

## **Histopatologi Usus Halus Mencit Pasca Pemberian Ekstrak Etanol Daun Ashitaba**

*(HISTOPATHOLOGICAL CHANGES ON SMALL INTESTINE OF MICE AGAINST WITH  
OF THE ETHANOL EXTRACT OF ASHITABA LEAVES)*

**I Made Putra Wiadnyana<sup>1</sup>, Ketut Budiasa<sup>2</sup>, I Ketut Berata<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Mahasiswa Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana

<sup>2</sup>Laboratorium Farmakologi Veteriner Universitas Udayana

<sup>3</sup>Laboratorium Patologi Veteriner Universitas Udayana

Jl. PB. Sudirman Denpasar-Bali

Email: *putrawiadnyana29@gmail.com*

### **ABSTRAK**

Penelitian bertujuan untuk mengetahui efek pemberian ekstrak etanol daun ashitaba (*Angelica keiskei*) terhadap gambaran histopatologi usus halus mencit (*Mus musculus*). Penelitian ini menggunakan 15 ekor mencit (*Mus musculus*) dengan berat badan rata-rata 25-30 gram dan dibagi menjadi lima kelompok perlakuan. Kelompok A digunakan sebagai kontrol (placebo); kelompok B, C, D, dan E diberikan ekstrak etanol daun ashitaba masing-masing dengan dosis 125; 250; 500; 1.000 mg/kg bb secara oral selama 21 hari. Pada hari ke 22 semua mencit dinekropsi untuk mengambil usus halus dan dibuat sediaan histopatologinya. Hasil pemeriksaan histopatologi bahwa dengan dosis 125 mg/kg bb, satu ekor mencit mengalami degenerasi melemak, sedangkan dosis 250 mg/kg bb, satu ekor mencit mengalami degenerasi melemak dan peradangan. Pada pemberian dosis 500 mg/kg bb, tiga ekor mencit mengalami degenerasi melemak dan peradangan. Pemberian dosis 1000 mg/kg bb, tiga ekor mencit mengalami degenerasi melemak dan peradangan. Lesi nekrosis tidak ditemukan pada semua kelompok perlakuan. Dapat disimpulkan pemberian ekstrak etanol daun ashitaba secara oral dengan rentang dosis 125 mg/kg bb - 1000 mg/kg bb selama 21 hari tidak menimbulkan perubahan histopatologi usus halus mencit (*Mus musculus*).

Kata kunci: ashitaba (*Angelica keiskei*), usus halus, mencit (*Mus musculus*)

### **ABSTRACT**

The purpose of this research was to know the effects of the ethanol leaf extract ashitaba (*Angelica keiskei*) against the histopathological changes in the small intestine of mice (*Mus musculus*). This research used 15 mice (*Mus musculus*) with in average 25-30 gram and is divided into five group of treatment. Group A, were used as a control (placebo): groups B, C, D, and E were given ashitaba leaf ethanol extract byorally in dose 125 mg/kg bw, 250 mg / kg bw, 500 mg / kg bw, and 1,000 mg/kg bw as long as 21 days respectively. On the 22<sup>nd</sup> days, all of the mice was necropsied and the small intestine tissues was took for the histopathological prepare processing. The results of histopathological examination of the small intestine of mice were fatty degeneration at one mouse in dose 125 mg/kg bw. On the mice by dose of 250 mg/kg bw of treatment, were showed fatty degeneration and inflammatory lesions. On the mice by dose 500 mg/kg bw, were obtained that three of mice were affected fatty degeneration and inflammatory lesions. On the mice by dose 1,000 mg/kg bw were obtained that three of mice suffer inflammatory lesions. All of the treatment of this research were not appeared necrose lesion. Conclusion of this research is the treatment of the ethanol extract of ashitaba leaves by orally at a dose range from 125 mg/kg bw until dose 1,000 mg /kg bw as long as 21 days did not raise the significance histopathological change in the small intestines of mice (*Mus musculus*).

Keywords: ashitaba (*Angelica keiskei*), small intestine, mice (*Mus musculus*).

