

# Aktivitas Hepatoprotektif Ekstrak Metanol Buah Lakum [*Cayratia trifolia* (L.) Domin] terhadap Hepatosit Tikus Putih (*Rattus novergicus* L.) yang Diinduksi Parasetamol

Rizki Perdana Putri<sup>1</sup>, Diah Wulandari Rousdy<sup>1</sup>, Aji Hepi Yanti<sup>1</sup>,

Elvi Rusmiyanto Pancaning Wardoyo<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Tanjungpura

Email: r.perdanaputri@gmail.com.

## Abstract

Lakum [*Cayratia trifolia* (L.) Domin] fruit is known for its secondary metabolites such as flavonoids, terpenoids, and phenols. This indicates lakum fruit has a potential as an antioxidant source due to overdose of paracetamol. This research was aimed to determine the hepatoprotective activity of methanolic extract of lakum fruit in the liver of Wistar rats induced by high doses of paracetamol. Ripe lakum fruits from Sungai Kakap District, West Kalimantan Province were extracted by maceration method. This study used a randomized block design. Thirty-five (35) male Wistar rats (*Rattus novergicus* L.) divided into 7 groups. The groups comprised of 4 control groups (normal, negative, positive, and solvent) and 3 test groups of different methanolic extract of lakum fruit doses ((115, 230, and 345 mg kg<sup>-1</sup>). Paracetamol and other testing sample were given orally for 7 days. Results showed that the effect of 230 mg kg<sup>-1</sup> of lakum fruit methanolic extract (normal hepatocytes: 78,05 ± 0,92%; necrosis hepatocytes: 15,04 ± 0,80%) were similar to the effect of silymarin (normal hepatocytes: 81,09 ± 0,93%; necrosis hepatocytes: 16,85 ± 0,15%) as the standard medicine. The optimal dose of *C. trifolia* fruit methanol extract which potent as hepatoprotective agent is 230 mg kg<sup>-1</sup>.

**Key Words** : Antioxidant, lakum fruit (*Cayratia trifolia*), hepatocytes, necrosis, paracetamol.

## Abstrak

Lakum [*Cayratia trifolia* (L.) Domin] dikenal akan kandungan metabolit sekundernya seperti flavonoid, terpenoid dan fenol. Kandungan metabolit sekunder ini mengindikasikan bahwa buah lakum berpotensi sebagai sumber antioksidan akibat overdosis parasetamol. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas hepatoprotektif ekstrak metanol buah lakum pada hepar tikus putih Wistar yang diinduksi parasetamol dengan dosis tinggi. Buah lakum matang dari Kecamatan Sungai Kakap, Provinsi Kalimantan Barat diekstraksi melalui metode maserasi. Penelitian menggunakan Rancangan Acak Kelompok. Tiga puluh lima (35) tikus putih jantan galur Wistar (*Rattus novergicus* L.) dibagi ke dalam 7 kelompok perlakuan. Kelompok perlakuan terdiri dari 4 kelompok kontrol (normal, negatif, positif dan pelarut) dan 3 kelompok uji dari dosis ekstrak yang berbeda (115, 230 dan 345 mg kg<sup>-1</sup>). Parasetamol dan bahan uji lainnya diberikan secara oral masing-masing selama 7 hari. Hasil menunjukkan bahwa efek ekstrak metanol buah lakum dosis 230 mg kg<sup>-1</sup> (hepatosit normal: 78,05 ± 0,92%; hepatosit nekrosis: 15,04 ± 0,80%) serupa dengan efek silymarin (hepatosit normal: 81,09 ± 0,93%; hepatosit degenerasi: 16,85 ± 0,15%) sebagai obat standar. Dosis optimal ekstrak metanol *C. trifolia* yang berpotensi sebagai agen hepatoprotektif adalah 230 mg kg<sup>-1</sup>.

**Kata kunci** : Antioksidan, buah lakum (*Cayratia trifolia*), hepatosit, nekrosis, parasetamol.

## Pendahuluan

Parasetamol merupakan obat analgesik-antipiretik yang umum digunakan oleh masyarakat karena harganya yang terjangkau (Tulandi *et al.* 2015). Berdasarkan Ikatan Sarjana Farmasi Indonesia (ISFI) tahun 2006, di Indonesia terdapat 305 merek obat yang mengandung parasetamol, baik sebagai obat tunggal maupun kombinasi dengan obat lain. Hal ini menyebabkan parasetamol dapat dengan mudah disalahgunakan pemakaiannya dengan dosis yang berlebihan, sehingga parasetamol dinyatakan termasuk obat-obatan yang paling menyebabkan overdosis pada masyarakat (Hodgman & Garrard, 2012).

Hepar merupakan organ utama yang memetabolisme semua senyawa obat termasuk parasetamol, sehingga hepar rentan mengalami kerusakan sel akibat overdosis parasetamol.

Konsumsi dosis parasetamol lebih dari 7 g/kg/hari pada orang dewasa akan meningkatkan pembentukan *N-acetyl-p-benzoquinone imine* (NAPQI) (Hodgman & Garrard, 2012). Pada hepar. NAPQI memiliki atom dengan elektron yang tidak berpasangan sehingga dianggap sebagai radikal bebas. NAPQI dapat bereaksi dengan protein hepar dan menyebabkan kerusakan sel-sel hepar atau hepatosit.

Kerusakan hepatosit akibat konsumsi dosis toksik parasetamol dapat dikurangi dengan senyawa antioksidan. Penggunaan antioksidan sintetik seperti *butylated hydroxytoluene* (BHT) mulai dibatasi karena terbukti bersifat karsinogenik (Lobo *et al.* 2010). Oleh karena itu, perlu dikembangkan antioksidan yang berasal dari bahan alami seperti tumbuh-tumbuhan karena diketahui lebih aman dan memiliki efek samping yang lebih kecil (Suastika 2011).

