

EFEK TABLET EKSTRAK KLOOROFIL DAUN KATUK (*Sauropus androgynus* (L.) Merr.) TERHADAP JUMLAH NEKROSIS HEPATOSIT
Studi Eksperimental pada Tikus Galur *Sprague Dawley* Jantan yang Diberi Pakan Mengandung Aflatoksin B1

Skripsi

untuk memenuhi sebagian persyaratan
mencapai gelar Sarjana Kedokteran



Oleh:

Alifia Ardhani

30102100015

FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG
SEMARANG

2025

SKRIPSI

EFEK TABLET EKSTRAK KLOOROFIL DAUN KATUK (*Sauropus androgynus* (L.)
Merr.) TERHADAP JUMLAH NEKROSIS HEPATOSIT
Studi Eksperimental pada Tikus Galur *Sprague Dawley* Jantan yang Diberi Pakan
Mengandung Aflatoksin B1

Yang dipersiapkan dan disusun oleh
Alifia Ardhani
30102100015

Telah dipertahankan di depan Dewan Penguji pada tanggal, 30 Januari 2025
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Susunan Tim Penguji

Pembimbing I



Dr. Suparmi, S.Si., M.Si.

Anggota Tim Penguji I



dr. Moch. Agus Suprijono M.Kes

Pembimbing II



Rinawati, SS., M.Hum

Anggota Tim Penguji II



Dr. dr. Minidiana Fasitawati, M.Sc., Sp.GK (K)



Dr. dr. Setyo Trisnadi, SH., Sp.KF

SURAT PERNYATAAN

Yang bertandatangan di bawah ini:

Nama : Alifia Ardhani

NIM : 30102100015

Dengan ini menyatakan bahwa skripsi yang berjudul:

“EFEK TABLET EKSTRAK KLOOROFIL DAUN KATUK (*Sauropus androgynus* (L.) Merr.) TERHADAP JUMLAH NEKROSIS HEPATOSIT (Studi Eksperimental pada Tikus Galur *Sprague Dawley* Jantan yang Diberi Pakan Mengandung Aflatoksin B1)”

Adalah benar hasil karya saya dan penuh kesadaran bahwa saya tidak melakukan tindakan plagiasi atau mengambil alih seluruh atau sebagian karya tulis orang lain tanpa menyebutkan sumbernya. Jika saya terbukti melakukan tindakan plagiasi, saya bersedia menerima sanksi sesuai aturan yang berlaku.

Semarang, 30 Januari 2025

A handwritten signature in black ink is written over a 10,000 Rupiah Indonesian banknote. The banknote features the number '10000' in large blue and red digits, and the word 'METERAI' (Stamp) in the center. The signature is written in a cursive style across the middle of the note.

Alifia Ardhani

PRAKATA

Assalamualaikum Wr. Wb.

Alhamdulillah rabbil 'aalamiin, puji dan syukur kepada Allah SWT atas segala berkat dan rahmat-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan laporan akhir skripsi dengan judul **“EFEK TABLET EKSTRAK KLOOROFIL DAUN KATUK (*Sauropus androgynus* (L.) Merr.) TERHADAP JUMLAH NEKROSIS HEPATOSIT (Studi Eksperimental pada Tikus Galur *Sprague Dawley* Jantan yang Diberi Pakan Mengandung Aflatoksin B1)”** yang merupakan salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Kedokteran pada Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung. Tak lupa shalawat serta salam penulis hanturkan kepada Nabi Muhammad SAW beserta keluarga-Nya, sahabat- Nya, hingga kita pengikut-Nya.

Penulis menyadari akan berbagai kekurangan atau ketidaksempurnaan dari skripsi, yang disebabkan keterbatasan pengetahuan penulis, untuk itu berbagai kritik dan saran yang bersifat membangun demi penyempurnaan skripsi ini akan sangat penulis harapkan. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi semua pihak yang berkepentingan.

Penulis ingin mengungkapkan rasa terima kasih yang sebesar-besanya kepada pihak yang telah membantu penulis dalam proses penelitian ini, yaitu:

1. Dr. dr. Setyo Trisnadi, S.H, Sp. KF selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung.
2. Dr. Suparmi, S.Si., M.Si. dan Rinawati, SS., M.Hum selaku pembimbing skripsi yang telah sabar dan penuh kesanggupan meluangkan waktu, memberikan bimbingan saran dan motivasi sehingga penyusunan skripsi ini dapat terselesaikan.
3. dr. Moch. Agus Suprijono M.Kes dan Dr. dr. Minidian Fasitasari, M.Sc., Sp.GK(K) selaku dosen penguji diskusi proposal, yang telah membimbing dan memberikan ilmu serta masukan selama penyusunan skripsi ini.
4. Ibunda Suhartati dan Ayahanda Anung Sayogo, Kakak Daniswara Agung Pramana serta Adik Kanya Widya Kusuma yang telah memberikan kasih

sayang, fasilitas, dukungan dan doa yang tiada henti selama penyusunan skripsi ini.

5. Serta semua pihak yang tidak dapat saya sebutkan satu per satu yang telah membantu dalam penyelesaian skripsi ini baik secara langsung ataupun tidak langsung.

Sebagai akhir kata dari penulis, penulis hanya bisa berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi kita semua.

Wassalamu'alaikum Wr. Wb.