## PENDAHULUAN

Tanaman ashitaba (*Angelica keiskei*) adalah tanaman perdu dari pulau Hachi Jo di Jepang. Tanaman ini telah dimanfaatkan oleh bangsa Tiongkok sejak 2000 tahun yang lalu sebagai obat herbal tradisional (*traditional Chinese medicine*) untuk meningkatkan energi tubuh dengan menyuplai nutrisi penting dalam darah dan memperbaiki sirkulasi darah (Nagata *et al.*, 2007). Tanaman ashitaba mengandung vitamin A, B, B2, C, B12, zat besi dan potassium. Tanaman ashitaba adalah *lactogate* dan sebagai *detoksifier* yang dapat mengeluarkan logam berat seperti merkuri, timbal dan sebagainya. Tanaman ashitaba dapat meningkatkan sistem kekebalan tubuh dan meningkatkan metabolisme untuk mengontrol berat badan serta menurunkan kadar gula darah (Zhang *et al.*, 2013; Zhang *et al.*, 2015).

Tanaman ashitaba mempunyai cairan pekat berwarna kuning pada batangnya yang mengandung *Chalcone* (Okuyama *et al.*, 1991). *Chalcone* adalah getah berwarna kuning cerah dan mengandung senyawa flavonoid yaitu *xantorangeol* dan *4-hidroxyricine*. Senyawa inilah yang membedakan ashitaba dengan tanaman sejenisnya (Baba *et al.*, 2009). Senyawa ini memiliki struktur molekul yang aktif dan merupakan antioksidan yang sangat potensial melebihi teh hijau dan kedelai. Senyawa *Chalcone* ini mampu memulihkan fungsi tubuh dan mencegah kanker, sebagai bahan diuretik dan laksatif, memperbaiki proses metabolisme tubuh serta sebagai antibakteri (Inamori *et al.*, 1991).

Secara farmakokinetik, obat yang masuk ke dalam tubuh akan mengalami absorpsi, distribusi, metabolisme, dan ekskresi. Sebagaimana zat lainnya, penggunaan herbal ashitaba mungkin dapat mempengaruhi struktur usus sebagai organ absorpsi. Kerusakan usus karena zat toksik dapat diidentifikasi

berdasarkan perubahan struktur histologi (Song *et al.*, 2004).

## METODE PENELITIAN

### Materi penelitian

Daun ashitaba diblender hingga berbentuk serbuk direndam dengan etanol 96% selama satu hari, kemudian dilakukan penyaringan dan diuapkan dengan *rotary evaporator* untuk mendapatkan ekstrak ashitaba.

### Hewan Coba

Sebanyak 15 ekor mencit jantan dibagi secara acak menjadi 5 kelompok. Kelompok A digunakan sebagai kontrol (placebo); kelompok B diberikan ekstrak Ashitaba dengan dosis 125 mg/kg bb; kelompok C diberikan 250 mg/kg bb; kelompok D diberikan 500 mg/kg bb; dan kelompok E diberikan 1.000 mg/kg bb. Pemberian ekstrak selama 21 hari secara oral.

### Pembuatan Preparat Histopatologi

Pada hari ke 22 semua mencit dinekropsi, kemudian usus halus diambil untuk selanjutnya dibuat preparat histopatologi. Pembuatan preparat histopatologi dibuat sesuai prosedur Kiernan (2001) dan pewarnaan dengan metode Harris hematoksin eosin (HE).

### Pemeriksaan Preparat Histopatologi

Preparat histopatologi diperiksa di bawah mikroskop masing-masing pada lima lapang pandang mikroskopik. Perubahan yang diamati seperti adanya infiltrasi sel radang, degenerasi melemak, dan nekrosis. Perubahan pada usus yang diamati kemudian diskoring. Skoring untuk infiltrasi sel radang : 0=sel radang tidak ada; 1=sel radang setempat (fokal); 2=sel radang multifokal; 3=sel radang merata (difusa). Skoring untuk degenerasi melemak : 0=degenerasi melemak tidak ada; 1=degenerasi melemak setempat (fokal); 2=degenerasi melemak