Lakum [*Cayratia trifolia* (L.) Domin] diketahui memiliki aktivitas antibakteri, antifungi, antiprotozoa, antikanker dan antiinflamasi (Gupta *et al.* 2012). Ekstrak metanol buah lakum mengandung senyawa flavonoid, triterpenoid dan fenol (Wulandari *et al.* 2018). Selain itu, ekstrak metanol buah lakum memiliki nilai  $IC_{50}$  yang lebih kecil dibandingkan nilai  $IC_{50}$  ekstrak kloroform buah lakum maupun ekstrak n-heksan buah lakum. Nilai  $IC_{50}$  ketiga ekstrak tersebut secara berturut-turut 318,621  $\mu\text{g/mL}$  (Ridho *et al.* 2013), 651,643  $\mu\text{g/mL}$  (Sulandi *et al.* 2013) dan 3.158,928  $\mu\text{g/mL}$  (Satria *et al.* 2013). Semakin rendah nilai  $IC_{50}$ , semakin tinggi aktivitas peredaman radikal bebas yang dimiliki. Adanya kandungan senyawa metabolit sekunder dan belum adanya informasi mengenai pemanfaatan ekstrak metanol buah *C. trifolia* untuk membantu regenerasi kerusakan hepatosit akibat konsumsi toksik parasetamol menyebabkan penelitian ini perlu dilakukan. Penelitian ini bertujuan mengetahui pengaruh pemberian ekstrak metanol buah lakum *C. trifolia* terhadap perubahan histologi hepar tikus putih yang mengalami kerusakan akibat parasetamol.

## Metode Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Zoologi dan Laboratorium Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Tanjungpura dan Laboratorium Biokimia Politeknik Negeri Pontianak. Pengambilan sampel buah lakum dilakukan di Desa Pal IX, Kecamatan Sungai Kakap, Kabupaten Kubu Raya, Provinsi Kalimantan Barat. Penelitian dilaksanakan pada bulan Oktober 2017 hingga Februari 2018.

Hewan uji yang digunakan yaitu tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur Wistar berusia 2,5-3 bulan dengan berat badan 200-250 gram, sehat dan tidak cacat fisik. Hewan uji dipelihara dalam kandang berventilasi dan diberi makan dan minum secara *ad libitum* sesuai petunjuk pemeliharaan hewan uji (Garber *et al.* 2011). Sebelum diberi perlakuan, hewan uji diaklimasi selama 7 hari di laboratorium dengan suhu ruangan 28-32°C dan kelembaban 53-78%.

Bahan yang digunakan di antaranya buah lakum (*Cayratia trifolia* (L.) Domin yang telah matang berwarna ungu, parasetamol, metanol teknis, *carboxy methyl cellulose*, NaCl 0,9%, larutan Bouin, etanol *absolute*, alkohol 95%, alkohol 70%, akuades, xylol, parafin padat, Hematoksilin, Eosin y, *Canada balsam* dan *aluminium foil*. Obat standar yang digunakan adalah HEPA-Q yang mengandung bahan aktif sylimarin 87,5 mg dan kurkumin 21 mg. Alat yang digunakan di antaranya *rotary evaporator*, desikator, mikrotom *rotary* dan mikroskop cahaya.

## Rancangan Penelitian

Penelitian dilakukan dengan rancangan acak kelompok (RAK) dan jumlah pengulangan sebanyak 5 kali. Kelompok perlakuan yang diujikan yaitu kontrol normal (K1), kontrol negatif (K2), kontrol positif (K3), kontrol pelarut (K4), serta kelompok ekstrak metanol buah lakum dengan dosis 115  $\text{mg kg}^{-1}$  (P1), 230  $\text{mg kg}^{-1}$  (P2) dan 345  $\text{mg kg}^{-1}$  (P3). Dosis uji mengacu pada hasil uji pendahuluan yang telah dilakukan. Perlakuan yang diberikan pada setiap kelompok yaitu:

1. K1: hewan uji diberi akuabides selama 7 hari;
2. K2: hewan uji diberi parasetamol 750  $\text{mg kg}^{-1}$  selama 7 hari;
3. K3: hewan uji diberi parasetamol 750  $\text{mg kg}^{-1}$  dan HEPA-Q 11,34  $\text{mg kg}^{-1}$  secara berturut-turut masing-masing selama 7 hari;
4. K4: hewan uji diberi parasetamol 750  $\text{mg kg}^{-1}$  dan CMC 0,5% secara berturut-turut masing-masing selama 7 hari;
5. P1: hewan uji diberi parasetamol 750  $\text{mg kg}^{-1}$  dan ekstrak metanol buah lakum 115  $\text{mg kg}^{-1}$  secara berturut-turut masing-masing selama 7 hari;
6. P2: hewan uji diberi parasetamol 750  $\text{mg kg}^{-1}$  dan ekstrak metanol buah lakum 230  $\text{mg kg}^{-1}$  secara berturut-turut masing-masing selama 7 hari;
7. P3: hewan uji diberi parasetamol 750  $\text{mg kg}^{-1}$  dan ekstrak metanol buah lakum 345  $\text{mg kg}^{-1}$  secara berturut-turut masing-masing selama 7 hari.

## Ekstraksi Buah Lakum

Buah lakum matang yang ditandai dengan warna kulit buah ungu kehitaman dicuci dengan air mengalir. Buah lakum dihaluskan dengan *blender*, kemudian disaring dan ditampung dalam wadah kaca. Buah lakum dimaserasi dengan metanol dalam wadah tertutup rapat dan dilapisi *aluminium foil* untuk menghindari kontak dengan sinar matahari. Selama 3 hari berturut-turut, campuran diaduk 2-3 kali sehari dan disaring setiap 24 jam. Maserat dipekatkan dengan *rotary evaporator* dengan kecepatan 70-110 rpm dan suhu 40-45°C hingga diperoleh ekstrak metanol buah lakum kental berwarna ungu tua. Ekstrak kental ditampung dalam wadah kaca steril, dibungkus *aluminium foil* dan disimpan dalam desikator selama satu minggu (Kurniadi *et al.* 2018).