Semarang, 30 Januari 2025

Alifia Ardhani

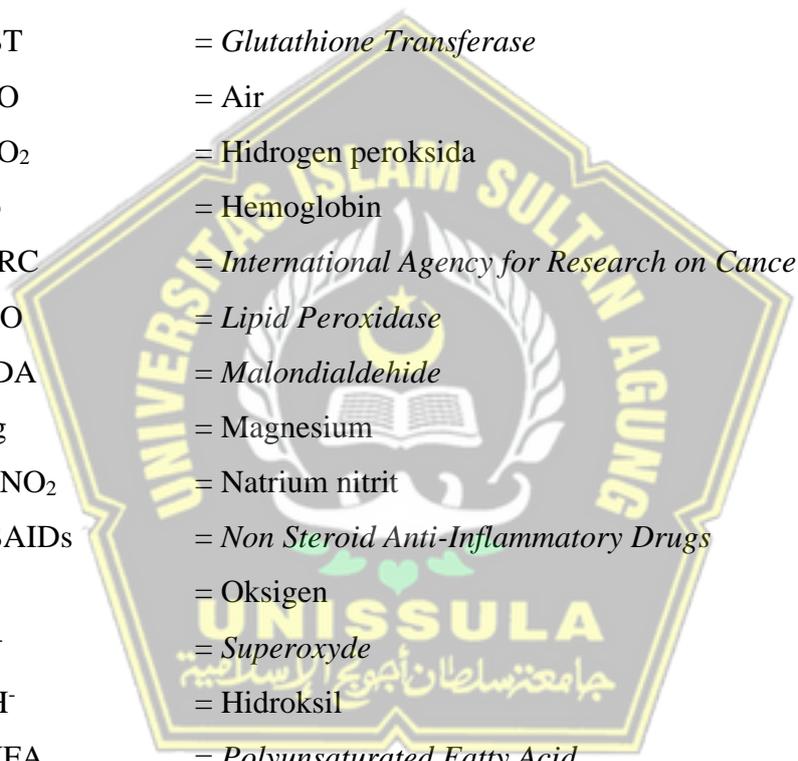
DAFTAR ISI

HALAMAN PERSETUJUAN.....	ii
SURAT PERNYATAAN.....	iii
PRAKATA	iv
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR SINGKATAN.....	ix
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
INTISARI	xiii
BAB I.....	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah.....	3
1.3. Tujuan Penelitian.....	4
1.3.1. Tujuan Umum.....	4
1.3.2. Tujuan Khusus	4
1.4. Manfaat Penelitian.....	5
1.4.1. Manfaat Teoritis.....	5
1.4.2. Manfaat Praktis	5
BAB II	6
2.1. Jumlah Nekrosis Hepatosit.....	6
2.1.1. Deskripsi Hepar	6
2.1.2. Fungsi Hepar	6
2.1.3. Histologi Hepar.....	9
2.1.4. Histopatologi Hepar	10
2.1.5. Faktor yang Mempengaruhi Kerusakan Hepar	11
2.2. Tablet Ekstrak Klorofil Daun Katuk	14
2.2.1. Daun Katuk	14
2.2.2. Klorofil.....	16

2.2.2.1. Definisi Klorofil	16
2.2.2.2. Struktur Klorofil.....	16
2.2.2.3. Fungsi Klorofil	17
2.2.3. Tablet Klorofil	18
2.3. Aflatoksin B1	19
2.3.1. Deskripsi Aflatoksin B1.....	19
2.3.2. Metabolisme Aflatoksin B1	19
2.4. Silymarin	20
2.5. Efek Pemberian Tablet Ekstrak Klorofil Daun Katuk terhadap Jumlah Nekrosis Hepatosit	21
2.6. Kerangka Teori.....	23
2.7. Kerangka Konsep.....	24
2.8. Hipotesis.....	24
BAB III.....	25
3.1. Jenis dan Rancangan Penelitian	25
3.2. Variabel dan Definisi Operasional	25
3.2.1. Variabel Penelitian.....	25
3.2.1.1. Variabel Bebas	25
3.2.1.2. Variabel Tergantung.....	25
3.2.2. Definisi Operasional	25
3.2.2.1. Tablet Ekstrak Klorofil Daun Katuk.....	25
3.2.2.2. Jumlah Nekrosis Hepatosit.....	26
3.3. Subjek Uji.....	26
3.3.1. Kriteria Inklusi	27
3.3.2. Kriteria Ekslusi	27
3.3.3. Kriteria <i>Drop Out</i>	28
3.4. Instrumen dan Bahan Penelitian.....	28
3.4.1. Instrumen Penelitian	28
3.4.2. Bahan Penelitian	28
3.5. Cara Penelitian	28

3.5.1. Persiapan Larutan Uji dari Tablet Ekstrak Klorofil Daun Katuk	28
3.5.2. Pengajuan <i>Ethical Clearance</i>	29
3.5.3. Proses Pembuatan Pakan yang Mengandung Aflatoksin B1 ..	29
3.5.4. Pelaksanaan Penelitian	30
3.5.4.1. Aklimatisasi	30
3.5.4.2. Pembagian Kelompok	30
3.5.4.3. Pembuatan Preparat Histologi	31
3.5.4.4. Pembacaan Preparat Histologi	33
3.6. Alur Penelitian	34
3.7. Tempat dan Waktu	35
3.7.1. Tempat Penelitian	35
3.7.2. Waktu Penelitian	35
3.8. Analisis Data	35
BAB IV	37
4.1. Hasil Penelitian	37
4.1.1. Deskripsi Data	37
4.1.2. Analisis Statistik	41
4.2. Pembahasan	42
BAB V	48
5.1. Kesimpulan	48
5.2. Saran	49
DAFTAR PUSTAKA	50
DAFTAR LAMPIRAN	55

DAFTAR SINGKATAN



AFB1	= Aflatoksin B1
ATP	= <i>Adenosine Triphosphate</i>
CMC-Na	= <i>Carboxymethyl Cellulose Sodium</i>
CO ₂	= Karbondioksida
CYP450	= sitokrom P-450
Fe	= ferrum
GSH	= <i>Glutathione</i>
GST	= <i>Glutathione Transferase</i>
H ₂ O	= Air
H ₂ O ₂	= Hidrogen peroksida
Hb	= Hemoglobin
IARC	= <i>International Agency for Research on Cancer</i>
LPO	= <i>Lipid Peroxidase</i>
MDA	= <i>Malondialdehyde</i>
Mg	= Magnesium
NaNO ₂	= Natrium nitrit
NSAIDs	= <i>Non Steroid Anti-Inflammatory Drugs</i>
O ₂	= Oksigen
O ₂ ⁻	= <i>Superoxyde</i>
OH ⁻	= Hidroksil
PUFA	= <i>Polyunsaturated Fatty Acid</i>
ROS	= <i>Reactive Oxygen Species</i>
TEKDK	= Tablet Ekstrak Klorofil Daun Katuk

