



Effects of Bitter Bean Extract (*Parkia speciosa*) on the Histopathological Liver On Wistar Male White Rat (*Rattus norvegicus*) Which induced by Paracetamol

FAIS ZATUN INDANA AKBAR

Faculty of Medicine, Hang Tuah University, Surabaya
Email : faisdewi@yahoo.co.id

Abstract

Background : Paracetamol is an antipyretic analgesic drug, when used in excessive doses or for prolonged periods can cause toxic effects on the liver and may cause cell death or hepatic cell necrosis. Bitter Bean Extract (*Parkia speciosa*) has a flavonoid compound which is an antioxidant.

Objective : This study was aimed to investigate the effect of bitter bean extract (*Parkia speciosa*) on the histopathology liver on Wistar Male White Rat (*Rattus norvegicus*) with induced paracetamol.

Method: This study was a laboratory experimental study with post-test only control group design using 24 rats divided into 3 groups. Positive control group fed standard feeding diet, aquades and paracetamol 9 mg / day on orally; the treatment group 1 given the Bitter Bean Extract; and group 2 treated with Bitter Bean Extract (*Parkia speciosa*) 7.2 mg / day with paracetamol 9 mg / day after 45 min . The liver were taken by surgery on the 15th day and microscopically examined. The data were analyzed using IBM SPSS version 23 with Kruskal-Wallis method.

Result: Kruskal-Wallis test showed significant result, Mann Whitney test showed that there was a positive influence on treatment 1 and positive control on treatment 2, this can be seen from significance value of $p < \alpha$ (0,05). But there is also a comparison that shows no effect that is on treatment 1 to treatment 2, it is obtained from significance value $p > \alpha$ (0,05).

Conclusion: Bitter Bean Extract has affect in reducing liver cell damage which is marked by the necrosis of the hepatic cells in the animals which was given the paracetamol.

Keyword: Bitter Bean (*Parkia speciosa*), Paracetamol, Histopathology Liver.

Abstrak

Latar Belakang : Parasetamol adalah obat analgesik dan antipiretik, bila digunakan dalam dosis berlebihan atau dalam jangka waktu lama dapat menyebabkan efek toksik pada hepar dan dapat menyebabkan kematian sel atau nekrosis sel hepar. Ekstrak biji petai (*Parkia speciosa*) memiliki senyawa flavonoid yang merupakan antioksidan

Tujuan : Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh ekstrak biji petai (*Parkia speciosa*) terhadap gambaran histopatologi hepar tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur wistar yang diinduksi paracetamol.

Metode : Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris dengan desain post-test only control group menggunakan 24 ekor tikus yang dibagi menjadi 3 kelompok. Kelompok kontrol positif yang diberi diet pakan standart, aquades dan paracetamol 9 mg/ ekor/ hari secara sonde per oral; kelompok perlakuan 1 yang diberi ekstrak biji petai; dan kelompok perlakuan 2 yang diberi ekstrak biji petai (*Parkia speciosa*) 7,2 mg/ ekor/ hari dengan paracetamol 9 mg/ ekor/ hari 45 menit setelahnya. Penelitian dilakukan selama 14 hari, kemudian hepar diambil pada hari ke 15 dan dilakukan pemeriksaan secara mikroskopik. Selanjutnya data dianalisa menggunakan IBM SPSS versi 23 dengan metode Kruskal-Wallis.

Hasil : Uji Kruskal-Wallis menunjukkan hasil yang signifikan, uji Mann Whitney menunjukkan adanya pasangan yang memiliki pengaruh yaitu kontrol positif terhadap perlakuan 1 dan kontrol positif terhadap perlakuan 2, hal ini bisa dilihat dari nilai signifikansi $p < \alpha$ (0,05). Namun juga terdapat perbandingan yang menunjukkan tidak adanya pengaruh yaitu pada perlakuan 1 terhadap perlakuan 2.

Kesimpulan: Pemberian ekstrak biji petai (*Parkia speciosa*) berpengaruh menurunkan skala kerusakan sel hepar pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur wistar yang diinduksi paracetamol.

Kata kunci : Biji petai (*Parkia speciosa*), Paracetamol, Gambaran Histopatologi Hepar.