## Pembuatan Suspensi Parasetamol

Parasetamol ditimbang untuk dosis yang sesuai dengan berat badan hewan uji. Parasetamol yang telah ditimbang digerus hingga halus, kemudian ditampung dalam wadah kaca dan ditambahkan dengan pelarut *carboxymethyl cellulose* (CMC) 0,5% sebanyak 1 ml per dosis untuk satu kali induksi (Purwitasari *et al.* 2016).

Parasetamol dan pelarut CMC 0,5% diaduk hingga terbentuk suspensi dan diberikan kepada tikus uji secara oral menggunakan sonde lambung.

#### *Pembuatan Suspensi HEPA-Q*

Obat hepatoprotektif HEPA-Q ditimbang untuk dosis yang sesuai dengan berat badan hewan uji. Obat HEPA-Q yang telah ditimbang digerus hingga halus, kemudian ditampung dalam wadah kaca dan ditambahkan dengan pelarut CMC 0,5% sebanyak 1 ml per dosis untuk satu kali induksi. Obat HEPA-Q dan pelarut CMC 0,5% diaduk hingga terbentuk suspensi. Suspensi diberikan secara oral kepada tikus uji menggunakan sonde lambung.

#### *Pembuatan Suspensi Ekstrak Metanol Buah Lakum*

Ekstrak metanol buah lakum yang kental ditimbang untuk dosis yang telah disesuaikan dengan berat badan hewan uji. Ekstrak selanjutnya ditampung dalam wadah kaca dan ditambahkan dengan pelarut CMC 0,5% sebanyak 1 ml per dosis untuk satu kali induksi. Ekstrak kental dan pelarut CMC 0,5% diaduk hingga terbentuk suspensi dan diberikan secara oral kepada tikus uji.

#### *Preparasi Organ Hepar dan Pengamatan*

Setelah perlakuan, hewan uji dibedah, organ hepar diambil dan difiksasi sesegera mungkin dengan larutan Bouin. Sediaan sayatan organ hepar dibuat dengan metode paraffin. Organ hepar difiksasi selama 3 jam dalam fiksatif Bouin. Kemudian dicuci dan dehidrasi menggunakan alkohol bertingkat (70-100%) masing-masing selama 30 menit. Organ dijernihkan dalam xilol dan dilanjutkan dengan infiltrasi dalam parafin. Potongan organ kemudian ditanam dalam parafin cair, blok parafin disayat menggunakan mikrotom putar pada ketebalan 6-8  $\mu\text{m}$ . Irisan preparat diwarnai dengan hematoxil-eosin (HE).

Sediaan sayatan organ hepar diamati dengan mikroskop cahaya dengan perbesaran 400x sebanyak lima lapang pandang. Pengamatan yang dilakukan meliputi jumlah hepatosit normal, hepatosit degenerasi hidrofik dan hepatosit nekrosis (Hendri *et al.* 2016).

#### *Analisis Data*

Data berupa persentase hepatosit normal, hepatosit degenerasi dan hepatosit nekrosis pada setiap kelompok perlakuan dianalisis dengan bantuan *software* SPSS Statistics 21. Data disajikan dalam bentuk rata-rata  $\pm$  standar deviasi. Perbandingan setiap parameter pada setiap kelompok perlakuan diuji dengan ANOVA

satu jalur. Uji lanjut yang digunakan adalah uji Tukey dengan taraf kepercayaan 95% (nilai signifikansi 0,05).

## **Hasil dan Pembahasan**

Induksi oral parasetamol dengan dosis 750 mg  $\text{kg}^{-1}$  selama 7 hari menyebabkan kerusakan pada organ hepar tikus putih. Kerusakan yang ditemukan adalah degenerasi hidropik serta nekrosis (Gambar 1, Gambar 2) Hepar dengan hepatosit normal terbanyak terdapat pada kelompok perlakuan kontrol normal (K1), kontrol positif (K3) dan ekstrak buah lakum 230 mg  $\text{kg}^{-1}$  (P2). Kelompok perlakuan dengan hepatosit degenerasi terbanyak adalah kelompok ekstrak 115 mg  $\text{kg}^{-1}$  (P1). Sementara itu, kelompok perlakuan dengan hepatosit yang mengalami nekrosis terbanyak adalah kelompok kontrol pelarut (K4) dan kontrol negatif (K2) (Tabel 1).

