

Studi Histopatologis Lambung Tikus Putih yang diberi Parasetamol dan Suplementasi Propolis

(HISTOPATHOLOGICAL STUDY ON WHITE RATS' GASTRIC GIVEN PARACETAMOL AND PROPOLIS SUPPLEMENTATION)

Noviriolla Maria¹, I Ketut Berata², I Made Kardena², Samsuri³

¹Praktisi Dokter Hewan di DKI Jakarta

²Laboratorium Patologi Veteriner Universitas Udayana

³Laboratorium Farmakologi dan Farmasi Veteriner Universitas Udayana
Jl. PB. Sudirman Denpasar Bali, Email: noviriolla@gmail.com

ABSTRAK

Propolis merupakan suatu zat yang dihasilkan oleh lebah yang memiliki banyak manfaat diantaranya sebagai antioksidan dan antiulkus. Parasetamol sebagai obat yang relatif aman bagi lambung, tetapi pada beberapa penelitian terakhir menyatakan parasetamol dosis tinggi meningkatkan resiko terjadinya gangguan mukosa lambung seperti terjadinya ulserasi, deskuamasi dan erosi. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui efek pemberian propolis pada gambaran histopatologi lambung tikus putih yang diberi parasetamol dalam dosis tinggi. Penelitian ini menggunakan metode rancangan acak lengkap. Sampel 25 ekor tikus putih jantan, dibagi dalam 5 kelompok perlakuan, yaitu kontrol negatif (P0) atau tanpa perlakuan, kontrol positif (P) diberikan parasetamol 250 mg/kgBB, dan kelompok perlakuan diberikan parasetamol 250 mg/kgBB dengan variasi propolis bertingkat yaitu P1 (0,05 ml/tikus), P2 (0,10 ml/tikus) dan P3 (0,15 ml/tikus). Perlakuan diberikan selama 10 hari, kemudian dinekropsi dan organ lambung diambil. Sampel jaringan lambung dibuat preparat histopatologi dengan metode Kiernan (1990) menggunakan pewarnaan hematoxylin eosin (HE). Variabel yang diperiksa meliputi erosi, deskuamasi dan ulserasi epitel lambung. Hasil menunjukkan perlakuan P terjadi kerusakan pada lambung (deskuamasi), sedangkan seluruh perlakuan P1, P2, dan P3 berpengaruh terhadap perbaikan kerusakan akibat efek samping parasetamol. Perlakuan P3 sebagai hasil paling baik dalam mengurangi efek samping parasetamol. Kesimpulan penelitian ini diketahui bahwa pemberian propolis dapat mengurangi efek samping perubahan histopatologi pada jaringan lambung tikus putih jantan akibat dosis parasetamol yang tinggi.

Kata kunci: parasetamol, propolis, antioksidan, antiulkus, lambung

ABSTRACT

Propolis is a substance produced by bees that has some benefits, such as: antioxidants and antiulkus. Paracetamol is a relatively safe drug for gastric, but in some studies claimed that high doses of paracetamol increase the risk of gastric mucosal disorders, such as: ulceration, desquamation, and erosion. The purpose of this study is to determine the effects of propolis in histopathological gastric rats that were given high doses of paracetamol. This study used a completely randomized design. A sample of 25 male rats were divided into 5 groups i.e.: a negative control without treatment paracetamol (P0), a positive control (P) that was given paracetamol 250 mg/kgbw, and three other groups given treatment with paracetamol 250 mg/kgbw with a variation of propolis, P1 (0.05 ml/rat), P2 (0.10 ml/rat), and P3 (0.15 ml/rat). The treatment was given in 10 days, then necropsy was done and gastric organs were taken. Histologic gastric specimen for histopathological examination was made by using the Kiernan method (1990) and stained with hematoxylin eosin (HE). Variables examined include histopathological lesions of erosion, desquamation, and ulceration of the gastric epithelium. Results indicate that in treatment P severe damage to the gastric (desquamation) has occurred, while the entire treatment P1, P2, and P3 show the repair from the damage caused by the paracetamol. Treatment P3 gives the best results in reducing the effects of the

paracetamol. This study concluded that the provision of propolis may reduce the histopathological side effects on white rat's gastric given high dose of paracetamol.