DAFTAR TABEL

Tabel 4.1 Gambaran histopatologi hepar pada berbagai kelompok perlakuan sesuai dengan gambar 4.1	39
Tabel 4.2 Hasil Rerata Jumlah Nekrosis Hepatosit, Uji Kolmogorov-Smirnov, Levene Test, Kruskal Wallis	41



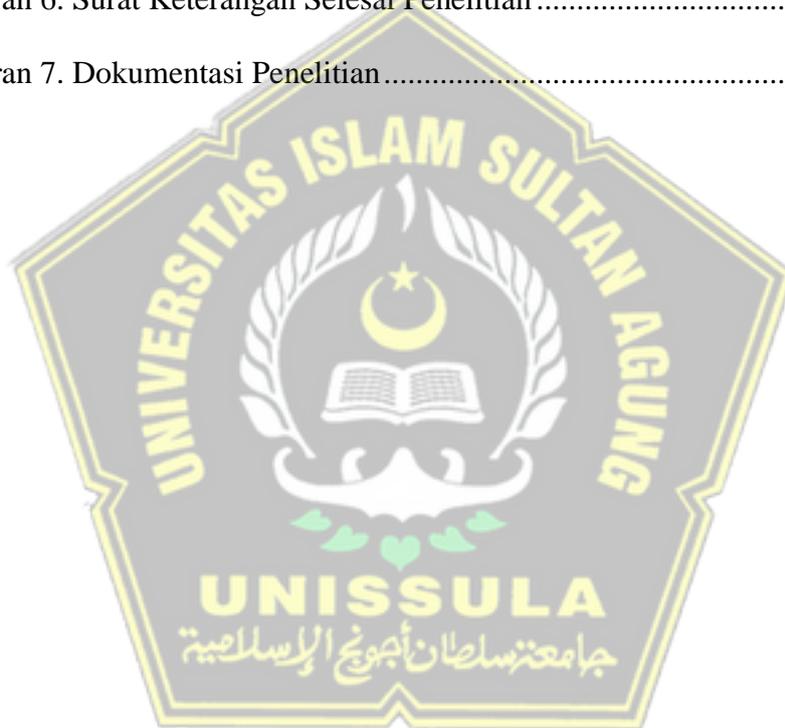
DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Histologi Hepar Normal (Eroschenko, 2015)	9
Gambar 2.2 Tanaman Katuk (<i>Sauropus androgynus</i> (L.) Merr.	15
Gambar 2.3 Kerangka Teori Penelitian.....	23
Gambar 2.4 Kerangka Konsep Penelitian	24
Gambar 3.1 Alur Penelitian.....	34
Gambar 4.1 Hasil pengamatan histopatologi hepar pada berbagai kelompok perlakuan.....	38
Gambar 4.2 Jumlah nekrosis hepatosit pada berbagai kelompok perlakuan	40



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil Pengamatan Preparat Hepar	55
Lampiran 2. Hasil Analisa Statistik	60
Lampiran 3. Ethical Clearance	65
Lampiran 4. Surat Izin Penelitian.....	66
Lampiran 5. Surat Keterangan Bebas Peminjaman Laboratorium.....	67
Lampiran 6. Surat Keterangan Selesai Penelitian	68
Lampiran 7. Dokumentasi Penelitian	69



INTISARI

Nekrosis hepatosit merupakan kematian sel tidak terprogram akibat stres oksidatif karena paparan zat toksik seperti aflatoksin B1 (AFB1). Antioksidan diperlukan untuk mengatasi stres oksidatif, contohnya daun katuk (*Sauropus androgynus* (L.) Merr.) yang mengandung klorofil. Namun, efek tablet ekstrak klorofil daun katuk (TEKDK) terhadap jumlah nekrosis hepatosit pada tikus yang diberi pakan mengandung AFB1 belum banyak diteliti. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek TEKDK terhadap jumlah nekrosis hepatosit tikus galur *Sprague Dawley* jantan yang diberi pakan mengandung AFB1.

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental dengan *post-test only control group design* menggunakan tikus galur *Sprague Dawley* jantan sebanyak 48 ekor. Tikus dibagi ke dalam 8 kelompok yaitu kelompok sehat (KS) diberi pakan standar; kontrol negatif (K-) diberi pakan mengandung AFB1; perlakuan (P1), (P2), (P3), (P4), dan (P5) masing-masing diberi pakan mengandung AFB1+TEKDK dengan dosis yang berbeda: 0,016; 0,16; 1,6; 16; dan 160 mg/200 g BB/hari; kontrol positif (K+) diberi pakan mengandung AFB1+silymarin 46,9 mg/kg BB/hari selama 28 hari. Jumlah nekrosis hepatosit diamati dari preparat hepar pewarnaan H&E dengan mikroskop perbesaran 400× dalam 5 lapang pandang.

Rerata jumlah nekrosis hepatosit pada KS ($5,50 \pm 6,06$); K- ($0,00 \pm 0,00$); P1 ($2,17 \pm 5,31$); P2 ($0,00 \pm 0,00$); P3 ($1,67 \pm 4,08$); P4 ($0,00 \pm 0,00$); P5 ($0,00 \pm 0,00$); K+ ($1,67 \pm 4,08$) sel. Hasil uji *Kolmogorov-Smirnov* menunjukkan distribusi data tidak normal ($p < 0,05$). Hasil *Levene Test* diperoleh varian data tidak homogen ($p < 0,05$). Hasil uji *Kruskal Wallis* menunjukkan rerata jumlah nekrosis hepatosit diantara seluruh kelompok tidak berbeda signifikan ($p > 0,05$).