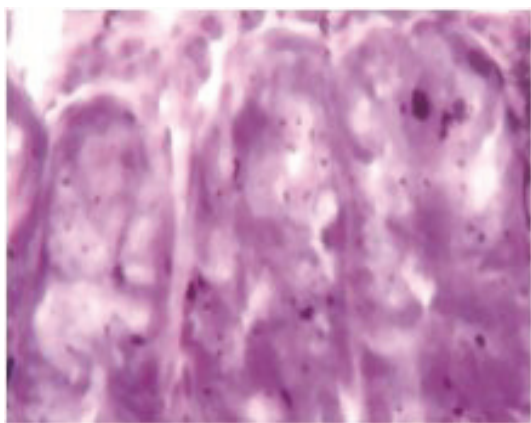
multifokal; 3=degenerasi melemak merata (difusa). Skoring untuk nekrosis: 0=nekrosis tidak ada; 1=nekrosis setempat (fokal); 2=nekrosis multifokal; 3=nekrosis merata (difusa).

### Analisis data

Data hasil pemeriksaan ditabulasi dan dianalisis secara deskriptif dengan statistik non parametrik Kruskal Wallis dan jika berbeda nyata, dilanjutkan dengan uji Mann-Whitney.

### HASIL DAN PEMBAHASAN

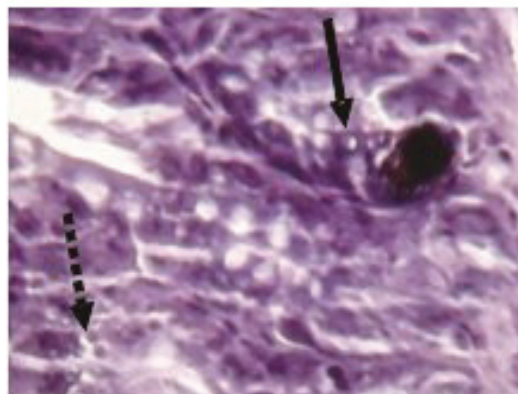
Hasil pemeriksaan histopatologi usus halus mencit yang diberikan ekstrak etanol daun ashitaba, tidak ditemukan adanya infiltrasi sel-sel radang, nekrosis dan degenerasi melemak pada placebo. Pada kelompok B, kelompok C, kelompok D dan kelompok E ditemukan infiltrasi sel-sel radang, degenerasi melemak sedangkan untuk nekrosis tidak ditemukan pada semua perlakuan yang diberikan ekstrak etanol daun ashitaba dosis 125 mg/kg bb sampai 1000 mg/kg bb. Gambaran histopatologi sesuai kelompok perlakuan disajikan pada gambar dibawah ini.



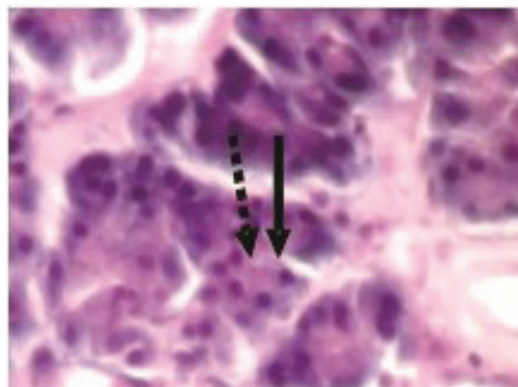
Gambar 1. Histopatologi usus halus mencit tanpa memberikan ekstrak ashitaba (Kontrol) (A) (HE, 400x).



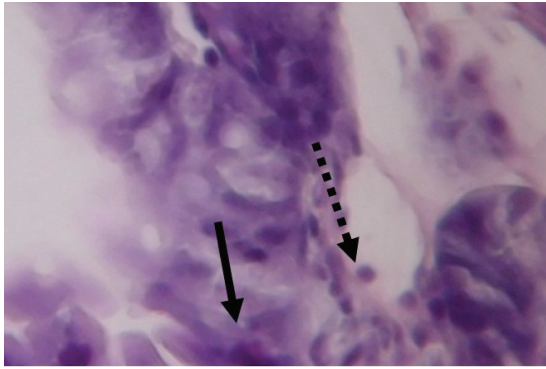
Gambar 2. Histopatologi usus halus mencit pada pemberian ekstrak ashitaba dosis 125 mg/kg bb (HE, 400x).