Keywords: paracetamol, propolis, antioxidants, antiulcus, gastric

PENDAHULUAN

Propolis atau lem lebah adalah suatu zat yang dihasilkan oleh lebah madu, mengandung resin dan lilin lebah, bersifat lengket yang dikumpulkan dari sumber tanaman, terutama dari bunga dan pucuk daun, untuk kemudian dicampur dengan air liur lebah (Marcucci *et al.*, 2001). Propolis merupakan produk alami dari lebah madu yang mempunyai potensi antioksidan yang tinggi (Gheldof *et al.*, 2002). Propolis mempunyai aktivitas antioksidan yang paling kuat dalam melawan oksidan (radikal bebas) dibandingkan dengan hasil produk lebah lainnya (Nakajima *et al.*, 2009). Propolis diketahui mengandung flavonoid yang selama ini dikenal sebagai antioksidan untuk menangkal radikal bebas yang menyebabkan kerusakan sel. Disamping itu, propolis memiliki manfaat sebagai antibakteri, antiinflamasi, antiviral, hepatoprotektor, antitumor, mencegah terjadinya ulkus, dan bersifat vasodilator (melebarkan pembuluh darah) (Viuda *et al.*, 2008; Nakajima *et al.*, 2009).

Lambung adalah salah satu bagian organ pencernaan dan terletak di antara bagian akhir dari esofagus dan awal dari usus halus. Dinding lambung tersusun dari empat lapisan dasar utama yaitu lapisan mukosa, submukosa, muskularis eksterna, dan serosa. Mukus bikarbonat yang melapisi mukosa lambung merupakan pertahanan utama bagi dinding lambung untuk menghindari kerusakan mukosa. Prostaglandin sendiri memegang peranan utama karena mampu mengatur regulasi pengeluaran dari mukus bikarbonat lambung. Jika proses ini terganggu, maka dapat terjadi gastritis pada lambung. Patogenesis gastritis akut yang paling banyak terjadi adalah berupa iritasi mukosa. Lambung mengalami peningkatan pengelupasan sel epitel

permukaan akibat obat-obat yang memiliki efek iritasi. Obat-obat tersebut antara lain; salisilat, digitalis, yodium, kafein, *cinchopen*, fenilbutazon, antibiotika spektrum yang luas, NSAIDs (*Non-Steroidal Anti Inflammatory Drugs*), dan parasetamol dosis tinggi (Atmaja, 2008).

Parasetamol adalah salah satu obat yang sangat dikenal dalam dunia kesehatan dan telah ada sejak tahun 1893. Parasetamol merupakan obat analgetik non narkotik dengan cara kerja menghambat sintesis prostaglandin. Parasetamol digunakan secara luas di berbagai negara baik dalam bentuk sediaan tunggal sebagai analgetikantipiretik maupun kombinasi dengan obat lain dalam sediaan obat flu, melalui resep dokter atau yang dijual bebas. Beberapa peneliti lain menyatakan pada dosis yang tinggi, parasetamol dapat menimbulkan iritasi, erosi, ulkus, dan perdarahan lambung mirip seperti efek gastrointestinal obat-obat NSAIDs (Atmaja, 2008).

Dalam kasus penggunaan parasetamol melebihi dosis yang dianjurkan seringkali terjadi karena adanya anggapan bahwa parasetamol adalah obat yang aman bagi lambung. Masyarakat seringkali mengkonsumsi parasetamol tanpa menghitung dosis dengan benar dan menggunakannya secara berkepanjangan. Bahaya makin nyata saat masyarakat seringkali menggunakan lebih dari satu jenis obat saat sedang mengkonsumsi parasetamol. Obat lain tersebut dapat juga mengandung parasetamol dalam dosis tertentu. Hal ini tentunya akan mengakibatkan akumulasi dosis parasetamol dalam tubuh yang seringkali melewati batas dosis aman parasetamol. Pada manusia pemberian dosis tunggal 10-15 gram (200-250 mg/kg BB) dapat mengakibatkan

hepatotoksitas setelah 48 jam menelan parasetamol.