Kesimpulan penelitian ini adalah tidak terdapat efek TEKDK terhadap jumlah nekrosis hepatosit tikus galur *Sprague Dawley* jantan yang diberi pakan mengandung AFB1

Kata kunci: Tablet Ekstrak Klorofil Daun Katuk (TEKDK), Aflatoksin B1, Nekrosis Hepatosit

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Aflatoksin B1 (AFB1) merupakan produk metabolit sekunder yang dihasilkan oleh fungi *Aspergillus sp.* khususnya *A. flavus* dan *A. parasiticus*. Kontaminasi AFB1 dapat ditemukan pada produk pertanian seperti beras, sereal, jagung dan kacang tanah, khususnya jika penyimpanan yang kurang tepat seperti pada kondisi lembab. Paparan kontaminasi AFB1 pada masyarakat Indonesia diperkirakan melalui makanan yang berbahan dasar jagung dan kacang tanah seperti pada gado-gado, pecel, bakwan jagung, dan lainnya diperkirakan masyarakat Indonesia dapat terkena paparan AFB1 (Nugraha *et al.*, 2018). Pada tahun 1972, 1974, dan 1977 dilaporkan terjadi cemaran aflatoksin di Indonesia, namun tidak diketahui jumlah korban jiwa yang pasti (Broto, 2018). *International Agency for Research on Cancer* (IARC) tahun 2012, melaporkan bahwa AFB1 menyebabkan hepatotoksisitas dan hepatokarsinogenik pada manusia dan hewan.

Aflatoksin B1 menyebabkan peningkatan *reactive species oxygen* (ROS) melalui bioaktivasi sitokrom P-450 (CYP450) yang ada di hati (Marchese *et al.*, 2018). Akibatnya aktivitas enzim antioksidan menurun sehingga terjadi stres oksidatif. Souza *et al.* (2019) melaporkan bahwa pada kelompok hewan yang diberi pakan mengandung AFB1 sebanyak 1893 µg/kg BB, ditemukan tanda-tanda kerusakan hati yang signifikan. Pada hari ke-5

setelah pemberian pakan, terlihat perubahan patologis seperti anisositosis, infiltrasi lemak sedang, kematian hepatosit melalui apoptosis dan/atau nekrosis multifokal serta piknosis nuklear. Pada hari ke-10, tingkat keparahan kerusakan meningkat. Selain apoptosis dan nekrosis yang lebih menyebar, terjadi aktivasi sel ito. Pada bulan Juni 2016 di Tanzania dilaporkan terdapat 68 kasus dan sebanyak 20 diantaranya dinyatakan meninggal dunia. Kasus yang terjadi berkaitan dengan konsumsi makanan yang terkontaminasi AFB1 tingkat tinggi. Individu yang mengonsumsi makanan tersebut ditandai dengan penyakit kuning yang khas pada individu dengan penyakit hepar (Kamala *et al.*, 2018). Oleh karena itu, diperlukan upaya untuk mencegah kerusakan hepar lebih lanjut akibat paparan AFB1 dengan memanfaatkan bahan alami sebagai antioksidan dari luar tubuh.

Katuk (*Sauropus androgynus* (L.) Merr.) merupakan tanaman obat tradisional Indonesia yang banyak dibudidayakan sebagai tanaman hias ataupun dikonsumsi dalam bentuk sayuran. Daun katuk mengandung berbagai senyawa yang bersifat antioksidan antara lain tanin, saponin, flavonoid, alkaloid, protein, kalsium, fosfor, vitamin A, B, C (Tiara & Muchtaridi, 2018). Selain itu, Nurdin *et al.* (2009) melaporkan daun katuk juga mengandung klorofil sebesar 1509,1 mg/kg sehingga dapat digunakan sebagai antioksidan. Menurut Hsu *et al.*, (2013) klorofil daun dapat menghambat pembentukan ROS dengan menyumbangkan gugus hidroksil (OH⁻) sehingga menghentikan reaksi *lipid peroxidase* (LPO). Menurut Allameh *et al.* (2023) dampak akumulasi ROS pada hepar menyebabkan

disfungsi hingga nekrosis sel sehingga diperlukannya suatu antioksidan dari luar misalnya klorofil. Suparmi *et al.* (2016) melaporkan klorofil katuk mengandung aktivitas antioksidan yang dapat menurunkan malondialdehid (MDA), peningkatan kadar hemoglobin (Hb) dan ferritin pada tikus yang diinduksi natrium nitrit (NaNO_2) sehingga dapat digunakan sebagai antianemia. Akan tetapi, penelitian mengenai efek klorofil daun katuk terhadap jumlah nekrosis hepatosit akibat paparan AFB1 belum pernah diteliti sebelumnya.

Aktivitas hepatoprotektif dari suatu antioksidan dapat diamati berdasarkan jumlah nekrosis hepatosit. Hepatosit yang mengalami nekrosis akibat paparan AFB1 ditandai dengan adanya gambaran inti sel yang mengalami penyusutan bahkan menghilang disertai sitoplasma yang bewarna lebih eosinofilik (Ali *et al.*, 2021). Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek tablet ekstrak klorofil daun katuk (TEKDK) terhadap jumlah nekrosis hepatosit pada tikus yang diberi pakan mengandung AFB1.

1.2. Rumusan Masalah

Apakah tablet ekstrak klorofil daun katuk (*Sauropus androgynus* (L.) Merr.) memiliki efek terhadap jumlah nekrosis hepatosit pada tikus yang diberi pakan yang mengandung aflatoksin B1?

1.3. Tujuan Penelitian

1.3.1. Tujuan Umum

Mengetahui apakah terdapat efek tablet ekstrak klorofil daun katuk (*Sauropus androgynus* (L.) Merr.) terhadap jumlah nekrosis hepatosit tikus yang diberi pakan mengandung aflatoksin B1.

