARI RP, Wafdan R. 2015. Potensi Daun Sirsak (*Annona muricata* Linn.), Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Tenn) Steenis), dan Daun Benalu Mangga (*Dendrophthoe pentandra*) Sebagai Antioksidan Pencegah Kanker. *Jurnal Pendidikan Islam* **9(1)**: 162-184.
- Makiyah A, Khumaisah LL. 2018. Studi Gambaran Histopatologi Hepar Tikus Putih Strain Wistar yang Diinduksi Aspirin Pascapemberian Ekstrak Etanol Umbi Iles-iles (*Amorphophallus variabilis* Bl.) Selama 7 Hari. *Majalah Kedokteran Bandung* **50(2)**: 93-101.
- Marks DB, Mark AD, Smith CM. 2013. *Biokimia Kedokteran Dasar: Sebuah Pendekatan Klinis*. EGC: Jakarta.
- Mayori R, Marusin N, Tjong DH. 2013. Pengaruh Pemberian Rhodamin B Terhadap Struktur Histologis Ginjal Mencit Putih (*Mus musculus* L.). *Jurnal Biologi Universitas Andalas* **2(1)**: 43-49.
- Minari JB, Okeke U. 2014. Chemopreventive Effect of *Annona muricata* on DMBA-induced Cell Proliferation in the Breast Tissue of Female Albino Mice. *The Egyptian Journal of Medical Human Genetic* **15(4)**: 1-8.
- Okolo KO, Siminialayi IM, Orisakwe OE. 2017. Carbon Tetrachloride Induced Hepatorenal Toxicity in Rats: Possible Protective Effects

- of Wild *Pleurotus tuber-regium*. *Clinical Phytoscience* **3(2)**: 1-7.
- Panjaitan RGP, Masriani. 2014. Gangguan Fungsi Hati Induk Bunting Akibat Pemberian Karbon Tetraklorida. *Jurnal Kedokteran Hewan* **8(2)**: 98-100.
- Parapaga VFS., Durry MF, Lintong PM. 2018. Efek Pemberian Ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata*) terhadap Gambaran Histopatologi Hati Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) yang Diinduksi Rifampisin. *Jurnal e-Biomedik* **6(2)**: 195-199.
- Rafsanjani RG, Hidayat N, Dewi RK. 2018. Diagnosis Penyakit Hati Menggunakan Metode *Naive Bayes* dan *Certainty Factor*. *Jurnal Pengembangan Teknologi Informasi dan Ilmu Komputer* **2(11)**: 4478-4482.
- Ramadhan L, Azizah N, Atika ATT, Audini IS, Saraswati PN. 2014. *Patologi Sistemik Veteriner*. Universitas Airlangga: Surabaya.
- Rumiyantri L, Rasitiani A, Suka EG. 2019. Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata*) dan Pengaruhnya Terhadap Laju Korosi Baja Karbon ST 37. *Jurnal Teori dan Aplikasi Fisika* **7(1)**: 1-6.
- Santoso J, Anwariah S, Rumiantin RO, Putri AP, Ukthy N, Yoshie-Stark Y. 2012. Phenol Content: Antioxidant Activity and Fibers Profile of Four Tropical Seagrasses from Indonesia. *Journal of Medicinal Plants* **10(37)**: 73-79.
- Sediarso E, Saputra, Efendi K. 2018. Ekstrak Biji Petai (*Parkia speciosa*) Sebagai Hepatoprotektor Berdasarkan Kadar Sgpt, Sgot dan Histologi Hati Tikus Putih Jantan yang Diinduksi CCl₄. *Jurnal Ilmiah Kesehatan* **10(2)**: 181-189.
- Setyorini SD, Yusnawan E. 2016. Peningkatan Kandungan Metabolit Sekunder Tanaman Aneka Kacang Sebagai Respon Cekaman Biotik. *Iptek Tanaman Pangan* **11(2)**: 167-174.
- Soepraptini J, Ridho SF, Koesnoto SP. 2012. Gambaran Histopatologi Ginjal Tikus Jantan Pada Kasus Patah Tulang Femur dengan Terapi Ekstrak Tanaman *Cissus quadrangularis* dan Kalsium Karbonat. *VetMedika J Klin Vet* **1(1)**: 5-8.
- Suharyadi A, Sukohar A, Muhartono. 2014. Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Sirsak terhadap Gambaran Histopatologi Ginjal Tikus yang Diinduksi DMBA. *Medical Journal of Lampung University* **3(4)**: 27-34.
- Sudirga SK. 2015. Pemanfaatan Ekstrak Daun Awar-awar (*Ficus septica* Burm.f.) Sebagai Fungisida Nabati Untuk Mengendalikan Jamur *Colletotrichum* spp. Penyebab Penyakit Antraknosa Pada Tanaman Cabai Besar (*Capsicum annum* L.). Program Pascasarjana, Universitas Udayana. Denpasar. (*Disertasi*). Tidak Dipublikasikan.
- Sulistianto DE, Harini M, Handajani NS. 2004. Pengaruh Pemberian Ekstrak Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa* (Scheff) (Boerl)) Terhadap Struktur Histologi Hepar Tikus Putih (*Rattus norvegicus* L.) setelah Perlakuan dengan Karbon Tetraklorida Secara Oral. *BioSMART* **6(2)**: 91-98.
- Sumbayak EM, Vebriyani N. 2019. Pengaruh Pemberian Infusa Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia*) terhadap Gambaran Mikroskopik Ginjal Mencit yang Diinduksi CCl₄. *Jurnal Kedokteran Meditek* **25(1)**: 1-10.
- Timbrell JA. 2008. *Principles of Biochemical Toxicology, 4th Ed*. Informa Healthcare: New York.
- Tsukamoto A, Serizawa K, Sato R, Yamazaki J, Inomata T. 2015. Vital Sign Monitoring During Injectable and Inhalant Anesthesia in Mice. *Experimental Animal* **64(1)**: 57-64.
- Venkatanarayana G, Sudhakara G, Sivajyothi P, Indira P. 2012. Protective Effects of Curcumin and Vitamin E on Carbon Tetrachloride-Induced Nephrotoxicity in Rats. *Experimental and Clinical Sciences Journal* **11(1)**: 641-650.
- Yuhernita, Juniarti. 2011. Analisis Senyawa Metabolit Sekunder dari Ekstrak Metanol Daun Surian yang Berpotensi sebagai Antioksidan. *Makara Sains* **15(1)**: 48-52.