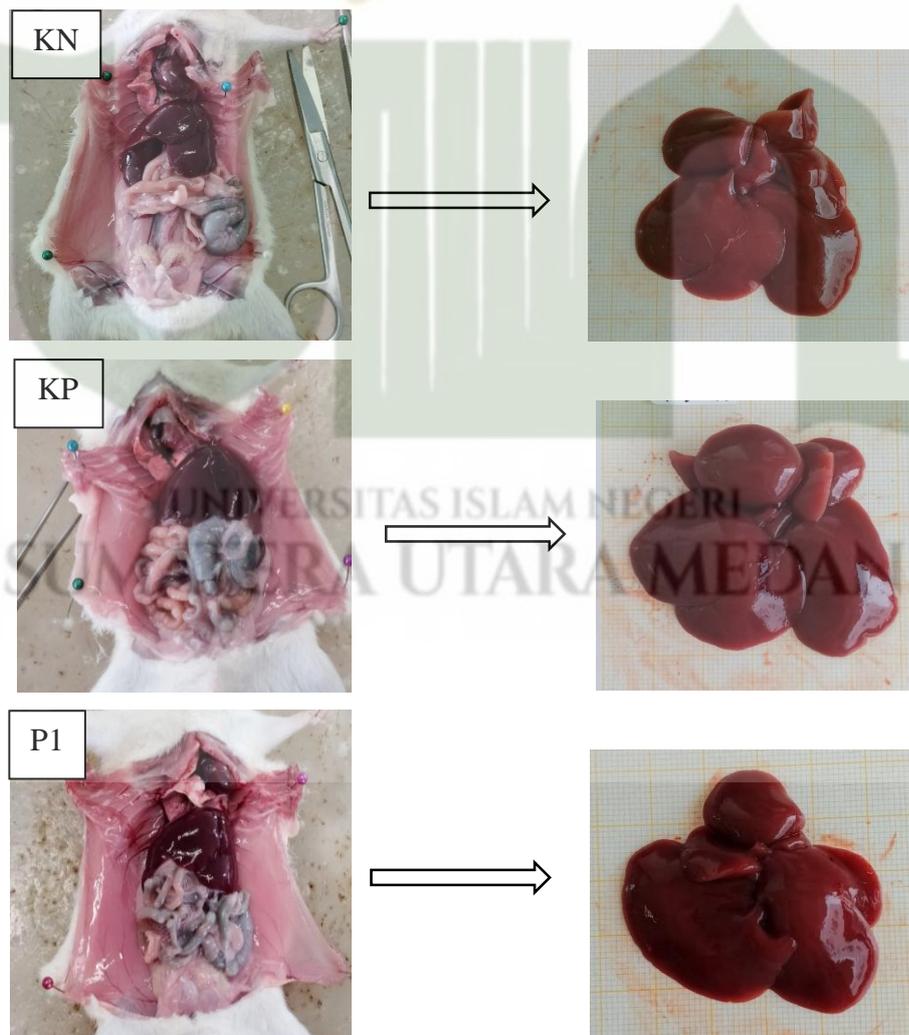


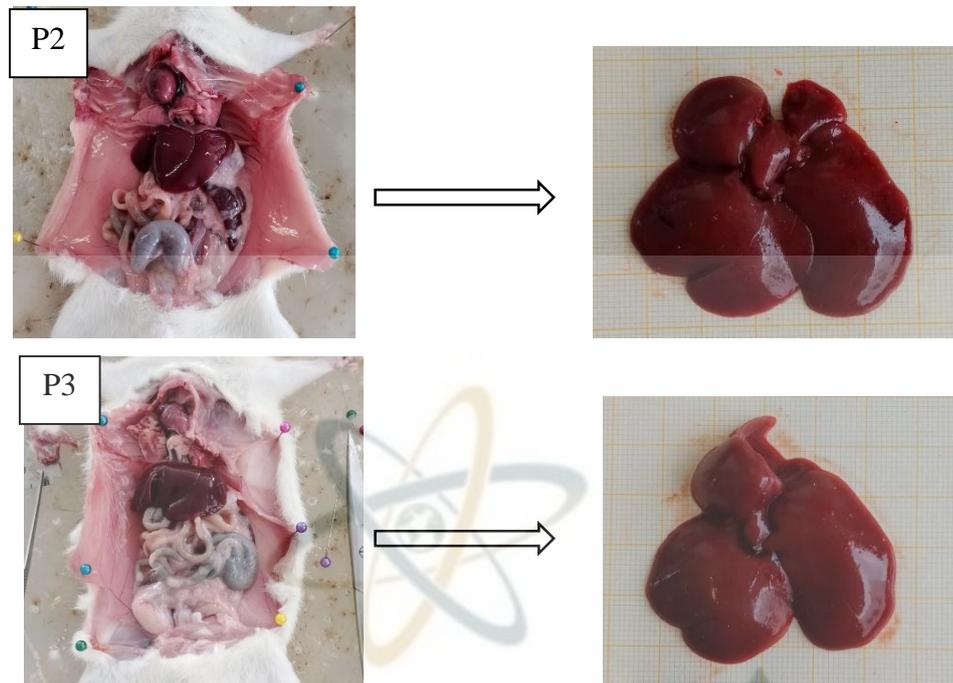
## BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1 Pengaruh Ekstrak Etanol Daun Sambiloto *Andrographis paniculata* (Burm. fil) Ness Terhadap Morfologi dan Histologi Hati Tikus Putih (*Rattus norvegicus* L.) yang Diinduksi Timbal Asetat ( $Pb(C_2H_3O_2)_2$ )

#### 4.1.1 Morfologi Hati Tikus

Gambar 4.1 menampilkan hasil penilaian morfologi mengenai warna dan karakteristik permukaan hati setelah pemberian ekstrak etanol daun sambiloto dan induksi timbal asetat. Morfologi hati tikus putih yang diberikan ekstrak etanol daun sambiloto dan distimulasi dengan timbal asetat tetap tidak berubah baik pada kelompok kontrol maupun kelompok perlakuan.





Gambar 4. 1 Gambar hati tikus putih setelah pemberian ekstrak etanol daun sambiloto dan diinduksi timbal asetat, KN: Kontrol Negatif, KP: Kontrol Positif, P1: dosis ekstrak 250 mg/kg BB, P2: dosis ekstrak 500 mg/kg BB, P3: dosis ekstrak 750 mg/kg BB

Berdasarkan temuan yang digambarkan pada Gambar 4.1, terlihat bahwa hati tikus kelompok kontrol dan kelompok perlakuan menunjukkan morfologi hati yang ditandai dengan rona merah kecoklatan, permukaan halus, dan tekstur elastis. Berdasarkan temuan Angraini (2008) sebagaimana dilaporkan dalam Jurnal Hasan et al. (2014), ciri khas morfologi hati tikus yang sehat antara lain berwarna merah kecoklatan, permukaan halus, dan konsistensi kenyal. Hati yang khas memperlihatkan