1.3.2. Tujuan Khusus

Tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Mengetahui jumlah nekrosis hepatosit pada tikus yang diberi pakan standar.
2. Mengetahui jumlah nekrosis hepatosit pada tikus yang diberi pakan mengandung aflatoksin B1.
3. Mengetahui jumlah nekrosis hepatosit pada tikus yang diberi pakan mengandung aflatoksin B1 dan tablet ekstrak klorofil daun katuk dengan dosis 0,016 mg/200 g BB.
4. Mengetahui jumlah nekrosis hepatosit pada tikus yang diberi pakan mengandung aflatoksin B1 dan tablet ekstrak klorofil daun katuk dengan dosis 0,16 mg/200 g BB.
5. Mengetahui jumlah nekrosis hepatosit pada tikus yang diberi pakan mengandung aflatoksin B1 dan tablet ekstrak klorofil daun katuk dengan dosis 1,6 mg/200 g BB.
6. Mengetahui jumlah nekrosis hepatosit pada tikus yang diberi pakan mengandung aflatoksin B1 dan tablet ekstrak klorofil daun katuk dengan dosis 16 mg/200 g BB.

7. Mengetahui jumlah nekrosis hepatosit pada tikus yang diberi pakan mengandung aflatoksin B1 dan tablet ekstrak klorofil daun katuk dengan dosis 160 mg/200 g BB.
8. Mengetahui jumlah nekrosis hepatosit pada tikus yang diberi pakan mengandung aflatoksin B1 dan silymarin dengan dosis 46,9 mg/200 g BB.
9. Mengetahui perbedaan jumlah nekrosis tikus yang diberi pakan mengandung aflatoksin B1 pada berbagai kelompok perlakuan.

1.4. Manfaat Penelitian

1.4.1. Manfaat Teoritis

Hasil penelitian ini dapat digunakan untuk memperluas wawasan keilmuan dan dapat menjadi bahan perkembangan penelitian selanjutnya mengenai efek pada pemberian tablet ekstrak klorofil daun katuk (*Sauropus androgynus* (L.) Merr.) terhadap jumlah nekrosis hepatosit tikus yang diberi pakan mengandung aflatoksin B1.

1.4.2. Manfaat Praktis

Hasil penelitian ini dapat mendorong pemanfaatan daun katuk (*Sauropus androgynus* (L.) Merr.) sebagai sumber antioksidan untuk mencegah hepatotoksisitas akibat paparan aflatoksin B1.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Nekrosis Hepatosit

2.1.1. Deskripsi Hepar

Hepar merupakan organ terbesar tubuh dengan berat sekitar 1,4 kg. Hepar berperan dalam metabolisme di dalam tubuh yang menghubungkan antara saluran pencernaan dengan organ-organ lain pada tubuh. Saluran cerna yang menyerap nutrisi akan diubah menjadi makronutrien seperti karbohidrat, lemak, vitamin, protein, dan mikronutrien seperti vitamin. Selain itu, hepar merupakan tempat detoksifikasi zat-zat berbahaya yang masuk ke dalam tubuh yang kemudian dieksresikan ke dalam empedu (Kumar *et al.*, 2018; Tortora, Gerard J., 2017).

2.1.2. Fungsi Hepar

Hati memiliki beberapa fungsi menurut Guyton & Hall (2016) diantaranya:

1) Metabolisme karbohidrat

Hati merupakan tempat penyimpanan glikogen dalam jumlah besar sehingga sangat penting dalam menjaga kadar glukosa darah normal. Hati juga dapat mensintesis glukosa dari senyawa selain karbohidrat seperti mengubah asam amino dan

asam laktat tertentu menjadi glukosa, dan dapat mengubah gula lain seperti fruktosa dan galaktosa menjadi glukosa.

2) Metabolisme lemak

Fungsi hati dalam metabolisme lemak diantaranya hati dapat memecah asam lemak untuk menghasilkan energi; mensintesis lipoprotein, yang mengangkut asam lemak, trigliserida, dan kolesterol ke dan dari sel-sel tubuh; mensintesis kolesterol; dan menggunakan kolesterol untuk membuat garam empedu; mensintesis lemak dari protein dan karbohidrat.

3) Metabolisme protein

Hepar mendeaminasi asam amino sehingga asam amino dapat digunakan untuk produksi ATP atau diubah menjadi karbohidrat atau lemak. Amonia beracun yang dihasilkan kemudian diubah menjadi urea yang kurang beracun, yang dikeluarkan melalui urin. Hepatosit juga mensintesis sebagian besar protein plasma, seperti globulin alfa dan beta, albumin, protrombin, dan fibrinogen.

4) Fungsi metabolik hati yang lain

Hati berperan sebagai tempat penyimpanan vitamin seperti vitamin A, vitamin D, dan vitamin B12. Hepatosit mengandung banyak protein yang disebut *apoferritin* yang berikatan dengan besi membentuk ferritin dan disimpan di hati. Hati juga membentuk zat-zat darah yang digunakan untuk koagulasi seperti fibrinogen,

prothrombin, globulin akselerator, faktor VII, dan beberapa faktor koagulasi lainnya. Selain itu, hati mengekskresikan Obat-obatan seperti sulfonamid, penisilin, ampisilin, dan eritromisin ke dalam empedu. Tidak hanya obat-obatan saja tetapi juga hormon dan zat-zat berbahaya diekskresikan oleh hati ke dalam empedu.

5) Pembentukan dan Eksresi Empedu

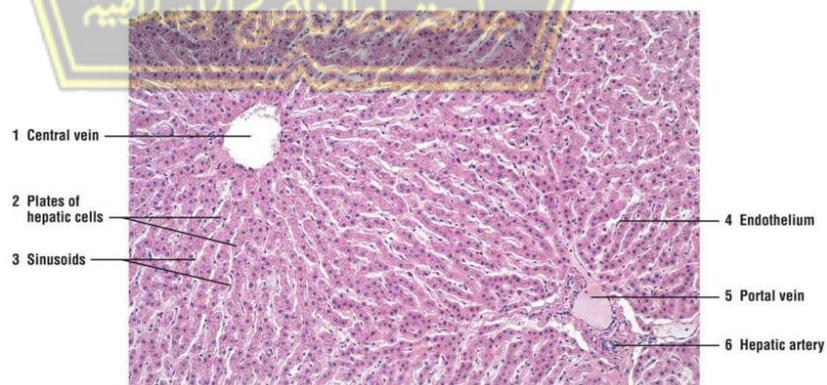
Hepar berfungsi mengekskresikan empedu yang mengandung unsur 97% air, elektrolit dan garam empedu. Sebanyak satu liter per hari empedu diekskresi ke dalam usus halus. Usus halus akan menyerap sebagian garam empedu dan mengalirkannya kembali ke hati.