Gambar 3. Histopatologi usus mencit pada pemberian ekstrak ashitaba dosis 250 mg/kg bb (HE,400x).



Gambar 4. Histopatologi usus mencit pada pemberian ekstrak ashitaba dosis 500 mg/kg bb (0,12 ml) (D) (HE,400x).



Gambar 5. Histopatologi usus mencit pada pemberian ekstrak ashitaba dosis 1.000 mg/kg bb (0,24 ml) (E) (HE, 400x).

Gambar di atas menunjukkan terdapat variasi perubahan yang ditimbulkan akibat pemberian ekstrak

ashitaba. Pada placebo struktur histologi tampak normal, pada perlakuan 125 mg/kg bb tampak degenerasi melemak (tanda panah) tanpa peradangan, perlakuan 250 mg/kg bb tampak degenerasi melemak (tanda panah), peradangan (tanda panah terputus), perlakuan 500 mg/kg bb degenerasi melemak (tanda panah), peradangan (tanda panah terputus), dan perlakuan 1.000 mg/kg bb tampak degenerasi melemak (tanda panah), peradangan (tanda panah terputus).

Data tabulasi hasil pemeriksaan histopatologi usus halus mencit dengan pemberian ashitaba tampak seperti tercantum dalam Tabel berikut:

Tabel 1. Data hasil pemeriksaan histopatologi (dalam scoring)

Perlakuan	Ulangan	Sel radang	Degenerasi melemak	Nekrosis
A (placebo)	1	0	0	0
	2	0	0	0
	3	0	0	0
B Diberikan ekstrak etanol daun Ashitaba (125 mg/kg bb)	1	0	0	0
	2	0	0	0
	3	0	1	0
C Diberikan ekstrak etanol daun Ashitaba (250 mg/kg bb)	1	0	1	0
	2	0	0	0
	3	1	0	0
D Diberikan ekstrak etanol daun Ashitaba (500 mg/kg bb)	1	1	1	0
	2	1	2	0
	3	1	1	0
E Diberikan ekstrak etanol daun Ashitaba (1000 mg/kg bb)	1	1	1	0
	2	1	1	0
	3	1	1	0

Keterangan : 0=tidak ada perubahan 1=lesi lokal 2=lesi multifokal 3=lesi parah

Analisis statistik non parametrik Kruskal-Wallis diperoleh hasil bahwa pemberian ekstrak etanol daun ashitaba tidak berpengaruh terhadap lesi infiltrasi sel radang ( $P=0,368$ ), lesi degenerasi melemak ( $P=0,565$ ) dan lesi nekrosis ( $P=1$ ) ( $P>0,05$ ). Hasil dari uji Kruskal-Wallis menyatakan tidak adanya

pengaruh terhadap pemberian ekstrak etanol daun ashitaba terhadap perubahan histopatologi usus halus mencit.

Secara umum ashitaba berkhasiat sebagai antioksidan, membantu melindungi organ tubuh dari kerusakan oleh radikal bebas dan memperlambat proses penuaan (*antiaging*). Ashitaba

juga berkemampuan *detoksifikasi*, membuang sisa racun dalam tubuh, memperhalus gerakan usus, membersihkan darah, membantu melancarkan peredaran darah, mengatur kadar kolesterol, menurunkan tekanan darah, mencegah osteoporosis, memperkuat sistem kekebalan tubuh, serta menekan sekresi asam lambung (Enoki *et al.*, 2007). Sehingga dari hasil penelitian tidak ditemukan perubahan histopatologi usus yang signifikan seperti misalnya nekrosis.