bagian luar yang rata dan tidak bercacat, menampilkan rona merah kecoklatan. Sebaliknya, hati yang atipikal menunjukkan bentuk yang tidak rata dan mengalami perubahan kromatik, termasuk transformasi pucat (Malini, 2019). Temuan morfologi hati tidak menunjukkan variasi apa pun dari ciri khas hati yang sehat, dengan demikian untuk melihat kerusakan hati selanjutnya dapat dilihat dengan menghitung nilai indeks hepatosomatik dan pengamatan secara mikroskopis atau pengamatan histopatologi pada hati.

Tabel 4. 1 Nilai Indeks Hepatosomatik

	Kelompok negatif	Kelompok positif	Perlakuan 1	Perlakuan 2	Perlakuan 3
Nilai HIS	4,82	4,48	4,58	4,69	4,75

Temuan penelitian menunjukkan bahwa suntikan timbal asetat dan ekstrak etanol daun sambiloto tidak menimbulkan dampak nyata pada hati tikus putih. Menurut Yuneldi (2018), indeks hepatosomatik mencit seringkali berada pada kisaran 4,46-4,86%. Nunes (2011) mengemukakan dalam Jurnal Putri (2021) bahwa indeks hepatosomatik (HSI) berfungsi sebagai bioindikator keberadaan zat berbahaya dalam suatu organisme, mencerminkan alokasi energi di hati sehingga memberikan gambaran tentang kondisi kesehatan hewan secara keseluruhan. Temuan penelitian menunjukkan bahwa nilai indeks hepatosomatik masih berada dalam kisaran normal yang ditetapkan. Akibatnya, paparan timbal asetat tidak menimbulkan konsekuensi toksik dan secara efektif menjaga fungsi hati, khususnya dalam hal ketersediaan energi, pada hewan percobaan.