6) Detoksifikasi

Hati berperan sebagai organ detoksifikasi dengan menetralkan zat-zat beracun dalam tubuh. Proses ini melibatkan enzim-enzim hati yang mengubah racun, obat-obatan, dan metabolit berbahaya menjadi senyawa yang lebih aman dan mudah dikeluarkan melalui urine atau empedu. Selain itu, hati juga membantu menguraikan alkohol, amonia, serta berbagai zat kimia dari makanan dan lingkungan, sehingga menjaga keseimbangan serta kesehatan tubuh.

2.1.3. Histologi Hepar

Hepar terbagi menjadi empat bagian atau lobus yaitu lobus kanan, lobus kiri, lobus quadratus, dan lobus kaudatus. Secara mikroskopik lobus hepar dibagi menjadi bagian yang disebut lobulus. Lobulus hati berbentuk heksagonal, dimana setiap lobulus mengandung hepatosit (Gambar 2.1). Hepatosit adalah sel epitel kuboid atau polihedral besar, dengan inti pusat bulat besar dan sitoplasma eosinofilik yang mengandung mitokondria. Bagian tengah setiap lobulus terdapat vena sentralis dan daerah perifer lobulus terdapat jaringan ikat, pembuluh limfatik, dan triad porta. Triad porta berisi cabang arteriol dari arteri hepatica yang mensuplai oksigen (O_2), cabang venula dari vena porta yang kaya nutrisi tapi rendah O_2 , dan satu atau dua duktus biliaris. Di sekitar vena sentral tersusun lempeng hepatosit yang berderet secara radier. Celah diantara lempeng-lempeng ini mengandung kapiler yang disebut dengan sinusoid (Eroschenko, 2015; Mescher, 2016).



Gambar 2.1 Histologi Hepar Normal (Eroschenko, 2015)

Sinusoid hepatic merupakan saluran darah yang berliku-liku dan melebar. Sinusoid dibatasi oleh 3 macam sel, yaitu sel endotel yang berinti pipih gelap sebagai pertukaran metabolit antara hepatosit dan darah, sel makrofag yang disebut sel kupffer, dan sel ito atau sel stelata hati sebagai sel penyimpanan lemak utama dan penyimpanan vitamin A dalam tubuh. Sinusoid muncul dari cabang perifer vena porta dan arteri hepatic kemudian menyatu pada vena sentralis lobulus sehingga aliran darah di hepar disebut asinus hepatic (Eroschenko, 2015; Mescher, 2016). Asinus hepatic dapat dibagi menjadi 3 zona, dengan zona I terletak paling dekat dengan arteriol hepatic dan venula hepatic sehingga paling banyak menerima darah yang kaya oksigen, zona II adalah zona perantara antara zona I dan III, sedangkan zona III terletak paling jauh sehingga darah menerima sedikit O₂. Zona III merupakan zona pertama yang terkena nekrosis iskemik dikarenakan kandungan O₂ yang rendah (Ovalle & Nahirney, 2020).

2.1.4. Histopatologi Hepar

Kerusakan hepar dapat disebabkan oleh berbagai faktor seperti infeksi virus, obat-obatan, paparan alkohol, dan paparan zat-zat berbahaya yang masuk ke dalam tubuh. Mekanisme kerusakan hepar secara histologi ditandai dengan adanya perubahan seluler berupa perubahan reversibel dan irreversibel. (Kumar *et al.*, 2018) melaporkan macam-macam kerusakan sel yang reversibel terdiri dari:

- 1) Degenerasi hidropik: terdapat timbunan air di dalam sitoplasma sehingga reticulum endoplasma melepar dan terlepas. Hal itu menyebabkan terbentuknya vakuola-vakuola kecil yang jernih di sitoplasma.
- 2) Degenerasi perlemakan: terdapat akumulasi lemak dalam hepar sehingga akan didapatkan gambaran hepatosit dengan vakuola kosong yang mendesak inti ke arah perifer.

Kerusakan sel reversibel dapat dikompensasi oleh hepatosit sehingga jejas mereda dan sel kembali normal. Jika kerusakan yang terjadi cukup berat dan berlangsung lama, maka sel tidak dapat mengkompensasi lagi sehingga terjadi perubahan irreversibel berupa nekrosis. Nekrosis adalah kematian sel akibat hilangnya integritas membran plasma sehingga isi sel keluar kemudian masuk ke rongga ekstraseluler. Menurut (Kumar *et al.*, 2018) nekrosis ditandai dengan adanya perubahan destruksi nukleus yang dibagi menjadi 3 pola, antara lain:

- 1) Kariolisis : warna basofil, kromatin memudar
- 2) Piknosis : peningkatan warna basofil, inti mengecil dan sel menyusut
- 3) Karioreksis : inti piknotik terpecah

2.1.5. Faktor yang Mempengaruhi Kerusakan Hepar

- 1) Infeksi virus

Infeksi virus seperti virus yang menyebabkan penyakit hepatitis termasuk virus hepatitis B, virus hepatitis C. Virus

hepatitis B menyebabkan nekroinflamasi hepatosit akibat aktivitas protein spesifik virus hepatitis B yang berintegrasi dengan gen hati, sedangkan virus hepatitis C diduga melalui aktivitas nekroinflamasi kronik dan sirosis hati (Rizzo *et al.*, 2022).