Pendahuluan

Petai (*Leucaena glauca*, Benth) merupakan salah satu tanaman yang sudah dikenal masyarakat dan bermanfaat untuk kesehatan. Manfaat petai diantaranya adalah sebagai sumber antioksidan, mencegah hipertensi, anemia, sembelit, tukak lambung, penyakit hati, ginjal, dan bahkan bisa menangkal depresi. Selain itu, masyarakat juga menggunakan petai sebagai bahan makanan.

Dalam petai, mengandung zat aktif yang berupa alkaloid, saponin, flavonoid, mimosin, leukanin, protein, lemak, kalsium, fosfor, besi, vitamin A dan vitamin B (Anonim, 1998). Berbagai kandungan yang terdapat dalam tanaman petai yang diperkirakan sebagai antiinflamasi adalah flavonoid. Flavonoid diketahui memiliki sifat antioksidan, sifat antioksidan tersebut yang mungkin berperan sebagai hepatoprotektor dan berkaitan dengan peningkatan kadar glutathion hati (Nayak *et al.*, 2011).

Hepar merupakan organ terbesar pada tubuh yang berfungsi sebagai pembentukan empedu, pembentukan faktor koagulasi dan pusat metabolisme karbohidrat, protein, lemak, hormon dan zat kimia (Guyton and Hall, 2007).

Hepatoprotektor yang saat ini digunakan, harganya tidak terjangkau bagi masyarakat dan mengandung bahan kimia sehingga diperlukan hepatoprotektor yang aman dan terjangkau bagi masyarakat. Salah satu kandungan yang diperlukan sebagai hepatoprotektor adalah antioksidan yang banyak dikandung oleh berbagai macam buah yang mudah didapat oleh masyarakat, murah, dan tidak mengandung bahan kimia yang berbahaya. Salah satu contohnya adalah buah petai.

Penggunaan parasetamol secara berlebihan atau melebihi dosis dapat mengakibatkan kerusakan hati. Menurut Ikawati (2010) bahwa kerusakan hepar oleh parasetamol secara berlebihan disebabkan karena terbentuknya metabolit reaktif toksik (N-asetil-p-benzoquinon) dan radikal bebas melalui proses biotransformasi oleh enzim sitokrom P450 dengan bantuan isoenzim CYP2E1. Metabolit reaktif toksik dan radikal bebas dapat mengganggu integritas membran sel dan berlanjut menjadi kerusakan hepar selanjutnya gagal ginjal. Overdosis parasetamol dapat terjadi pada penggunaan akut maupun berulang. Hepatotoksisitas akan terjadi pada penggunaan 7,5-10 gram dalam waktu 8 jam atau kurang. Kematian bisa terjadi jika parasetamol digunakan sampai 15 gram. Penumpukan radikal bebas merupakan salah satu mekanisme yang berperan terhadap kerusakan hepar. Radikal bebas yang berlebihan akan menimbulkan stress oksidatif yang memicu proses peroksidasi terhadap lipid, sehingga menimbulkan penyakit kanker, inflamasi, aterosklerosis, dan mempercepat proses penuaan (Koch et al., 2007).

Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan adalah *post test only control group design*. Dalam metode penelitian ini digunakan 3 kelompok tikus putih galur Wistar:

1. Kontrol (+): kelompok kontrol positif di beri air dan pakan standart/pallet dan paracetamol dosis 1800 mg/kgBB tikus melalui sonde lambung dari hari ke-1 s/d hari ke-14.
1. P1 : Kelompok perlakuan pertama diberikan air ,pakan standart/pallet dan ekstrak biji petai 400 mg/kgBB tikus menggunakan sonde lambung dari hari ke-1 s/d hari ke-14.
2. P2: Kelompok perlakuan kedua di berikan air, pakan standart/pallet dan

ekstrak biji petai dosis 400 mg/kgBB tikus melalui sonde lambung dari hari ke-1 s/d hari ke-14, setelah 45 menit di tambahkan paracetamol 1800mg/kgBB tikus menggunakan sonde lambung.

Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan Galur Wistar berumur 3 bulan dengan berat badan antara 200 gram dalam kondisi sehat. Pada sampel kriteria inklusi, eksklusi dan drop out sebagai berikut:

- Jenis Wistar
- Umur 3 bulan
- Berat badan 200 gram
- Jenis kelamin jantan
- Sehat gerakan lincah, mata cerah, anatomi tubuh sempurna
- Besar sampel yang diperlukan untuk tiap kelompok adalah 8

Tahap Persiapan :

a. Pembuatan ekstrak biji petai

Dengan menggunakan metode maserasi, dilakukan dengan menggunakan pelarut etanol 95% karena sifatnya yang mampu melarutkan hampir semua zat, baik yang bersifat polar, semi polar, dan non polar (Arifin et al., 2006).