#### 4.1.2 Histologi Hati Tikus

Hasil pengamatan histologi hati setelah diberi ekstrak etanol daun sambiloto dan diinduksi timbal asetat menunjukkan adanya pengaruh berupa kerusakan jaringan hati baik pada kelompok control ataupun pada kelompok perlakuan. Ekstrak etanol daun sambiloto memperlihatkan terdapat pengaruh berkurangnya jumlah kerusakan sel pada hati yang diinduksi timbal asetat.

Tabel 4. 2 Nilai rerata skoring kerusakan histologi hati

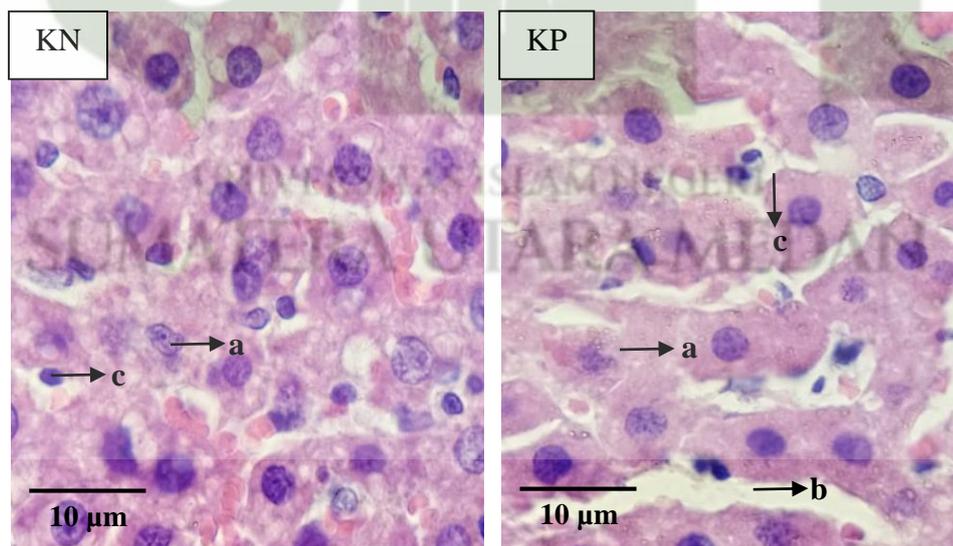
Kelompok	Degenerasi Parenkimatososa	Degenerasi Hidropik	Nekrosis
Kelompok Negatif	4.40±0.89 <sup>a</sup>	5.40±3.28 <sup>a</sup>	10.40±2.19 <sup>a</sup>
Kelompok Positif	9.20±1.09 <sup>d</sup>	13.80±1.64 <sup>d</sup>	19.20±1.78 <sup>c</sup>
Perlakuan 1	8.00±1.41 <sup>cd</sup>	12,00±2.12 <sup>bc</sup>	15.20±3.34 <sup>b</sup>
Perlakuan 2	6.80±1.78 <sup>bc</sup>	11.40±2.51 <sup>bc</sup>	13.60±2.19 <sup>ab</sup>
Perlakuan 3	5.60±1.67 <sup>ab</sup>	8.40±3.28 <sup>ab</sup>	12.00±2.82 <sup>ab</sup>
p=value	0.000	0.001	0.000