2) Obat-obatan

Obat-obatan yang bersifat hepatotoksik seperti *Non Steroid Anti-Inflammatory Drugs* (NSAIDs), antibiotik, antipiretik dapat menyebabkan kerusakan hepar jika dikonsumsi berlebihan ataupun dalam jangka waktu lama. Obat golongan NSAIDs seperti *acetaminophen* atau biasa kita ketahui sebagai parasetamol memiliki efek samping hepatotoksik. Jika dosis parasetamol yang dikonsumsi melebihi batas terapi, hepar akan kehabisan cadangan asam glukoronat dan asam sulfat yang biasanya digunakan untuk mengkonjugasi parasetamol. Akibatnya, terbentuklah metabolit reaktif berlebihan yang disebut N-asetil p benzoquinonimin (NAPQI). Selama glutathione masih tersedia dalam jumlah cukup, NAPQI akan dinetralkan sehingga tidak menyebabkan kerusakan hati. Namun, jika glutathione terpakai terus-menerus, maka terjadi pengurangan cadangan glutathione dan akumulasi NAPQI yang toksik. Metabolit tersebut dapat menyebabkan kerusakan hati dengan berikatan pada gugusan nukleofilik pada makromolekul hepatosit, seperti protein, yang mengakibatkan hepatotoksisitas dan nekrosis hati. Akumulasi NAPQI dalam tubuh juga dapat berinteraksi

dengan sel dan protein mitokondria, menyebabkan kerusakan struktur mitokondria dan menginduksi stress oksidatif dan menyebabkan kerusakan hepatosit (Yan *et al.*, 2018).

3) Alkohol

Alkohol (etanol) harus dimetabolisme di hati untuk dihilangkan dari tubuh. Proses ini melibatkan enzim-enzim seperti alkohol dehidrogenase dan aldehyd dehidrogenase yang mengubah alkohol menjadi asetaldehyd, dan kemudian menjadi asam asetat. Selama proses ini, radikal bebas seperti radikal hidroksil dapat terbentuk, yang berperan dalam kerusakan hepatosit. Jika alkohol dikonsumsi secara berlebihan dan jangka waktu yang lama dapat mengakibatkan penumpukan asetaldehyd di dalam hati sehingga hepatosit mengalami kematian (Betty & Christin, 2018).

4) Usia

Semakin bertambahnya usia, terjadi perubahan pada hepatosit meliputi perubahan volume, poliploidi, akumulasi lipofuscin di dalam hepatosit, penurunan area retikulum endoplasma halus, dan penurunan jumlah serta disfungsi mitokondria. Penurunan jumlah dan disfungsi mitokondria berdampak pada penurunan ATP sehingga dapat meningkatkan kerentanan terhadap cedera. Dalam urutan proses cedera dan regenerasi hati, penuaan mengurangi kemampuan regeneratif yang secara signifikan memperlambat pemulihan fungsi hati. Berbeda

dengan hati hewan muda yang dapat cepat pulih untuk mengembalikan homeostasis setelah cedera, hati hewan tua menunjukkan penurunan proliferasi yang signifikan. Kerusakan DNA terlihat pada hewan tua disebabkan oleh akumulasi kerusakan endogen seiring bertambahnya usia, yang terjadi akibat perbaikan yang tidak memadai sehingga meningkatkan cedera akibat paparan zat toksik (Kim *et al.*, 2015).

5) Merokok

Kebiasaan merokok bisa menjadi salah satu faktor penyebab kanker hati, terutama jika dikombinasikan dengan konsumsi alkohol dan obesitas. Rokok mengandung zat beracun dan hati berperan sebagai organ yang menetralkan racun yang masuk melalui darah. Selain itu, nikotin dapat meningkatkan kadar lemak dalam darah, yang berpotensi menyebabkan gangguan pada fungsi hati.

2.2. Tablet Ekstrak Klorofil Daun Katuk

2.2.1. Daun Katuk

Katuk memiliki nama latin *Sauropus androgynus* (L.) Merr. merupakan tanaman obat yang tersebar luas di wilayah Asia meliputi Indonesia, Thailand, Malaysia, Kamboja, Filipina, dan Vietnam (Zhang *et al.*, 2020). Katuk dapat tumbuh di tempat yang lembab dan suhu tinggi. Katuk juga dapat tumbuh sebagai tanaman pagar di pekarangan atau kebun sayur, pada lahan dengan ketinggian 5-1300 mdpl (Hayati

et al., 2016). Daun katuk merupakan daun tunggal dengan bentuk helaian daun lonjong sampai bundar dan terkadang lanset permukaan atasnya berwarna hijau gelap sedangkan permukaan bawah berwarna hijau muda sehingga tampak pertulangan daun yang jelas. Taksonomi dari katuk menurut Santosa (2013) adalah:

Kingdom : Plantae

Divisi : Spermatophyta

Sub divisi : Angiospermae

Class : Euphorbiales

Familia : Euphorbiaceae

Genus : Sauropus

Species : Sauropus androgynus (L.) Merr.



Gambar 2.2 Tanaman Katuk (*Sauropus androgynus (L.) Merr.*)

Daun katuk (*Sauropus androgynus (L.) Merr.*) memiliki banyak kandungan senyawa yaitu tannin, saponin, flavonoid, alkaloid, protein, fosfor, vitamin A, B, dan C sehingga berpotensi sebagai pengobatan

alami (Tiara & Muchtaridi, 2018). Selain itu, Nurdin *et al.* (2009) melaporkan daun katuk juga mengandung klorofil sebesar 1509,1 mg/kg sehingga dapat digunakan sebagai antioksidan. Daun katuk dapat digunakan untuk mencegah anemia (Suparmi *et al.*, 2016), meningkatkan produksi ASI (Nurjanah *et al.*, 2018), sebagai antimalaria (Ekasari *et al.*, 2022), dan lain-lain. Santosa (2013) melaporkan bahwa mengonsumsi daun katuk secara berlebihan mengakibatkan beberapa efek samping seperti rasa kantuk, sembelit, hingga gagal napas.

2.2.2. Klorofil

2.2.2.1. Definisi Klorofil

Klorofil adalah pigmen yang memberi warna berperan dalam proses fotosintesis. Klorofil memberikan warna hijau pada daun tumbuhan, alga hijau, dan bakteri fotosintetik. Klorofil digunakan untuk mengubah energi cahaya menjadi energi kimia pada tumbuhan secara otonom dengan bantuan cahaya matahari (Kwartiningsih *et al.*, 2021).