METODE PENELITIAN

Sampel penelitian

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah 25 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan berumur 2-3 bulan, berat badan 180-200 gram yang dibagi kedalam lima kelompok perlakuan yaitu kontrol negatif atau tanpa perlakuan (P0), kontrol positif (P) diberikan parasetamol 250 mg/kg BB, dan perlakuan diberikan parasetamol 250 mg/kg BB dengan variasi propolis bertingkat yaitu P1 (0,05 ml/tikus), P2 (0,10 ml/tikus), dan P3 (0,15 ml/tikus). Perlakuan diberikan selama 10 hari terhadap 25 sampel tikus. Selanjutnya sampel tikus dilakukan nekropsi dan diambil organ lambungnya untuk pembuatan preparat histopatologi jaringan lambung.

Pembuatan preparat histopatologi

Pembuatan preparat dimulai dengan memotong sampel organ lambung yang akan diperiksa dengan ukuran kurang lebih 1x1x1 cm, kemudian direndam dalam larutan *neutral buffer formalin* (NBF) 10%. Sampel organ selanjutnya diperkecil lagi dengan irisan tipis untuk disimpan dalam *tissue cassette* dan dilakukan fiksasi dalam larutan NBF. Setelah fiksasi, dilakukan proses dehidrasi dan *clearing* dengan satu sesi larutan yang terdiri dari: alkohol 70 %, alkohol 80 %, alkohol 90 %, alkohol 96 %, alkohol absolut, *toluene*, dan *parafin*, secara bertahap dalam waktu satu hari. Sampel organ *diblocking* dengan *embedding set* yang dituangi parafin cair kemudian didinginkan. Blok parafin yang sudah dingin dipotong menggunakan *microtome* dengan ketebalan $\pm 4 - 5$ mikron. Proses yang terakhir adalah pewarnaan dengan metode Harris Hematoxylin – Eosin dan *mounting* media. Preparat histopatologi diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 400x dan dicatat perubahan mikroskopik yang ditemukan masing-

masing pada 5 lapang pandang (Kiernan, 1990).

Hasil pemeriksaan selanjutnya diberi skor yaitu 0 (tidak ditemukan lesi), 1 (terdapat erosi mukosa lambung), 2 (terdapat deskuamasi mukosa lambung), dan 3 (terdapat ulserasi mukosa lambung).

Analisis data

Data hasil pengamatan histopatologi lambung kemudian dikumpulkan dan dianalisis dengan uji Kruskal-Wallis dan dilanjutkan dengan uji Mann-Whitney jika ditemukan hasil yang berbeda nyata.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengamatan histopatologi

Hasil pengamatan histopatologi pada kelompok P0 (kontrol negatif) menunjukkan tidak teramati adanya perubahan histopatologi. Tidak adanya perubahan pada kelompok P0 ditunjukkan dengan keadaan epitel mukosa lambung (tersusun atas kumpulan sel epitel kolumnar simplek) yang masih utuh (Gambar 1). Kelompok P (kontrol positif) merupakan kelompok perlakuan yang mengalami kerusakan histologi paling parah. Pada semua sampel yang teramati ditemukan jaringan lambung mengalami deskuamasi epitel (Gambar 2).

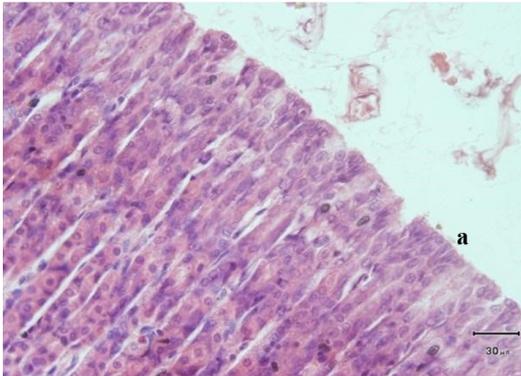
Hasil pengamatan histopatologi usus halus tikus putih pada semua kelompok perlakuan tersaji pada Tabel 1.