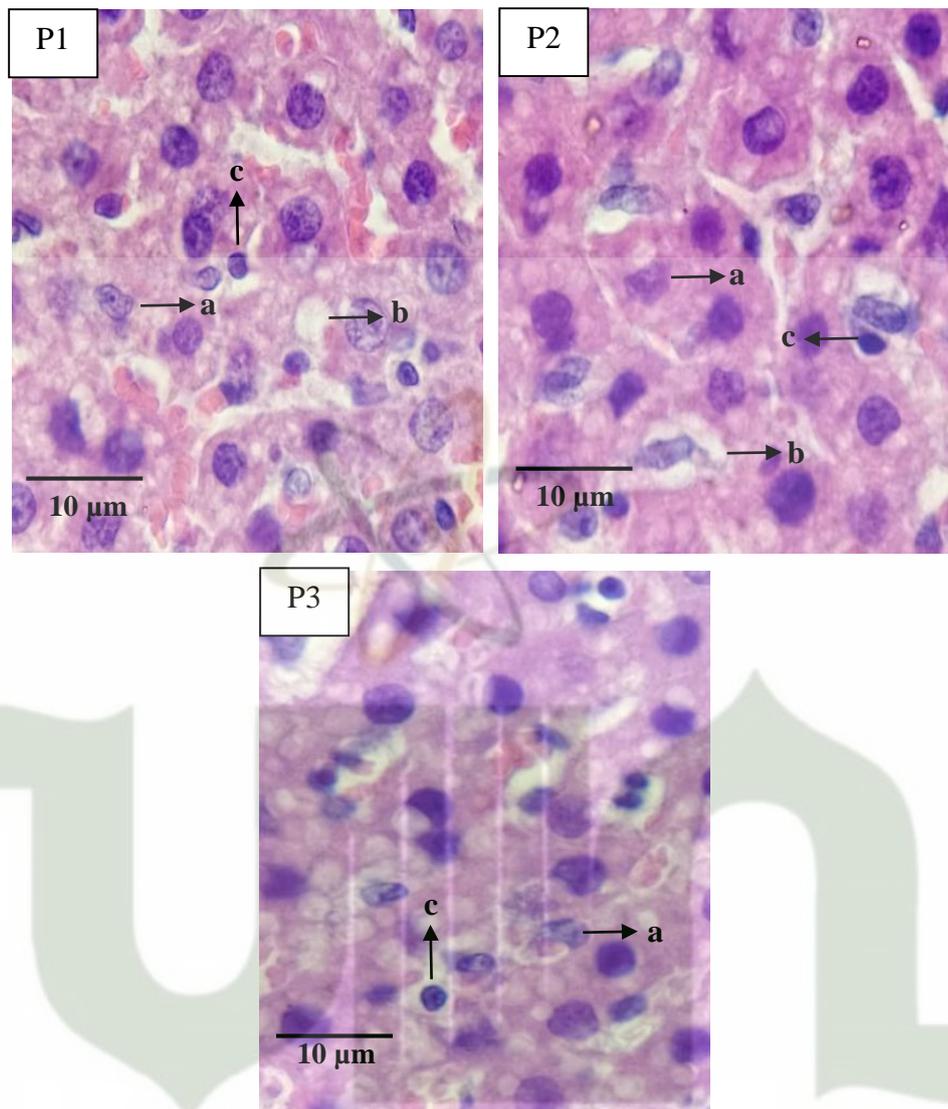
Keterangan : Kelompok Negatif (KN), Kelompok Positif (KP), Perlakuan 1 (P1), Perlakuan 2 (P2) dan Perlakuan 3 (P3).

Temuan pemeriksaan yang dilakukan terhadap kerusakan jaringan hati meliputi degenerasi parenkim, degenerasi hidropik, dan nekrosis. Berdasarkan temuan yang disajikan pada Tabel 4.1, perbedaan mencolok terlihat antara kelompok negatif dan kelompok positif, serta antara perlakuan 1 (P1) yang diberikan dengan dosis 250 mg/kg BB, perlakuan 2 (P2) yang diberikan dengan dosis 500 mg/kg BB dan perlakuan 3 (P3) yang diberikan dengan dosis 750 mg/kg BB, dalam kaitannya dengan parameter yang berhubungan dengan kerusakan hati, degenerasi parenkim, degenerasi hidropik, dan nekrosis. Kelompok perlakuan yang diberi label P3, diberikan dengan dosis 750 mg/kg BB, menunjukkan efek yang signifikan secara statistik pada kelompok normal. Temuan penelitian ini memberitahu bahwa pemberian ekstrak etanol yang berasal dari daun sambiloto menunjukkan dampak nyata terhadap cedera sel hati yang disebabkan oleh timbal asetat. Pemberian ekstrak etanol daun sambiloto dengan dosis 750 mg/kg BB telah terbukti efektif mengurangi kerusakan sel hati, seperti terlihat dari penurunan yang diamati pada kelompok perlakuan (Tabel 4.1). Fenomena ini terjadi akibat adanya antioksidan pada ekstrak etanol daun sambiloto yang diberikan. Kadar antioksidan ekstrak etanol daun sambiloto adalah sebesar 100,1433 setelah diperiksa menggunakan metode DPPH (Lampiran 5). Nilai IC<sub>50</sub> 100-150 ppm termasuk pada golongan kategori kuat untuk menangkal radikal bebas (Fauziah, *et al.*, 2021).