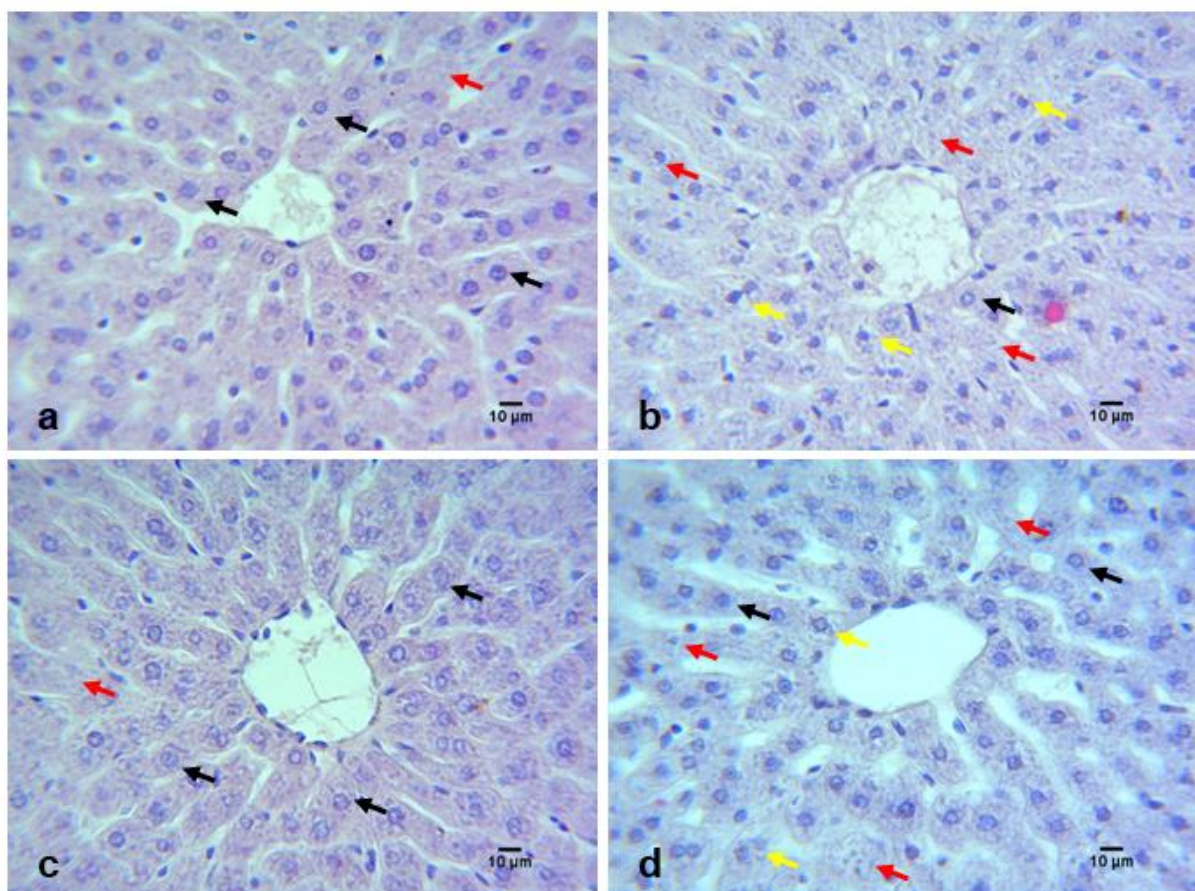
Hepatosit tikus putih pada kelompok kontrol negatif dan kontrol pelarut mengalami kerusakan yang lebih tinggi dibandingkan dengan hepar pada kelompok kontrol normal dan kontrol positif. Berdasarkan Li *et al.* (1994), kerusakan hepatosit akibat konsumsi dosis berlebih parasetamol disebabkan oleh jenuhnya jalur glukoronidasi dan sulfatasi dalam memetabolisme parasetamol. Jenuhnya kedua jalur ini menyebabkan parasetamol akan dimetabolisme melalui jalur ketiga, yaitu oksidasi yang menghasilkan *N-acetyl-p-benzoquinone imine* (NAPQI).

NAPQI yang merupakan radikal bebas ini seharusnya didetoksifikasi oleh enzim glutation-s-transferase (GST). Enzim GST akan mengkonjugasikan gugus sulfhidril glutation dengan NAPQI menjadi senyawa asam merkapturat yang larut dan dapat diekskresikan oleh ginjal (Henderson *et al.*, 2000; Mazaleuskaya *et al.*, 2015) Namun konsumsi dosis berlebih parasetamol menyebabkan produksi NAPQI lebih tinggi dibandingkan detoksifikasi oleh GST. NAPQI yang tidak dapat didetoksifikasi akan menyebabkan peroksidasi lipid penyusun membran sel hepatosit. Akibatnya, hepatosit mengalami kerusakan seperti degenerasi dan nekrosis.

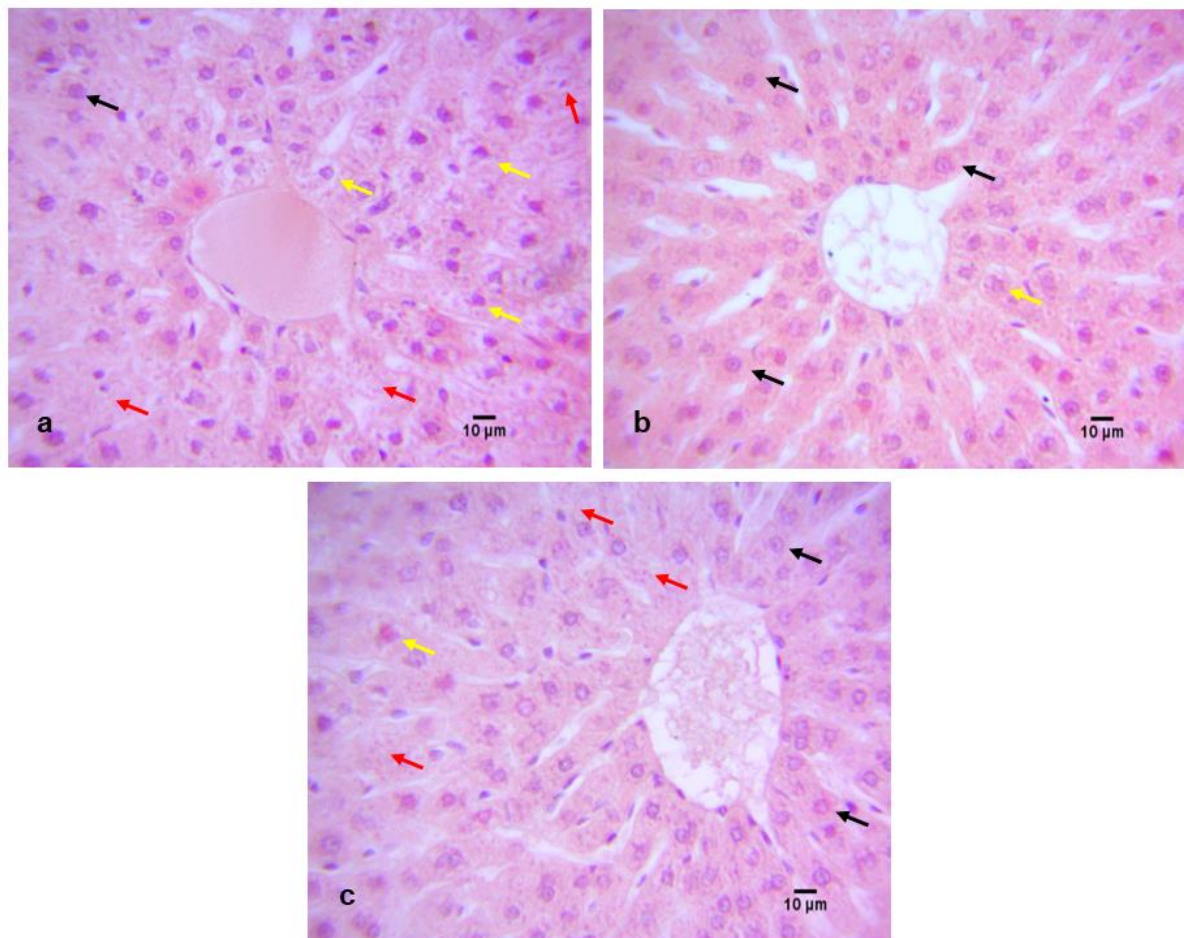
**Tabel 1.** Kerusakan hepatosit pada setiap ke kelompok perlakuan