Tabel 1. Data hasil pemeriksaan histopatologi lambung berdasarkan kelompok perlakuan

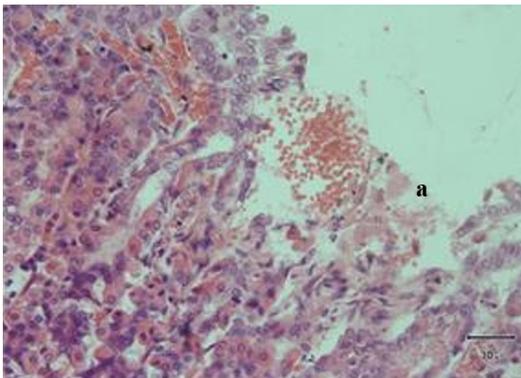
Perlakuan	Kategori Tingkat Patologis (n=25)			
	Normal (0)	Terjadi Erosi (1)	Terjadi Deskuamasi (2)	Terjadi Ulserasi (3)
P0	3	2	-	-
P	-	-	5	-
P1	-	4	1	-
P2	1	3	1	-
P3	-	5	-	-

Kelompok P3 merupakan kelompok yang secara pengamatan histopatologi memiliki gambaran yang paling baik.

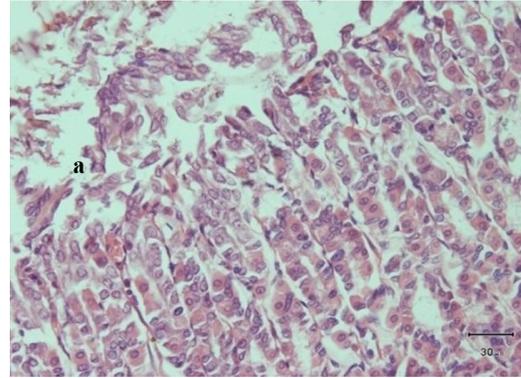
Dilihat dari hasil pengamatan seluruh kelompok P3 dari skoring tingkat patologisnya, semua sampel mengalami erosi atau diberi skor 1. Pada Gambar 5 dapat diamati, bahwa jaringan menunjukkan gambaran yang mendekati jaringan mukosa lambung normal. Berdasarkan pengamatan histopatologi kelompok P3 yang diberikan parasetamol 250 mg/kgBB dan propolis dosis 0,15 ml menunjukkan minimnya teramati adanya perubahan histopatologi berupa erosi. Hal yang terjadi adalah kemungkinan jaringan lambung dengan efek histopatologi berupa erosi yang mungkin sebelumnya parah telah mengalami perbaikan pada mukosa lambung tikus putih, meskipun sebagian kecil masih teramati terjadinya erosi.



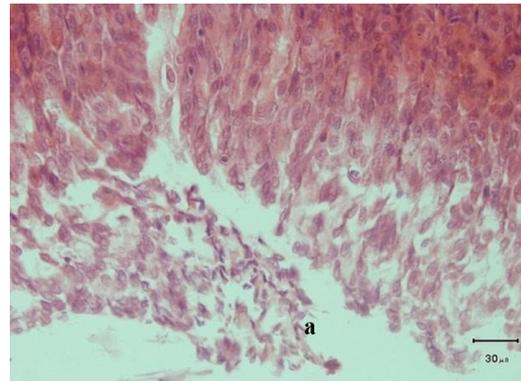
Gambar 1. Histopatologi lambung tikus putih (kontrol negatif) (HE, 400x). Epitel mukosa lambung terlihat utuh (a).



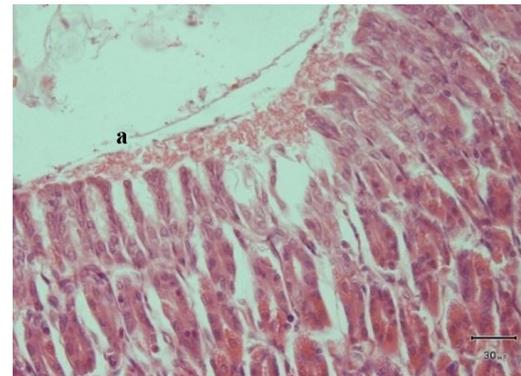
Gambar 2. Histopatologi lambung tikus putih (kontrol positif) (HE, 400x). Ditemukan deskuamasi di dalam sel tersebut (a).