Berdasarkan Rachmani (2016) selain flavonoid juga terkandung senyawa andrografolid yang berfungsi sebagai antioksidan.

Sambiloto juga mengandung senyawa flavonoid. Kadar flavonoid ekstrak etanol daun sambiloto adalah 8,7498 mgQE/g (Lampiran 6). Senyawa flavonoid diketahui memberikan efek antioksidan melalui banyak mekanisme. Salah satu mekanisme tersebut melibatkan penghambatan pembentukan Spesies Oksigen Reaktif (ROS) oleh sel darah tepi. Selain itu, flavonoid juga dapat mencegah paparan oksidatif di dalam tubuh, sehingga menjaga lipid dan protein agar tidak mengalami peroksidasi lipid. Kedua metode ini memberikan serangkaian tindakan pada flavonoid, seperti penghambatan peroksidasi lipid dan pencegahan kerusakan jaringan yang disebabkan oleh radikal bebas. Kemanjuran antioksidan terletak pada kemampuannya untuk mengurangi efek buruk oksidan melalui proses donasi elektron. Menurut Putri (2016), antioksidan mempunyai kemampuan menghambat dan memulihkan kerusakan sel akibat adanya radikal bebas. Gambaran kerusakan pada sel hati dapat dilihat pada Gambar 4.2. Penelitian Oktarina (2017) menyatakan bahwa induksi timbal asetat dapat menyebabkan degenerasi dan nekrosis pada sel hati.





Gambar 4. 2 Gambar histologi hati tikus putih setelah pemberian ekstrak etanol daun sambiloto dan diinduksi timbal asetat menggunakan pewarnaan HE dan perbesaran 100x, Kontrol Negatif (KN), Kontrol Positif (KP), perlakuan 1 (P1), perlakuan 2 (P2), perlakuan 3 (P3). Keterangan: (a) degenerasi parenkimatos, (b) degenerasi hidropik, (c) nekrosis

Temuan yang digambarkan pada Gambar 4.2 menunjukkan bahwa kelompok negatif (KN) dan perlakuan 3 (P3) menunjukkan dampak yang signifikan, terlihat dari tidak adanya kerusakan degeneratif hidropik. Kelompok kontrol negatif (KN) menunjukkan perbedaan yang signifikan secara statistik dibandingkan dengan kelompok positif (KP), perlakuan 1 (P1), dan perlakuan 2 (P2) dalam hal perubahan patologis yang diamati, termasuk degenerasi parenkim, degenerasi hidropik, dan kerusakan nekrosis. Temuan menunjukkan bahwa ekstrak etanol yang berasal dari

daun sambiloto menunjukkan dampak nyata terhadap kerusakan sel hati yang disebabkan oleh timbal asetat.

Pembentukan ROS dalam jumlah yang sedikit pada dalam tubuh dapat terjadi sebagai hasil dari produk sampingan metabolisme sel, namun akan menjadi masalah jika jumlah ROS yang terbentuk sangat banyak dan terakumulasi sehingga memicu terbentuknya stres oksidatif yang menyeluruh. Akumulasi ROS di dalam tubuh terjadi akibat tidak seimbangnya jumlah radikal bebas sebagai pro-oksidan tubuh dengan banyaknya jumlah antioksidan internal yang ada di dalam tubuh. Salah satu penyebab munculnya kondisi tersebut adalah akibat dari masuknya senyawa kimia berbahaya, salah satunya yaitu timbal asetat (Marcelly, 2023).

Degenerasi parenkim merupakan suatu bentuk degenerasi yang ditandai adanya sitoplasma yang menggembung dan granular pada sel. Fenomena ini terjadi karena ketidakmampuan sel untuk menghilangkan air secara efektif, sehingga menyebabkan penumpukan air di dalam sel. Proses degenerasi ini disebabkan oleh pergerakan air ekstraseluler ke dalam sel, terutama disebabkan oleh adanya bahan kimia berbahaya, seperti timbal (Jannah, 2017).