- 2 Kg biji petai (*Parkia speciosa*) segar yang ditimbang sesuai jumlah yang diperlukan kemudian dicuci bersih dan dipotong kecil lalu dimaserasi menggunakan bahan pelarut etanol 95%.
- maserasi dilakukan selama 24 jam, maserat dipisahkan dengan cara disaring dan proses maserasi diulang 2 kali dengan jenis pelarut dan jumlah pelarut yang sama.

Setelah maserasi, hasil diasukkan kedalam cawan porselin lalu diletakkan diatas *waterbath* untuk diuapkan agar didapatkan ekstrak yang lebih kental

b. pembuatan suspense paracetamol

Dalam penelitian ini, dosis paracetamol yang diberikan sebesar 1800 mg/kgBB per hari. Maka dosis untuk tikus adalah

$$1800 \times 0,2 = 360 \text{ mg}$$

Karena sifatnya yang tidak larut dalam air paracetamol 360 mg dalambentuk serbuk kemudian disuspensikan dengan CMC-Na 1% yakni 1 gr CMC-Na dicampur dengan 100 ml aquadest. Setiap perlakuan memerlukan 50ml dosis paracetamol, sehingga CMC-Na yang diperlukan tiap 360 mg paracetamol adalah sebanyak $0,01 \text{ gr/ml} \times 50 \text{ ml} = 0,5 \text{ gr}$

kemudian diaduk hingga terlarut sempurna bersama serbuk paracetamol yang di tambahkan dengan aquadest sampai 50 ml. volume maksimum dosis yang diberikan pada tikus secara per oral adalah 5 ml, sehingga suspensi paracetamol sebanyak 50 ml dibagi dengan banyaknya tikus yang mendapat perlakuan yakni 8 tikus kelompok kontrol (+) dan 8 tikus kelompok perlakuan 1 dan 8 tikus kelompok perlakuan 2.

$$50 \text{ ml} / 20 \text{ tikus} = 2,5 \text{ ml}$$

Total suspensi paracetamol yang diperlukan untuk 14 hari yakni :

$$\text{paracetamol} : 360 \text{ mg} \times 20 \text{ tikus} = 7200 \text{ mg/hari}$$

$$\text{Total paracetamol} : 7200 \text{ mg} \times 14 \text{ hari} = 100.800 \text{ mg}$$

$$\text{Total CMC-Na} : 0,5 \text{ gr} \times 14 \text{ hari} = 7\text{gr}$$

$$\text{Total aquadest} : 50 \text{ ml} \times 14 \text{ hari} = 700 \text{ ml}$$

c. pembuatan larutan ekstrak biji petai

Pada penelitian ini, dosis ekstra biji petai yang diberikan sebesar 400 mg/KgBB, yang dikonversikan ke tikus :

$$400 \times 0,018 = 80\text{mg}$$

Pembuatan larutan ekstrak biji petai kemudian dibantu dengan aquadest dan PGA atau *Pulvis Gummin Arabicum* yang merupakan bahan pelarut ekstrak biji petai untuk mempermudah pemberiannya secara oral pada tikus, PGA digunakan secukupnya karna sifat pelarutnya dengan melarutkannya pada ekstrak biji petai yang kental dengan di tambahkan bersama aquadest secara bertahap sebanyak 2 ml tiap 9 gr ekstrak biji petai. Volume pemberian ekstrak didapatkan dengan mengkalikan rata-rata berat tikus dengan persen pemberian (1% untuk rute intubasi gastric) :

$$(150 - 200 \text{ gr}) \times 0,01 \text{ ml/gr} = 1,5 - 2 \text{ ml}$$

Sehingga diambil dosis paling besar yakni 2 ml

Dalam membuat larutan ekstrak biji petai untuk 14 hari, diperlukan :

$$\text{Ekstrak biji petai} : 80 \text{ mg} \times 16 \text{ tikus} = 1,28 \text{ g/hari}$$

$$\text{Total ekstrak biji petai} : 1,28 \text{ g} \times 14 \text{ hari} = 17,9 \text{ g}$$

$$\text{Aquadest} : 2 \text{ ml} \times 16 \text{ tikus} = 32 \text{ ml/hari}$$

$$\text{Total aquadest} : 32 \text{ ml} \times 14 \text{ hari} = 448 \text{ ml}$$