Gambar 3. Histopatologi lambung tikus putih kelompok P1 (parasetamol 250 mg/kg BB dan propolis 0,05 ml/ekor) (HE, 400x). Ditemukan adanya deskuamasi pada epitel mukosa lambung (a).



Gambar 4. Histopatologi lambung tikus putih kelompok P2 (parasetamol 250 mg/kg BB dan propolis 0,10 ml/ekor) (HE, 400x). Masih ditemukan adanya deskuamasi di beberapa bagian (a).



Gambar 5. Histopatologi lambung tikus putih kelompok P3 (parasetamol 250 mg/kg BB dan propolis 0,15 ml/ekor)(HE,400x). Ditemukan terjadinya erosi namun ditunjukkan keadaan epitel

mukosa lambung yang mendekati mukosa lambung normal (a).

Berdasarkan uji Kruskal-Wallis, terlihat bahwa terdapat perbedaan nyata ($P < 0,05$) diantara lima perlakuan diatas. Pada uji Mann-Whitney menunjukkan perbedaan nyata ($P < 0,05$) antara perlakuan kontrol positif (P) dengan P1, P2, dan P3 sedangkan perbandingan antara perlakuan kontrol positif (P) berbeda sangat nyata ($P < 0,01$) dengan perlakuan kontrol negatif (P0) dan P3.

Deskuamasi pada mukosa lambung tikus putih ini terjadi akibat efek samping pemberian parasetamol dalam dosis tinggi. Beberapa peneliti menyatakan pada dosis yang tinggi, parasetamol dapat menimbulkan iritasi, erosi, ulkus, dan perdarahan lambung seperti efek gastrointestinal konsumsi obat-obat NSAIDs. Gastritis akut paling banyak berupa iritasi mukosa yaitu terjadi peningkatan pengelupasan sel epitel mukosa akibat obat-obat yang mempunyai efek iritasi, sehingga mengurangi sekresi mukus yang merupakan barrier protektif terhadap bahan yang bersifat asam, misalnya asam lambung. Parasetamol dosis tinggi dapat menyebabkan iritasi mukosa lambung dengan menghambat biosintesis prostaglandin melalui enzim siklooksigenase. Penurunan sintesa prostaglandin menyebabkan penurunan sekresi mukus dan bikarbonat sehingga berdampak terhadap kerusakan mukosa lambung. Selain itu, prostaglandin adalah vasodilator yang memiliki efek melebarkan dinding pembuluh darah sehingga mampu meningkatkan aliran darah ke jaringan. Dengan penghambatan prostaglandin dapat menurunkan aliran sirkulasi darah, salah satunya ke lambung. Jaringan lambung dapat mengalami iskemia yang dapat menyebabkan mukosanya mengalami erosi (Kumar, 2005).

Propolis memiliki kemampuan untuk mengurangi efek parasetamol tersebut yang didapatkan dari kandungan flavonoid yang tinggi. Selain itu, propolis dapat

memperbaiki kondisi patologi jaringan tubuh yang sakit. Propolis juga mempunyai kapasitas sebagai antiulkus karena kandungan flavonoid yang diketahui dapat meningkatkan kadar prostaglandin pada mukosa. Dengan demikian dapat meningkatkan efek proteksi pada mukosa lambung dan mencegah ulserasi (Duarte *et al.*, 2001).

Pada hasil P1 (0,05 ml/ekor) dan P2 (0,10 ml/ekor) tampak menunjukkan adanya epitel mukosa lambung yang mengalami perubahan histopatologi, walaupun perubahannya tidak separah pada kontrol positif. Tampaknya ada pengaruh terhadap perbaikan dari perubahan histologi jaringan lambung akibat pemberian dosis parasetamol yang tinggi. Namun dosis tersebut ternyata belum mampu memberikan kompensasi maksimal atas efek samping parasetamol. Penelitian menunjukkan bahwa hasil P3 (0,15 ml/ekor) adalah dosis terbaik dibandingkan dengan propolis dosis lain dalam mengurangi efek samping perubahan histopatologi jaringan lambung akibat pemberian parasetamol dosis tinggi. Hal ini ditunjukkan dengan hasil pengamatan kelompok P3, dimana epitel mukosa lambung tikus putih kelompok tersebut memiliki gambaran histologi yang paling baik yaitu tidak teramati deskuamasi epitel mukosa lambung dan secara histologi tampak seperti mendekati jaringan lambung normal atau tampak seperti pada pengamatan sampel kontrol negatif.