Secara farmakokinetik banyak bahan yang berpotensi toksik dapat masuk ke dalam tubuh melalui traktus gastrointestinal (usus). Usus halus memiliki epitel khusus yang mempunyai daerah permukaan yang luas. Struktur yang seperti vili pada mukosa dapat mengoptimalkan absorpsi, baik di bawah kendali aktif maupun pasif (Song *et al.*, 2004). Absorpsi zat kimia di usus halus selalu jauh lebih cepat dibandingkan dengan epitel lambung karena permukaan epitel usus halus jauh lebih luas dibandingkan dengan epitel lambung (Fleisher *et al.*, 1999; Carlos *et al.*, 2011). Demikian pula dengan pemberian ekstrak etanol daun Ashitaba secara peroral akan mengalami proses absorpsi di usus.

Kerusakan pada traktus gastrointestinal terjadi bila ada gangguan keseimbangan antara faktor pertahanan yang menjaga keutuhan mukosa dan faktor agresif yang merusak pertahanan mukosa. Kerusakan jaringan bisa terjadi akibat faktor agresif yang meningkat atau faktor defensif yang menurun (Sulekha *et al.*, 2006). Kandungan zat kimia pada tanaman herbal bisa menjadi faktor agresif jika dosisnya tinggi, sehingga menimbulkan efek samping berupa toksisitas. Patogenesis yang sering timbul dari efek toksik tanaman herbal adalah terjadinya iritasi pada mukosa. Pada sel epitel usus halus terdapat sel Goblet atau sel mangkok yang menghasilkan mucus yang berfungsi

untuk melindungi mukosa. Pada penelitian ini dengan pemberian ekstrak etanol daun ashitaba tidak berpengaruh terhadap perubahan histopatologi pada usus halus.

Degenerasi melemak tampak pada gambaran histopatologi usus halus mencit (*Mus musculus*) satu ekor mencit pada pemberian dosis 125 mg/kg bb dan 250 mg/kg bb. Sedangkan tiga ekor mencit pada pemberian dosis 500 mg/kg bb dan 1.000 mg/kg bb. Degenerasi melemak merupakan akumulasi lemak dalam sitoplasma sel. Pada pewarnaan hematoksilin eosin (HE), lemak yang hilang akibat proses dehidrasi dengan alkohol akan terbentuk vacuola-vacuola sehingga sering disebut degenerasi vacuola.

Dilihat dari adanya infiltrasi sel radang, ditemukan pada satu ekor mencit yang diberi dosis pemberian 250 mg/kg bb. Sedangkan dosis 500 mg/kg bb dan 1000 mg/kg bb ditemukan infiltrasi sel radang pada semua sampel usus halus mencit. Beberapa tanda lain terjadinya peradangan pada usus yaitu vili usus menjadi lebih panjang, dinding usus menebal, dan jumlah jaringan limfatik menjadi lebih banyak. Berdasarkan gambaran histopatologi, pada peradangan akut terjadi edema di lamina propia disertai infiltrasi leukosit dalam jumlah yang ringan dan didominasi neutrofil. Selain itu, ruang antar vili dan kripta menjadi lebih lebar. Dalam beberapa kasus, dapat terjadi inflamasi akut dan kronis secara bersamaan disertai kematian jaringan, thrombosis, dan mineralisasi (Pawlik *et al.*, 2011).

Adanya lesi degenerasi melemak dan peradangan yang ringan sampai sedang pada beberapa kelompok perlakuan menunjukkan bahwa kemungkinan karena faktor individu mencit. Perubahan ini juga mungkin akibat pengaruh zat-zat lain dalam pakan yang diberikan. Perubahan degenerasi dan peradangan merupakan perubahan yang bersifat

reversibel. Toksisitas yang nyata dalam jaringan umumnya terjadi jika timbul lesi nekrosis (Fulda *et al.*, 2010). Nekrosis merupakan kematian sel atau jaringan saat individu masih hidup. Secara mikroskopik terjadi perubahan intinya yaitu hilangnya gambaran khromatin, inti menjadi kript, 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) (Fulda *et al.*, 2010).

Hasil pengamatan histopatologi usus halus mencit setelah diberikan ekstrak etanol daun ashitaba memperlihatkan tidak adanya nekrosis pada semua kelompok perlakuan. Oleh karena itu pada pemberian dosis 125 mg/kg bb sampai 1.000 mg/kg bb relatif aman dari toksisitas dalam usus halus mencit.