Pembuatan Preparat Histopatologi Hepar:

Cara pembuatan histopatologi hepar yang pertama adalah mengambil sampel jaringan kemudian di fiksasi dengan menggunakan formalin 10%. Setelah itu melakukan dehidrasi dengan alkohol 70% sampai ke 100% untuk mengeluarkan seluruh cairan yang terdapat dalam jaringan yang telah difiksasi. Kemudian dengan menggunakan xylol dilakukan penjernihan. Setelah itu dimasukkan kedalam paraffin cair. Metode ini disebut dengan *impegnasi* yaitu proses untuk mengeluarkan cairan penjernihan dari jaringan untuk diganti dengan paraffin. Selanjutnya melakukan *embedding/ block paraffin* atau proses pembuatan blok preparat agar mudah dipotong dengan *rotary microtom* dengan ketebalan 8µm. setelah tu melakukan penjernihan

dan rehidrasi dengan menggunakan xylol dan alkohol. Setelah itu melakukan pewarnaan dengan *Hematoxylin –Eosin*. Kemudian melakukan pengamatan histopatologi hepar yang dilihat dibawah mikroskop cahaya dengan pembesaran 100x.

Pengamatan preparat histopatologi :

Pengamatan dilakukan dengan menggunakan mikroskop cahaya pada pembesaran 100 kali (10 lensa obyektif x 10 lensa okuler). Pengamatan dilakukan pada zona 1, zona 2, zona 3 pada sediaan hepar. Kemudian dilakukan perhitungan sel – sel yang mengalami nekrosis pada setiap zona, penilaian berupa scoring berdasarkan tingkat kerusakan sel hepar tikus wistar jantan (*Rattus norvegicus*) untuk setiap preparat preparat gambaran histopatologi organ hepar.

Penilaian Derajat Kerusakan Hepar :

Tabel 1. Penentuan derajat kerusakan sel hepatosit pada *Metavir Scoring System* meliputi *Metavir Histologic Activity Score*.

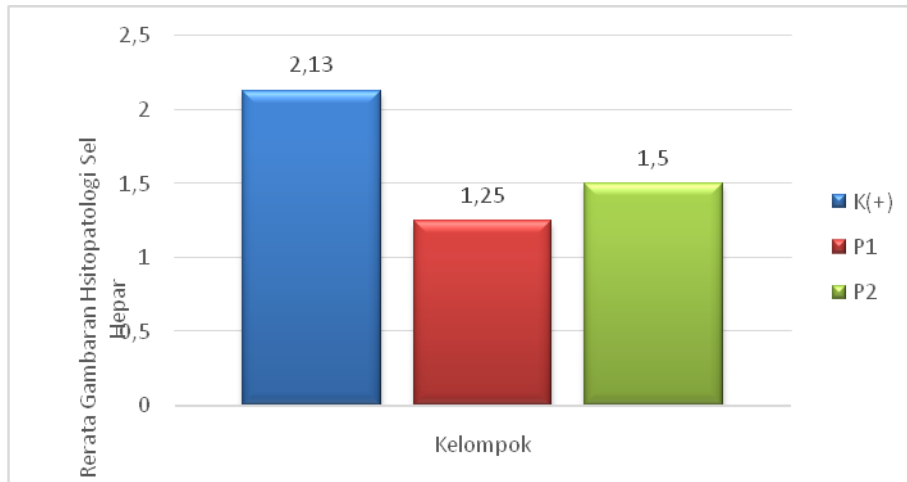
Gambaran Histologi	Score	Kriteria
Piecemeal necrosis	0	Tidak ada
	1	Mild-focal alterasi dari bagian periportal
	2	Moderate-diffuse alterasi bagian periportal sebagian portal tracts
	3	Severe-diffuse alterasi bagian periportal seluruh portal tracts
Lobular necrosis	0	Tidak ada atau ringan, kurang dari satu necroinflammatory focuse per lobule
	1	Sedang, setidaknya satu necroinflammatory per lobule