Perlakuan	Persentase Hepatosit (%)		
	Normal	Degenerasi	Nekrosis
Kontrol normal	88,21 ± 1,91 <sup>e</sup>	1,27 ± 0,76 <sup>a</sup>	10,51 ± 1,20 <sup>a</sup>
Kontrol negatif	42,18 ± 0,93 <sup>a</sup>	20,40 ± 1,02 <sup>d</sup>	37,42 ± 0,92 <sup>d</sup>
Kontrol positif	81,09 ± 0,93 <sup>d</sup>	2,06 ± 1,02 <sup>a</sup>	16,85 ± 0,15 <sup>b</sup>
Kontrol pelarut	43,13 ± 0,50 <sup>a</sup>	18,71 ± 0,42 <sup>d</sup>	38,16 ± 0,34 <sup>d</sup>
Ekstrak 115 mg kg <sup>-1</sup>	43,39 ± 1,05 <sup>a</sup>	26,01 ± 1,20 <sup>e</sup>	30,60 ± 2,22 <sup>c</sup>
Ekstrak 230 mg kg <sup>-1</sup>	78,05 ± 0,92 <sup>c</sup>	6,91 ± 0,38 <sup>b</sup>	15,04 ± 0,80 <sup>b</sup>
Ekstrak 345 mg kg <sup>-1</sup>	55,97 ± 2,14 <sup>b</sup>	15,61 ± 1,34 <sup>c</sup>	28,42 ± 1,09 <sup>c</sup>

Nilai yang tertera adalah nilai rata-rata ± standar deviasi (n = 5 tikus putih/kelompok) dengan nilai signifikansi 0,05; Angka yang diikuti huruf *superscript* yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan hasil yang berbeda nyata ( $p < 0,05$ ).



Gambar 1. Struktur mikroanatomi hepar tikus putih kelompok kontrol: (a) K1; (b) K2; (c) K3; (d) K4 (perbesaran 400x). Terlihat adanya hepatosit normal (panah hitam), hepatosit degenerasi hidropik (panah kuning) dan hepatosit nekrosis (panah merah). Pewarnaan HE.



Gambar 2. Struktur mikroanatomi hepar tikus putih kelompok pemberian ekstrak metanol buah lakum: (a) P1; (b) P2; (c) P3 (perbesaran 400x). Terlihat adanya hepatosit normal (panah hitam), hepatosit degenerasi hidropik (panah kuning) dan hepatosit nekrosis (panah merah). Pewarnaan HE.

Kelompok kontrol pelarut mengalami peningkatan rerata persentase hepatosit normal sebanyak 0,95% dan mengalami penurunan rerata persentase hepatosit degenerasi sebanyak 1,69% jika dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif. Hal ini diduga berkaitan dengan kecepatan regenerasi hepatosit pada tikus putih. Kelompok kontrol negatif diinduksi dengan parasetamol selama 7 hari dan dibedah pada hari kedelapan, sedangkan kelompok kontrol pelarut diinduksi dengan parasetamol selama 7 hari, diinduksi dengan pelarut CMC 0,5% selama 7 hari kemudian, dan dibedah pada hari kelima belas. Berdasarkan Taub (2004), sintesis DNA pada regenerasi hepatosit tikus putih sudah dimulai setelah 12 jam ketika memasuki fase S dalam siklus sel dan berada pada puncaknya setelah 24 jam. Oleh karena itu, hepatosit tikus putih pada kelompok kontrol pelarut diduga telah mengalami regenerasi saat diinduksi oleh pelarut CMC 0,5%, namun tidak secepat regenerasi hepatosit tikus putih yang diinduksi dengan obat hepatoprotektif maupun ekstrak metanol buah lakum.

Degenerasi yang ditemukan pada penelitian ini yaitu degenerasi hidropik. Berdasarkan Jones *et al.* (1996), degenerasi hidropik merupakan kondisi yang paling sering ditemukan dalam kerusakan sel. Sel yang terpapar radikal bebas akan mengalami peroksidasi lipid penyusun membran sel. Akibatnya integritas membran sel terganggu dan terjadi kebocoran membran sel. Hal ini menyebabkan transpor  $K^+$  keluar sel dan masuknya sejumlah  $Ca^{2+}$ ,  $Na^+$  dan air ke dalam sel. Banyaknya cairan ekstrasel yang masuk ke dalam sitoplasma menyebabkan penggelembungan sitoplasma. Hal ini dapat dilihat pada Gambar 1 dan Gambar 2. Sel yang mengalami degenerasi hidropik tidak terpusat seluruhnya oleh pewarna hematoksilin-eosin karena sitoplasmanya memiliki vakuola-vakuola jernih yang berisi air.