## SIMPULAN DAN SARAN

### Simpulan

Pemberian ekstrak etanol daun ashitaba (*Angelica keiskei*) secara oral dengan dosis 125 mg/kg bb sampai dosis 1000 mg/kg bb selama 21 hari, tidak menimbulkan perubahan histopatologi yang signifikan dalam usus halus mencit (*Mus musculus*).

### Saran

Untuk mengetahui efek dari ekstrak etanol daun ashitaba terhadap perubahan struktur histopatologi usus halus pada mencit, perlu adanya penelitian sejenis dengan durasi penelitian yang lebih lama dan dosis yang lebih tinggi.

## UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Dekan Fakultas Kedokteran hewan dan teman-teman yang telah membantu dalam penyelesaian artikel ilmiah ini.

## DAFTAR PUSTAKA

- Baba K, Taniguchi M, Shibano M, Minami H. 2009. The components and line breeding of *Angelica keiskei* koidzumi, *J Bunseki Kagaku*, 58(12): 999-1009.
- Carlos HP, Zavala JFA, Aguilar GAG. 2011. The role of dietary fiber in the bioaccessibility and bioavailability of fruit and vegetable antioxidants. *J Food Sci*, 76(1): R6-R15.
- Enoki T, Ohnogi H. 2007. Antidiabetic activities of Chalcones isolated from a Japanese herb, *Angelica keiskei*, *J Agric Food Chem*, 55(15): 6013-6017.
- Fleisher D, Lippert CL, Sheth N, Reppas C, Wlodyga J. 1999. Nutrient effects on intestinal drug absorption. *J Controlled Release*, 11: 41-49.
- Fulda S, Gorman AM, Hori O, Samali A. 2010. Cellular stress responses: cell survival and cell death, Review Article. *Int J Cell Biol*, 2010: 1-23.
- Inamori Y, Baba K, Tsujibo H, Taniguchi M, Nakata K, Kozawa M. 1991. Antibacterial activity of two chalcones, xanthoangelol and 4-hydroxyderricin, isolated from the root of *Angelica keiskei* koidzumi, *Chem and Pharm Bul*, 39(6): 1604-1605.
- Nagata J, Morino T, Saito M. 2007. Effects of dietary *Angelica keiskei* on serum and liver lipid profiles, and body fat accumulations in rats, *J Nutr Sci Vitaminol*, 53(2):133-7.
- Okuyama T, Takata M, Takayasa J, Hasegawa T, Tokuda H, Nishino A, Nishini H, Iwasima A. 1991. Anti-tumor-promotion by principles obtained from *Angelica keiskei*. *Planta Med*, 57(3): 242-246.
- Pawlik M, Pajdo R, Kwiecien S, Ptak-Belowska A, Sliwowski Z,

- Mazurkiewicz-Janik M, Konturek SJ, Pawlik WW, Brzozowski T. 2011. Nitric oxide (no)-releasing aspirin exhibits a potent esophagoprotection in experimental model of acute reflux esophagitis. Role of nitric oxide and proinflammatory cytokines. *J Physiol And Pharmacol*, 62(1): 75-86.
- Song NN, Zhang SY, Liu CX. 2004. Overview of factors affecting oral drug absorption. *Asian J Drug Metab and Pharmacokin*, 4(3): 167-176.
- Sulekha S, Madhavi J, Venkateshwari A, Yasmeeen S, Pratibha N. 2006. Superoxide dismutase phenotypes in duodenal ulcers: A genetic marker. *Indian J Human Genetic*, 12(3): 125-128.
- Zhang T, Sawada K, Yamamoto N, Ashida H. 2013. 4-Hydroxyderricin and xanthoangelol from *Ashitaba (Angelica keiskei)* suppress differentiation of preadipocytes to adipocytes via AMPK and MAPK pathways, *Mol Nut Food Res*, 57(10): 1729-1740.
- Zhang T, Yamashita Y, Yasuda M, Yamamoto N, Ashida H. 2015. *Ashitaba (Angelica keiskei)* extract prevents adiposity in high-fat diet-fed C57BL/6 mice. *Food Funct*, 6(1): 134-144.