Tabel 2. Metavir Histologic Activity Score

Activity score (A)	Piecemeal Necrosis (PMN)	Lobular Necrosis (LN)
A = 0	PMN = 0	LN = 0
A = 1	PMN = 0	LN = 1
	PMN = 1	LN = 0,1
A = 2	PMN = 0	LN = 2
	PMN = 1	LN = 2
	PMN = 2	LN = 0,1
A = 3	PMN = 2 or PMN = 3	LN = 2
		LN = 0,1,2

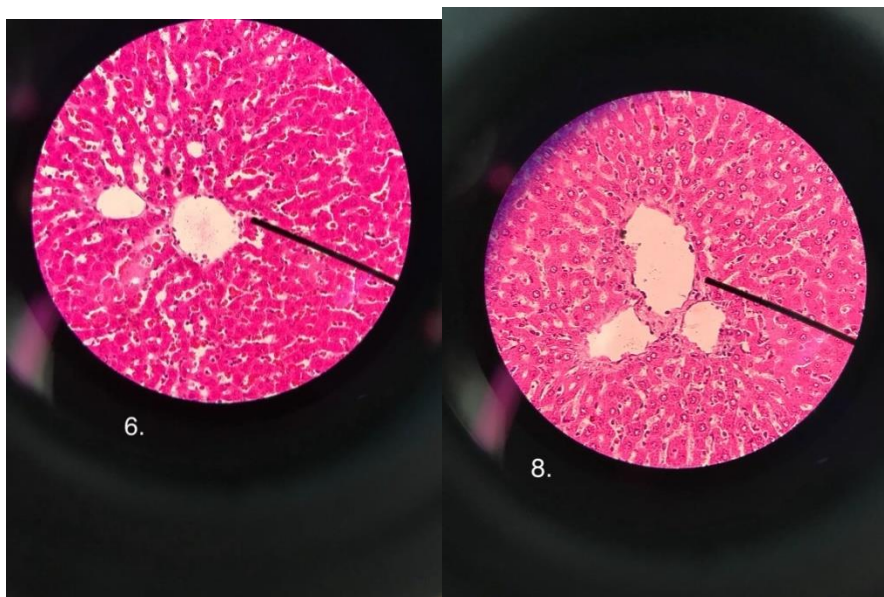
Tabel 3. derajat kerusakan sel hepar

No	Kelompok Tikus		
	K(+)	P1	P2
1	2	2	2
2	2	1	2
3	2	1	1
4	2	1	1
5	2	1	-
6	3	1	-
7	2	2	-
8	2	1	-