Kerusakan hepatosit berupa nekrosis juga ditemukan pada penelitian ini. Nekrosis merupakan tipe kerusakan sel yang bersifat *irreversible*. sebab mengarah pada kematian sel (Guicciardi *et al.*, 2013). Mekanisme terjadinya

nekrosis pada hepar akibat overdosis parasetamol meliputi beberapa tahap. Mekanisme ini dimulai dengan aktivitas sitokrom P-450 terhadap metabolit reaktif yang mengakibatkan penurunan aktivitas GST dan deplesi glutation. Jumlah glutation yang berkurang ini diikuti dengan meningkatnya pembentukan oksigen reaktif seperti hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ), anion superoksida ( $O_2^-$ ), radikal hidroksil ( $OH^\cdot$ ) dan nitrogen reaktif seperti peroksinitrit ( $ONOO^-$ ) pada hepatosit. Selanjutnya, terjadi transisi permeabilitas mitokondrial yang menyebabkan tekanan oksidatif semakin bertambah, menghilangkan potensial membran mitokondria dan menghilangkan kemampuan mitokondria untuk mensintesis ATP. Hal ini menyebabkan hepatosit kehilangan viabilitas dan akan berakhir dengan nekrosis (Hinson *et al.* 2010),

Sel yang mengalami nekrosis akan mengalami perubahan nukleus. Berdasarkan Kumar *et al.* (2010), karakteristik dari perubahan nukleus ini ditentukan berdasarkan DNA yang rusak dari sel tersebut. Karakteristik ini terbagi menjadi 3, yaitu piknosis (inti mengkerut), karioreksis (inti terfragmentasi) dan kariolisis (inti meluruh). Sel yang mengalami piknosis memiliki nukleus yang menyusut dan kromatin yang memadat. Kariolisis terjadi ketika sel kehilangan DNA akibat degradasi, sehingga sel terlihat tidak memiliki nukleus pada sediaan histologis. Karioreksis terjadi ketika nukleus yang telah menyusut mengalami fragmentasi seperti yang terlihat pada sediaan sayatan organ hepar kelompok kontrol pelarut, kelompok ekstrak 115 mg  $kg^{-1}$  dan kelompok ekstrak 230 mg  $kg^{-1}$ .

Pemberian ekstrak metanol buah lakum membantu proses regenerasi kerusakan hepar tikus putih akibat induksi parasetamol dalam dosis toksik, terutama pada kelompok yang diberi ekstrak metanol buah lakum dengan dosis 230 mg  $kg^{-1}$  (P2). Hal ini dibuktikan dengan adanya peningkatan rerata persentase hepatosit normal dan penurunan rerata persentase hepatosit nekrosis pada kelompok tersebut apabila dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif dan kontrol pelarut. Hasil penelitian ini sesuai dengan Kumar *et al.* (2011) yang menyatakan pemberian ekstrak etanol seluruh bagian tumbuhan lakum dosis 200 mg  $kg^{-1}$  mampu meningkatkan kadar enzim antioksidan serta mengembalikan histologi hepar yang mengalami kerusakan akibat pemberian nitrobenzen.

Adanya peningkatan rerata persentase hepatosit normal dan penurunan rerata persentase hepatosit nekrosis terutama pada kelompok ekstrak 230 mg  $kg^{-1}$  ini diduga disebabkan oleh kandungan metabolit sekunder dalam ekstrak metanol buah lakum. Kandungan metabolit sekunder tersebut yaitu golongan fenolik, flavonoid triterpenoid dan alkaloid (Wulandari *et al.* 2018). Berdasarkan Amirudin

(2009), flavonoid bersifat antioksidan karena memiliki gugus hidroksil ( $-OH$ ) pada struktur molekulnya. Atom  $H^+$  dari gugus  $-OH$  pada flavonoid akan didonorkan pada radikal bebas sehingga menjadi netral.

Berbagai penelitian juga melaporkan bahwa golongan senyawa triterpenoid memiliki aktivitas antioksidan yang dibuktikan dengan adanya kemampuan triterpenoid untuk mencegah ataupun memperbaiki kerusakan hepar pada hewan uji yang diinduksi zat toksik (Grace-Lynn *et al.* 2012; Marzouk 2009). Senyawa triterpenoid mendonorkan atom  $H^+$  dari gugus COOH kepada NAPQI sehingga NAPQI bersifat non-aktif.

Berdasarkan Wijayanti *et al.* (2009), senyawa fenolik juga bersifat antioksidan karena berperan sebagai donor hidrogen pada radikal bebas, sehingga radikal bebas tersebut menjadi stabil dan tidak reaktif untuk membentuk radikal bebas baru. Fahrudin *et al.* (2015) menambahkan bahwa senyawa fenol berpotensi sebagai hepatoprotektor karena mampu menurunkan kadar enzim hepar di dalam darah, meningkatkan kadar glutation, menurunkan kadar *malondialdehyde* (MDA) hasil peroksidasi lipid membran dan mampu memperbaiki gambaran kerusakan hepatosit akibat reaksi berantai peroksidasi lipid (Zainuri & Wanandi 2012). Senyawa resveratrol dari golongan fenolik pada dari anggur (*Vitis vinifera*) yang masih satu famili dengan *C. trifolia* dilaporkan mampu memperbaiki hepatosit yang rusak akibat induksi  $CCl_4$  (Bhaumik *et al.* 2015). Stres oksidatif terjadi karena adanya ketidakseimbangan antara radikal bebas dengan antioksidan. Apabila kadar MDA meningkat, maka kadar glutation akan menurun.