Degenerasi hidropik merupakan suatu proses patologis yang ditandai dengan adanya kerusakan struktural pada tingkat sekunder. Degenerasi ini dapat diamati melalui ciri-ciri berbeda seperti vakuolisasi sitoplasma dan manifestasi vakuola yang terlihat (Sari, 2018). Zat yang memiliki kualitas berbahaya dapat menyebabkan gangguan pada organel mitokondria yang bertanggung jawab untuk produksi Adenosin Trifosfat (ATP), yang merupakan sumber energi penting. Pengoperasian pompa natrium ( $\text{Na}^+$ ) bergantung pada ketersediaan ATP. Tanpa adanya adenosin trifosfat (ATP), pengeluaran ion natrium ( $\text{Na}^+$ ) dari lingkungan intraseluler akan terhambat. Ion natrium ( $\text{Na}^+$ ) memiliki karakteristik menunjukkan afinitas terhadap molekul air. Fenomena ini dapat menyebabkan terganggunya permeabilitas seluler sehingga menyebabkan masuknya cairan ekstraseluler ke dalam ruang intraseluler dalam jumlah yang banyak. Akibatnya, proses ini dapat menimbulkan perkembangan vakuola yang banyak, kecil, dan transparan. Penggabungan vakuola ini mengarah pada pembentukan vakuola yang lebih besar atau tunggal yang terletak di dalam sitoplasma. Vakuola ini menggantikan inti sel

dan dapat menyebabkan pembesaran sel, yang berpuncak pada kondisi yang disebut degenerasi hidropik (Tatukude, 2014).

Menurut penelitian yang dilakukan oleh Muselin dkk. (2010) dan diterbitkan dalam Jurnal Karina (2023), mengamati bahwa nekrosis hati dapat disebabkan oleh stres oksidatif yang dipicu oleh paparan timbal. Kematian sel adalah proses ireversibel yang ditandai dengan kerusakan signifikan, yang mencegah hepatosit mendapatkan kembali morfologi aslinya. Nekrosis dapat bermanifestasi sebagai kerusakan jaringan yang terlokalisasi atau menyebar, dan etiologinya dapat dikaitkan dengan faktor-faktor seperti iskemia, anemia, hipoksia, stres oksidatif, dan disregulasi peptida (Oktarian, 2017).

Pemberian timbal asetat pada tikus telah diamati menimbulkan perubahan histopatologis dan biokimia pada hati mereka. Perubahan ini terbukti mengganggu keseimbangan antara oksidan dan antioksidan, yang menyebabkan peningkatan stres oksidatif. Akibatnya, kejadian kelainan hati meningkat, disertai dengan induksi aktivitas lipid peroksidase. Aktivitas enzimatis ini dapat berdampak buruk pada membran sel, sehingga mengakibatkan modifikasi struktural dan fungsional di dalam sel (Oktarina, 2017). Stres oksidatif, yang timbul dari ketidakseimbangan antara radikal bebas dan antioksidan, dapat menyebabkan kerusakan sel, jaringan, dan organ. Menurut Khaira (2010), pendekatan efektif untuk mengurangi stres oksidatif melibatkan meminimalkan paparan radikal bebas dan meningkatkan mekanisme pertahanan tubuh melalui aktivitas antioksidan. Ekstrak etanol yang berasal dari daun sambiloto diketahui mengandung flavonoid yang menunjukkan sifat antioksidan. Antioksidan ini memiliki kemampuan untuk melindungi sel dari dampak buruk radikal bebas.

Penurunan kerusakan histologis, khususnya degenerasi parenkim, degenerasi hidropik, dan nekrosis, menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun sambiloto berpotensi memitigasi kerusakan jaringan hati. Penurunan kerusakan histologis yang diamati dapat dikaitkan dengan adanya bahan kimia aktif, khususnya antioksidan, yang ditemukan dalam ekstrak daun sambiloto. Antioksidan ini memfasilitasi regenerasi sel jaringan hati. Khasiat hepatoprotektif ekstrak daun sambiloto tidak memberikan perlindungan hati yang lengkap. Fenomena ini terjadi

karena meningkatnya toksisitas zat yang diberikan atau dosis ekstrak daun sambiloto yang tidak mencukupi, seperti yang diungkapkan Mahardika (2020).