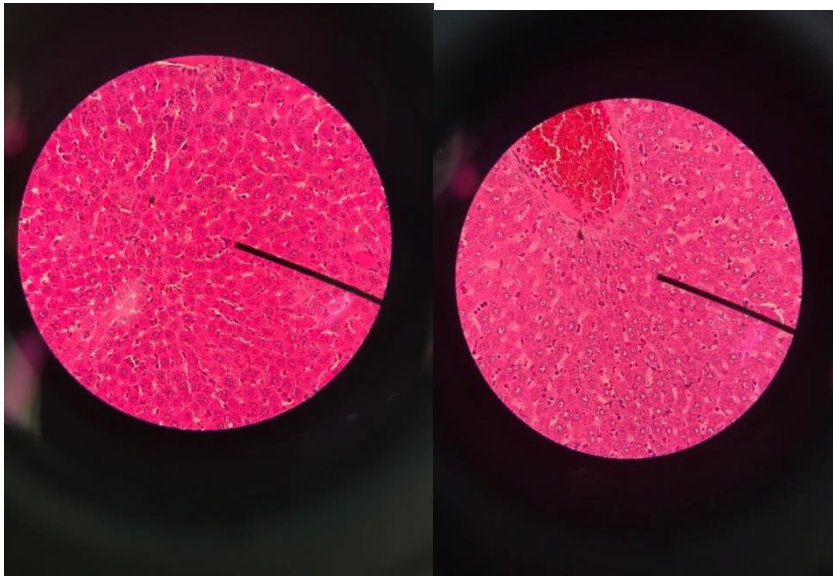


Gambar 1. Diagram rerata derajat kerusakan sel hepar

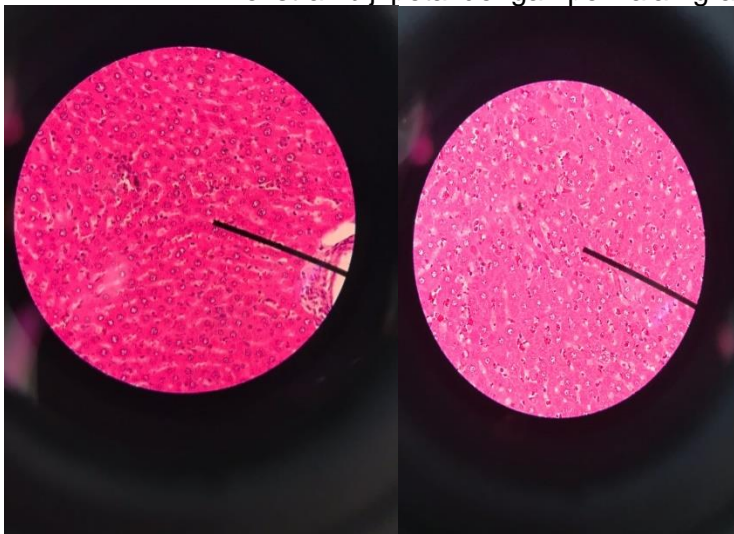
Berdasarkan gambar diatas didapatkan bahwa nilai rerata derajat kerusakan sel hepar tertinggi yaitu pada kelompok kontrol (K+) sebesar 2.13, sedangkan pada kelompok perlakuan (P2) nilai rerata derajat kerusakan sel hepar adalah 1.5, dan rerata derajat kerusakan hati terendah yaitu kelompok perlakuan (P1) dengan rerata 1.25. Sehingga berdasarkan hasil rerata derajat kerusakan sel hepar, menunjukkan ada penurunanderajat pada kelompok perlakuan(P2) yang diberi ekstrak biji petai dan parasetamol dibandingkan dengan kelompok (K+) yang diberi parasetamol tapi tanpa diberi ekstrak biji petai.



Gambar 2. Gambaran histopatologi hepar kelompok hewan coba yang di beri paracetamol dengan penilaian grading 2.



Gambar 3. Gambaran histopatologi hepar kelompok hewan coba yang di beril ekstrak biji petai dengan penilaian grading 1.



Gambar 4. Gambaran histopatologi hepar kelompok hewan coba yang di beri paracetamol danl ekstrak biji petai dengan penilaian grading 1.

Uji Persyaratan Analisis:

Data yang diperoleh dari gambaran histopatologi sel hepar dikumpulkan dan kemudian dilakukan analisis data berupa uji statistik menggunakan SPSS® versi 23.0. Uji statistik yang dilakukan meliputi uji hipotesis.

Uji Hipotesis Kruskal-Wallis:

Pada penelitian ini, variabel terikat memiliki skala data ordinal, sehingga menggunakan uji statistic non-parametrik yaitu dengan uji *Kruskal-Wallis*. Hasil dari uji *Kruskal-Wallis* digunakan untuk mengetahui apakah ada pengaruh pemberian ekstrak biji petai (*Parkia speciosa*) terhadap gambaran histopatologi sel hepar pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur wistar yang diinduksi parasetamol.

Tabel 4. Hasil Uji Hipotesis *Kruskal-Wallis*

Hasil Grading	Kelompok Tikus	<i>Kruskal-Wallis</i>
		Sig. (p)
	K(+)	0,009
	P1	
	P2	

Pada Tabel 4. didapatkan nilai signifikansi $p(0.009) > \alpha (0.05)$ jadi dapat disimpulkan bahwa terdapat pengaruh pemberian ekstrak biji petai (*Parkia speciosa*) terhadap gambaran histopatologi sel hepar pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur wistar yang diinduksi parasetamol.

Uji Post Hoc Menggunakan Mann-Whitney:

Setelah uji *Kruskal-Wallis* dan hasilnya terdapat pengaruh pemberian ekstrak biji petai (*Parkia speciosa*) terhadap gambaran histopatologi sel hepar pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur wistar yang diinduksi parasetamol, maka dilanjutkan uji *Post Hoc* menggunakan *Mann-Whitney* untuk mengetahui kelompok mana saja yang berbeda.

Untuk menarik kesimpulan, digunakan perbandingan nilai signifikansi (p) dengan koefisien $\alpha (0,05)$. H_0 diterima apabila nilai signifikansi 2 tailed (p) $> \alpha (0,05)$ dan H_1 diterima apabila nilai signifikansi 2 tailed (p) $< \alpha (0,05)$.