Kemampuan fenolik yang terkandung dalam ekstrak metanol buah lakum untuk menurunkan kadar enzim hepar di dalam darah dibuktikan dengan penelitian Wulandari *et al.* (2018). Penelitian tersebut menunjukkan bahwa kadar SGOT (*serum glutamic oxaloacetic transaminase*) dan SGPT (*serum glutamic-pyruvic transaminase*) dalam darah tikus putih jantan galur Wistar yang telah diinduksi parasetamol menurun setelah diinduksi ekstrak metanol buah lakum dengan dosis 115 mg  $kg^{-1}$ , 230 mg  $kg^{-1}$  dan 345 mg  $kg^{-1}$ . Rerata kadar SGOT tikus putih pada penelitian tersebut menurun sebanyak 59,1 U/L (kelompok ekstrak 115 mg  $kg^{-1}$ ), 78,4 U/L (kelompok ekstrak 230 mg  $kg^{-1}$ ) dan 57,4 U/L (kelompok ekstrak 345 mg  $kg^{-1}$ ). Rerata kadar SGPT tikus putih juga mengalami penurunan sebanyak 43,9 U/L (kelompok ekstrak 115 mg  $kg^{-1}$ ), 50,1 U/L (kelompok ekstrak 230 mg  $kg^{-1}$ ) dan 41,2 U/L (kelompok ekstrak 345 mg  $kg^{-1}$ ).

Kecilnya persentase hepatosit normal pada kelompok ekstrak 115 mg  $kg^{-1}$  diduga karena dosis 115 mg  $kg^{-1}$  ekstrak metanol buah lakum yang diberikan selama 7 hari ini belum mampu untuk mengikat NAPQI di dalam hepar, sehingga

NAPQI masih bersifat reaktif dan menyebabkan kerusakan pada struktur mikroanatomi hepar hewan uji. Hasil yang serupa pada kelompok ekstrak 345 mg kg<sup>-1</sup> diduga disebabkan karena dosis 345 mg kg<sup>-1</sup> ekstrak metanol buah lakum yang diberikan selama 7 hari menyebabkan overdosis pada hewan uji. Hal ini didukung dengan pernyataan Decker (1997) bahwa selain bersifat antioksidan, beberapa metabolit sekunder golongan fenolik juga dapat bersifat prooksidan. Kadar flavonoid yang berlebihan di dalam tubuh dapat dioksidasi oleh enzim peroksidase membentuk senyawa radikal bebas yang dapat mengoksidasi glutathion pada hepatosit.

## Simpulan

Ekstrak metanol buah *C. trifolia* mampu memperbaiki kerusakan hepatosit tikus putih yang telah diinduksi parasetamol. Hal ini dibuktikan dengan jumlah rerata persentase hepatosit normal lebih tinggi pada perlakuan ekstrak metanol buah lakum. Dosis optimal ekstrak metanol buah *C. trifolia* yang dapat meregenerasi kerusakan hepatosit tikus putih akibat pemberian parasetamol dosis 750 mg kg<sup>-1</sup> yaitu 230 mg kg<sup>-1</sup>. Hal ini dapat dilihat dari nilai rerata persentase hepatosit normal, degenerasi dan nekrosis yang mendekati kelompok kontrol normal dan kontrol positif.

## Daftar Referensi

- Amirudin, R., 2009. *Fisiologi dan Biokimia Hati: Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam Edisi V*. Jakarta: Interna Publishing.
- Bhaumik A., Das S., Acharjee S., Das, P., Mani, G. 2015. The bioactive molecule resveratrol (RVTL) obtained from the black grapes (*Vitis vinefera*) act as potential hepatocytes regenerators and cytotoxic agent. *Der Pharma Chemica*, 7(10):112-127
- Decker, E.A., 1997. Phenolics: prooxidants or antioxidants?, *Nutrition Reviews*, 55, pp.396-407.
- Fahrudin, F., Solihin, D.D., Kusumorini, N. & Ningsih, S., 2015. Isolasi Efektifitas Ekstrak Gambur (*Uncaria gambir* (Hunter) Roxb.) sebagai Hepatoprotektor pada Tikus (*Rattus norvegicus* L.) yang Diinduksi CCl<sub>4</sub>, *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 13(2), pp.115-122.
- Garber, J.C., Barbee, R.W., Bielitzki, J.T., Clayton, L.A., Donovan, J.C., Kohn, F.F., Lipman, N.S., Locke, P., Melcher, J., Quimby, F.W., Turner, P.V., Wood, G.A. & Würbel, H., 2011. *Guide for the Care and Use of Laboratory Animals*. Washington DC: The National Academies Press.
- Grace-Lynn, C., Darah, I., Chen, Y., Latha, L.Y., Jothy, S.L. & Sasidharan, S., 2012. *In vitro* antioxidant activity potential of lantadene A, a pentacyclic triterpenoid of lantana plants, *Molecules*, 17(9), pp.11185-11198.
- Gupta, A., Bhardwaj, A., Gupta, J. & Bagchi, A., 2012. Antiimplantation activity of petroleum ether extract of leaves of *Cayratia trifolia* Linn. on female Albino rat, *Asian Pac J Trop Biomed*, 2(1), pp.S197-S199.
- Guicciardi, M.E., Malhi, H., Mott, J.L. Gores, G.J. 2013. Apoptosis and Necrosis in the Liver. *Comprehensive Physiology* 3(2): 1-61. doi:10.1002/cphy.c120020
- Henderson, C.J., Wolf, C.R., Kitteringham K., Powell, H., Otto, D., Parks B.K. 2000. Increased resistance to acetaminophen hepatotoxicity in mice lacking glutathione S- transferase Pi. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* v 97(23): 12741–12745
- Hendri, Yanti, A.H., Setyawati, T.R. 2016. Aktivitas Hepatoprotektif Ekstrak Metanol Buah Kemunting (*Rhodymyrtus tomentosa* [Aiton] Hassk.) pada Struktur Mikroanatomi Hepar Mencit yang Diinduksi Alkohol, [Skripsi], Fakultas MIPA Universitas Tanjungpura, Pontianak.
- Hinson, J.A., Roberts, D.W. & James, L.P., 2010. Mechanisms of Acetaminophen-Induced Liver Necrosis, *Handb Exp Pharmacol.*, 196, pp.369-405.
- Hodgman, M.J., Garrard, A.R. 2012. A review of acetaminophen poisoning. *Crit. Care Clin.* 8(4):499-516. doi:10.1016/j.ccc.2012.07.006.
- Ikatan Sarjana Farmasi Indonesia, 2006. *ISO Indonesia: Informasi Spesialite Obat Indonesia Edisi 41*. Jakarta: ISFI.
- Jones, T.C., Hunt, R.D. & King, N.W., 1996. *Veterinary Pathology 6<sup>th</sup> Edition*, new Jersey: Blackwell Publishing Professional.