#### 4.2 Pengaruh Ekstrak Etanol Daun Sambiloto *Andrographis paniculata* (Burm. fil) Ness Terhadap Kadar SGPT dan SGOT Hati Tikus Putih (*Rattus norvegicus* L.) yang Diinduksi Timbal Asetat ( $Pb(C_2H_3O_2)_2$ )

Temuan dari penelitian yang meneliti dampak ekstrak etanol yang berasal dari herba pahit terhadap kadar SGPT dan SGOT dalam hati tikus putih yang diinduksi dengan timbal asetat menunjukkan variasi yang mencolok dalam rata-rata kadar SGPT dan SGOT pada berbagai kelompok perlakuan. Kadar SGPT dan SGOT hati tikus pada masing-masing kelompok perlakuan menunjukkan korelasi positif dengan dosis ekstrak yang diberikan. Tabel berikut menyajikan temuan observasi terkait kadar SGPT dan SGOT.

Tabel 4. 3 Nilai rerata jumlah SGPT dan SGOT

Kelompok	Kadar SGPT (U/L)	Kadar SGOT (U/L)
Kelompok Negatif	74.00±4.84 <sup>a</sup>	28.00±1.58 <sup>a</sup>
Kelompok Positif	126.60±4.39 <sup>e</sup>	51.80±1.92 <sup>e</sup>
Perlakuan 1	120.00±3.16 <sup>d</sup>	44.40±1.14 <sup>d</sup>
Perlakuan 2	95.20±1.92 <sup>c</sup>	39.20±1.30 <sup>c</sup>
Perlakuan 3	88.20±2.38 <sup>b</sup>	32.40±1.14 <sup>b</sup>
p=value	0.000	0.000

Keterangan : Kelompok Negatif (KN), Kelompok Positif (KP), Perlakuan 1 (P1), Perlakuan 2 (P2) dan Perlakuan 3 (P3).

Berdasarkan tabel 4.2 dapat dilihat bahwa kadar SGPT dan SGOT pada kelompok negatif (KN) berbeda nyata dengan kelompok positif (KP), kelompok negatif (KN) berpengaruh nyata dengan perlakuan 3 (P3) dengan dosis (750 mg/kg BB). Alasan fenomena ini adalah masuknya timbal ke dalam tubuh manusia menyebabkan peningkatan produksi radikal bebas. Radikal bebas ini memiliki kemampuan untuk menempel pada lipid yang terdapat pada membran hepatosit hati, sehingga terjadi pembentukan peroksidasi lipid. Proses ini pada akhirnya

menyebabkan stres oksidatif dan kerusakan selanjutnya pada membran hepatosit hati. Peningkatan enzim aminotransaminase dalam serum merupakan indikasi cedera hepatoseluler. Dua bentuk enzim aminotransaminase yang umum diukur adalah SGPT (glutamate piruvat transaminase) / ALT (alanine transaminase) dan SGOT (glutamate oxaloacetate transaminase) / AST (aspartate transaminase) (Sudjarwo, 2018).

Enzim alanine aminotransferase (ALT) disintesis di dalam hepatosit, yang merupakan sel hati khusus. Enzim AST sebagian besar terdapat di hati, namun keberadaannya di jantung dan otot rangka relatif terbatas. Peningkatan kadar enzim ALT dapat diamati dalam serum, terutama pada kasus kerusakan hati. Peningkatan kadar tersebut mungkin timbul akibat cedera hepatoseluler yang disebabkan oleh infeksi virus, obat-obatan, atau zat beracun (Kunsah, 2022).

Temuan penelitian ini menunjukkan bahwa kelompok positif (KP) menunjukkan tingkat enzim SGPT dan SGOT tertinggi, sehingga menunjukkan adanya kerusakan hati. Tingkat SGPT dan SGOT pada tikus biasanya berkisar antara 45,7-80,8 dan 17,5-30,2, masing-masing, dalam sampel darah normal. Bukti ini mendukung pernyataan bahwa timbal adalah bahan kimia berbahaya yang mampu menyebabkan kerusakan pada sel-sel hati. Akumulasi timbal dalam hepatosit dalam jangka panjang diketahui memicu pembentukan spesies oksigen reaktif (ROS), yaitu radikal bebas, yang kemudian menyebabkan stres oksidatif (Zarwin, 2020).