Tabel 5. Hasil Uji *Post Hoc* Menggunakan *Mann-Whitney*

	K(+)	P1	P2
K(+)			
P1	0,003		
P2	0,044	0,407	

Berdasarkan Tabel 5. dapat dilihat bahwa besar nilai signifikansi (p) uji *Post Hoc* dengan menggunakan *Mann-Whitney* yang didapat dari gambaran histopatologi sel hepar yang ada pada kolom tabel dibandingkan dengan gambaran histopatologi sel hepar yang ada pada baris tabel sehingga dapat diketahui pasangan yang memiliki pengaruh yaitu kontrol positif terhadap perlakuan 1 dan kontrol positif terhadap perlakuan 2, hal ini bisa dilihat dari nilai signifikansi $p < \alpha$ (0,05) (dicetak tebal). Namun juga terdapat perbandingan yang menunjukkan tidak adanya pengaruh yaitu pada perlakuan 1 terhadap perlakuan 2, hal ini didapat dari nilai signifikansi $p > \alpha$ (0,05).

Pembahasan

Berdasarkan data hasil penelitian, rerata derajat kerusakan sel hepar tertinggi yaitu pada kelompok kontrol (K+) sebesar 2.13, sedangkan pada kelompok perlakuan (P2) nilai rerata derajat kerusakan sel hepar adalah 1.5, dan rerata derajat kerusakan hati terendah yaitu kelompok perlakuan (P1) dengan rerata 1.25. Sehingga berdasarkan hasil rerata derajat kerusakan sel hepar, menunjukkan ada penurunan derajat pada kelompok perlakuan (P2) yang diberi ekstrak biji petai dan parasetamol dibandingkan dengan kelompok (K+) yang

diberi parasetamol tapi tanpa diberi ekstrak biji petai.

Kesimpulan Hasil Penelitian :

Berdasarkan hasil analisis data, terdapat perbedaan yang bermakna ($p = 0.003$) antara rerata derajat gambaran kerusakan sel hepar kelompok hewan coba yang diberi parasetamol saja (K+) dengan kelompok hewan coba yang diberi ekstrak biji petai (P1). Terdapat perbedaan yang bermakna ($p = 0,044$) antara rerata derajat gambaran kerusakan sel hepar kelompok hewan coba yang diberi parasetamol saja (K+) dengan kelompok hewan coba yang diberi parasetamol dan ekstrak biji petai (P2). Kesimpulan hasil penelitian adalah ekstrak biji petai dapat menurunkan derajat kerusakan gambaran histopatologi sel hepar secara bermakna yang diberikan sebelum pemberian parasetamol.

Daftar Pustaka

- Anonim.2006. *Buku Cempaka Edisi XVII Bab II Tinjauan Pustaka Tanaman Petai*.Diacu dalam PDF Suhartadig (<http://www.jtptunimus-gdl-suhartadig-5242-2bab2>).Diakses tanggal 12 Maret 2017.
- Arifin, A.S. 2006. Materi Pokok Kimia Organik Bahan Alam. Jakarta: Penerbit Karunia. Halaman 15.
- Darmawan S. 2003. *Hati dan Saluran Empedu*.Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Dorland W. A. N. 2002. Kamus Kedokteran Dorland. Terjemahan Huriawati Hartanto. Edisi pertama. Jakarta: EGC.
- Farina M. 2007. *Gambaran Histopatologi Hepar Tikus Wistar Setelah Pemberian Asetaminofren Berbagai Dosis*.Skripsi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro: Semarang Hal 21.
- Gibson J. 2003. *Fisiologi dan Anatomi Modern*.Jakarta: EGC.
- Guyton, A C., & Hall, J. E. 2012. *Buku ajar fisiologi kedokteran*. Jakarta: EGC.
- Himawan. 2003. *Kumpulan Kuliah Patologi*. Bagian Anatomi Patologi. Depok: FK UI.
- Ikawati Zullies.2010. *Cerdas Mengenali Obat*. Yogyakarta.Kanisius
- Koch, D dan Jeratnam, 2009, *Buku Ajar dan Praktik Kedokteran Kerja*, Jakarta:EGC.
- Nayak V, Gincy TB, Praskash M, Joshi C, Soumya SR, Somayaji SN et al. Hepatoprotective activity of Aloe vera gel against paracetamol induced hepatotoxicity in albino rats. *Asian J Pharm Biol Res*. 2011; 1(2): 94-7