- Kumar, V., Abbas, A.K., Aster, J.C. & Fausto, N., 2010. *Robbins and Cotran pathologic basis of disease 8<sup>th</sup> ed.* Philadelphia: Saunders.
- Kumar, D.G., Sonumol, V.M., Rathi, M.A., Meenakshi P., Gopalakrishnan, V.K. 2011. Hepatoprotective Activity of *Cayratia trifolia* (L.) Domin Against Nitrobenzene Induced Hepatotoxicity. *Latin American Journal of Pharmacy* 30 (3): 546-9.
- Kurniadi, E., Rousdy, D.W. & Yanti, A.H., 2018. Aktivitas Nefroprotektif Ekstrak Metanol Buah Lakum (*Cayratia trifolia* (L.) Domin) terhadap Induksi Parasetamol, *Jurnal Labora Medika*, 2(1), pp.14-21.
- Li, Y., Wang, E., Patten, C.J., Chen, L. & Yang, C.S., 1994. Effect of Flavonoids on Cytochrome P450-Dependent Acetaminophen Metabolism in Rats and Human Liver Microsomes, *The American Society for Pharmacol. and Experimental Ther.*, 22(4), pp.566-571.
- Lobo, V., Patil, A., Phatak, A. & Chandra, N., 2010. Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health, *Pharmacognosy Reviews*, 4(8), pp.118-128.
- Marzouk, A.M., 2009. Hepatoprotective Triterpenes from Hairy Root Cultures of *Ocimum basilicum* L., *Zeitschrift für Naturforschung C*, 64, pp.201-209.
- Mazaleuskaya L.L., Sangkuhi K., Thorn C.F., Fitzgerald C.A., Altman R.B., Klein T.E. 2015. Pathways of acetaminophen metabolism at the therapeutic versus toxic doses. *Pharmacogenet Genomics*. 25(8): 416–426. doi:10.1097/FPC.0000000000000150
- Purwitasari, R., Novianry, V. & Pratiwi, S.E., 2015. Efek Nefroprotektif Ekstrak Daun Karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa* [Aiton] Hassk.) terhadap Nefrotoksitas yang Diinduksi Asetaminofen', *Jurnal Mahasiswa PSPD FK Universitas Tanjungpura*, 3(1).
- Putri, R.P., Rousdy, D.W., Yanti, A.H. 2018. Aktivitas Hepatoprotektif Ekstrak Metanol Buah Lakum (*Cayratia trifolia* (L.) Domin) Terhadap Diameter Vena Sentralis, Lebar Sinusoid dan Berat Hepar Tikus Putih (*Rattus novergicus* L.) yang Diinduksi Parasetamol. *Protobiont* 7(3): 72-76
- Ridho, E.A., Sari, R. & Wahdaningsih, S., 2013. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Buah Lakum dengan Metode DPPH (2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil), *Jurnal Mahasiswa Farmasi Fakultas Kedokteran UNTAN*, 1(1).
- Satria, M.D., Sari, R. & Wahdaningsih, S., 2013. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak n-Heksan Buah Lakum (*Cayratia trifolia*) dengan Metode DPPH (2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil), *Jurnal Mahasiswa Farmasi Fakultas Kedokteran UNTAN*, 1(1).
- Suastika, P., 2011. Efek Pemberian Buah Merah (*Pandanus conoideus*) terhadap Perubahan Histopatologik Ginjal dan Hati Mencit Pasca Pemberian Parasetamol, *Buletin Veteriner Udayana*, 3(1), pp.39-44.
- Sulandi, A., Sari, R. & Wahdaningsih, S., 2013. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kloroform Buah Lakum dengan Metode DPPH (2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil), *Jurnal Mahasiswa Farmasi Fakultas Kedokteran UNTAN*, 1(1).
- Taub, R., 2004. Liver regeneration: from myth to mechanism, *Nature Reviews*, 5, pp.836-847.
- Tulandi, G.P., Sudewi, S. & Lolo, W.A., 2015. Validasi Metode Analisis untuk Penetapan Kadar Parasetamol dalam Sediaan Tablet secara Spektrofotometri Ultraviolet, *Pharmacon*, 4(4), pp.168-178.
- Wijayanti, W., Agustina, Y.Z. & Burhan, P., 2009. Minyak Atsiri dari Kulit Batang *Cinnamon burmannii* (Kayu Manis) dari Famili *Lauraceae* sebagai Insektisida Alami, Antibakteri dan Antioksidan, [Skripsi], Fakultas MIPA ITS, Surabaya.
- Wulandari, C., Rousdy, D.W. & Wardoyo, E.R.P., 2018. Potensi Ekstrak Metanol Buah Lakum Terhadap Nilai Serum Glutamat Oksaloasetat Transaminase (SGOT) dan Serum Glutamat Piruvat Transaminase (SGPT) Tikus yang Diinduksi Parasetamol, [Skripsi], Fakultas MIPA Universitas Tanjungpura, Pontianak.
- Zainuri, M. & Wanandi, S.I., 2012. Aktivitas spesifik *manganese superoxide dismutase* (MnSOD) dan katalase pada hati tikus yang diinduksi hipoksia sistemik: hubungannya dengan kerusakan oksidatif, *Media Litbang Kesehatan*, 22(2), pp.87-92.