Rendahnya kadar SGPT dan SGOT tidak serta merta menyebabkan terjadinya cedera hepatoseluler. Fenomena ini disebabkan oleh fakta bahwa SGOT tidak hanya disintesis di hati, tetapi juga umumnya terdapat di organ tubuh lain seperti jantung, hati, otot rangka, pankreas, paru-paru, sel darah merah, dan sel otak. Peningkatan kadar SGPT dan SGOT dalam aliran darah merupakan indikasi adanya kerusakan hati (Fajariyah, 2010).

Flavonoid adalah molekul organik yang tersusun dari atom karbon yang menunjukkan sifat menjanjikan sebagai antioksidan. Antioksidan adalah senyawa yang memiliki kemampuan untuk menghambat, mencegah, atau memberantas kerusakan oksidatif yang ditimbulkan pada molekul tertentu (Muyassar, 2019).

Menurut Yuneldi (2018), pemberian senyawa flavonoid terbukti meningkatkan fungsi hepatosit sehingga menyebabkan penurunan kadar SGPT dan SGOT serum. Dalam penelitian ini, pemberian ekstrak etanol yang berasal dari daun sambiloto ditemukan menunjukkan penurunan yang signifikan pada serum glutamat piruvat transaminase (SGPT) dan kadar serum glutamat oksaloasetat transaminase (SGOT) pada tikus. Tindakan hepatoprotektif ekstrak etanol yang berasal dari daun sambiloto dikaitkan dengan kemampuannya menghambat banyak komponen yang terlibat dalam apoptosis sel. Manfaat hepatoprotektif juga dicapai melalui sifat anti-inflamasi dan antioksidan dari unsur bioaktif (Jong, 2018).

Menurunnya kadar enzim SGPT dan SGOT dapat dikaitkan dengan sifat antioksidan yang terdapat pada pahit, yang memiliki kemampuan untuk mengikat radikal bebas yang terkait dengan timbal. Ketika antioksidan membentuk ikatan dengan radikal bebas, kemampuan radikal bebas tersebut untuk menimbulkan kerusakan pada jaringan hati menjadi terhambat, sehingga mencegah terjadinya kerusakan hati. Pelepasan enzim SGPT dan SGOT ke dalam aliran darah berkurang ketika sel-sel tetap tidak rusak. Ada hubungan langsung antara tingkat kerusakan sel dan konsentrasi enzim SGPT dan SGOT yang dilepaskan ke aliran darah. Peningkatan ringan pada kadar enzim hati biasanya timbul sebagai akibat dari kondisi seperti perlemakan hati, sirosis, toksisitas akibat obat, dan steatohepatitis non-alkohol (Aleya, 2015).

ROS dapat memberikan efek merugikan pada konstituen seluler yang penting karena kemampuannya berinteraksi dengan lipid, protein, dan DNA, sehingga menyebabkan kerusakan. Interaksi antara spesies oksigen reaktif (ROS) dan lemak tak jenuh yang terdapat pada membran sel dapat mengakibatkan terbentuknya senyawa peroksida. Senyawa ini memiliki kemampuan untuk menyebabkan efek merugikan pada membran sel, yang menyebabkan pelepasan enzim sitoplasma ke dalam aliran darah. Spesies oksigen reaktif (ROS) ini menunjukkan tingkat reaktivitas yang tinggi dan mampu mengikat DNA di dalam mitokondria, yang mengakibatkan nekrosis seluler. Terjadinya nekrosis sel hepatosit menyebabkan keluarnya enzim SGPT dan SGOT ke dalam aliran darah sehingga terjadi peningkatan kadar SGPT dan SGOT (Qodriyati, 2016). Zat antioksidan mempunyai

kemampuan berfungsi sebagai penghambat penyebaran radikal bebas dalam tubuh manusia. Bahan kimia tersebut menunjukkan kemampuannya sebagai pemulung melalui sumbangan atom hidrogennya kepada radikal bebas (Sujatmiko, 2021).