SIMPULANDAN SARAN

Simpulan

Pemberian parasetamol dosis tinggi (250 mg/kgBB) menyebabkan erosi dan deskuamasi epitel mukosa lambung. Pemberian propolis 0,15 ml/ekor mengurangi efek samping perubahan histopatologi mukosa lambung tikus putih jantan tersebut dibandingkan dosis 0,05 ml/ekor dan 0,10 ml/ekor.

Saran

Dengan adanya peranan suplementasi propolis terhadap pengurangan efek samping pemberian parasetamol pada tikus putih maka dapat disarankan untuk dilakukan penelitian lanjutan mengenai mekanisme interaksi propolis dengan parasetamol di lambung hewan coba.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih kepada staf Balai Besar Veteriner Denpasar, Laboratorium Patologi Veteriner, Laboratorium Farmakologi dan Farmasi Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana yang telah membantu selama penelitian ini berlangsung.

DAFTAR PUSTAKA

- Adinata MO, IW Sudira, IK Berata. 2012. Efek ekstrak daun ashitaba (*Angelica keiskei*) terhadap gambaran histopatologi ginjal mencit (*Mus musculus*) jantan. *Bul Vet Udayana* 4(2): 55-62.
- Atmaja D. 2008. Pengaruh ekstrak kunyit (*Curcuma domestica*) terhadap gambaran mikroskopik mukosa lambung mencit balb/c yang diberi parasetamol. Semarang. Karya tulis ilmiah Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.
- Duarte J, Galisteo M, Angeles-Ocete M, Pérez-Vizcaino F, Zarzuelo A, Tamargo J. 2001. Effects of chronic quercetin treatment on hepatic oxidative status of spontaneously hypertensive rats. *J Pharmacol* 133(1): 117-124.
- Gheldof N, Wang XH, Engeseth NJ. 2002. Identification and quantification of antioxidant components of honeys from various floral sources. *J Agric Food Chem* 50: 5870-5877.
- Kiernan JA. 1990. *Histology and histochemical Methods: teory and practice*. 2nd Ed. Oxford: Pergamon Press.
- Kumar V, Abbas AK, Fausto N. 2005. *Pathologic basis of disease*. 7th Ed. Elsevier inc. Philadelphia.
- Marcucci MC, Ferreres F, Viguera GC, Bankova VS, De Castro SL, Dantas AP, Valente PHM, Paulino N. 2001. Phenolic compounds from Brazilian propolis with pharmacological activities. *J Ethnopharmacol* 74: 105-120.
- Nakajima Y, Tsuruma K, Shimazawa M, Mishima S, Hara H. 2009. Comparison of bee products based on assays of antioxidant capacities. Nagaragawa Research Center. Department of Biofunctional Evaluation, Molecular Pharmacology, Gifu Pharmaceutical University, 5-6-1 Mitahora-higashi, Gifu 502-8585. Japan. *J BioMed Cent Med* 4(9): 1472-1482.
- Suastika P. 2011. Efek pemberian buah merah (*Pandanus conoideus*) terhadap perubahan histopatologik ginjal dan hati mencit pasca pemberian paracetamol. *Bul Vet Udayana* 3(1): 39-44.
- Viuda MV, Ruiz NY, Fernández LJ, Pérez AJ. 2008. Functional properties of honey, propolis, and royal jelly. *J Food Sci* 73: 117-124.
- Wiralaga IPA, IW Sudira, IM Kardena, AAGO Darmayudha. 2015. Pengaruh pemberian ekstrak etanol daun ashitaba terhadap histopatologi lambung mencit jantan. *Bul Vet Udayana* 7(1): 26-33.