2.2.2.2. Struktur Klorofil

Struktur klorofil terdiri dari atom magnesium (Mg) sentral yang dikelilingi oleh struktur nitrogen yang tersusun dari empat cincin porfirin yang disebut dengan tetrapirrol. Pada cincin tetrapirrol melekat rantai hidrokarbon panjang yang dikenal sebagai rantai fitol. Rantai fitol menjadikan

klorofil sangat hidrofobik sehingga memungkinkan klorofil bergabung ke dalam membran lipid (Hsu *et al.*, 2013). Struktur klorofil sangat mirip dengan hemoglobin yang terdiri dari empat molekul pirol yang masing-masing dihubungkan oleh metina serta bagian sentral mengandung logam. Pada hemoglobin mengandung logam besi (Fe), sedangkan pada klorofil mengandung logam magnesium (Mg) (Rodwell *et al.*, 2018).

2.2.2.3. Fungsi Klorofil

Klorofil berperan dalam proses fotosintesis dengan cara menangkap energi dari cahaya untuk diubah menjadi energi kimia. Energi yang diambil digunakan untuk membentuk ATP dan NADPH yang kemudian berikatan dengan karbondioksida (CO₂) dan air (H₂O) membentuk karbohidrat (Kwartiningsih *et al.*, 2021). Klorofil mempunyai aktivitas antioksidan yang dapat dimanfaatkan oleh tubuh. Sebagai antioksidan, klorofil berperan dalam mencegah kerusakan oksidatif DNA dan mengurangi ROS dengan cara mengikat gugus hidroksil (OH⁻) yang dihasilkan oleh hidrogen peroksida (H₂O₂) sehingga mengurangi reaksi *lipid peroxide* (LPO) (Hsu *et al.*, 2013).

2.2.3. Tablet Klorofil

Tablet adalah bentuk sediaan yang padat dengan bentuk pipih dan permukaan yang rata atau cembung. Tablet mengandung satu atau lebih bahan aktif dengan atau tanpa zat tambahan yang sesuai. Zat tambahan berupa bahan pengisi, penghancur, pengikat, pelincir, dan pelicin. Tablet menjadi bentuk sediaan obat oral yang paling umum digunakan diantara bentuk sediaan obat oral lainnya. Hal ini disebabkan karena penggunaan tablet yang mudah dan praktis, mengurangi rasa dan bau tidak enak karena langsung ditelan, dosis akurat, volume yang kecil sehingga mudah dikemas, disimpan atau dibawa kemana-mana, tidak mudah ditumbuhi mikroba karena kadar air yang rendah serta dapat diproduksi dengan mudah (Tungadi, 2018). Metode pembuatan tablet dibagi menjadi tiga, yaitu metode granulasi basah, granulasi kering, dan kempa langsung. Metode yang paling sering digunakan adalah metode kempa langsung karena prosesnya sederhana, mudah, peralatan dan tenaga yang dibutuhkan lebih sedikit serta waktu pengerjaan yang cepat sehingga biaya yang dikeluarkan bisa diminimalisir (Zaman & Sopyan, 2020).

Penelitian Suparmi *et al.* (2016) membuktikan bahwa setelah pemberian TEKDK dengan dosis 0,016 mg/mL selama 14 hari dapat menurunkan kadar stress oksidatif pada tikus yang diinduksi NaNO_2 .

2.3. Aflatoksin B1

2.3.1. Deskripsi Aflatoksin B1

Aflatoksin B1 (AFB1) adalah hasil metabolit sekunder dari fungi jenis *Aspergillus sp* terutama *A. flavus* dan *A. parasiticus*. Metabolit ini banyak ditemukan pada beras, serealia, jagung, dan kacang tanah. International Agency for Research on Cancer (IARC) tahun 2012 melaporkan bahwa AFB1 merupakan zat toksik, genotoksik, dan karsinogenik bagi manusia maupun hewan.

2.3.2. Metabolisme Aflatoksin B1

Menurut Fan *et al.* (2021) dan Yilmaz & Bag (2022) metabolisme AFB1 dibagi menjadi 2 fase :

1) Fase I

Dalam tubuh manusia, AFB1 dimetabolisme oleh enzim CYP450 di hati. Aktivasi CYP450 melalui reaksi hidroksilasi mengubah AFB1 menjadi 8,9-epoksida yang reaktif. Proses ini menghasilkan superoksida (O_2^-) dan H_2O_2 , yang meningkatkan kerusakan oksidatif dengan meningkatkan LPO.

2) Fase II

Produk-produk metabolisme yang terbentuk selama fase I akan mengalami detoksifikasi melalui fase II. Pada fase II, AFB1 dan metabolitnya dikonjugasikan dengan asam glukoronat, asam sulfat, atau *glutathione* (GSH). Reaksi ini dikatalisis oleh enzim-enzim seperti *glutathione-S-transferases* (GST), yang menghasilkan

produk konjugat yang lebih mudah diekskresikan dari tubuh. Detoksifikasi ini membantu mengurangi toksisitas AFB1 dengan mengubahnya menjadi bentuk yang kurang berbahaya untuk tubuh. Jika paparan AFB1 terjadi secara berlebihan dan dalam jangka waktu yang panjang maka aktivitas enzim-enzim detoksifikasi dan status GSH dalam tubuh akan menurun. Dari kedua senyawa itu dapat membentuk ROS dalam jumlah besar. ROS yang dibentuk terus menerus mengakibatkan enzim antioksidan di tubuh menjadi lumpuh dan kemudian terjadi stress oksidatif, ROS akan bereaksi dengan *Polyunsaturated Fatty Acid* (PUFA) pada membran sel sehingga terjadi reaksi LPO dan mempercepat kematian hepatosit termasuk nekrosis hepatosit.

2.4. Silymarin

Silymarin berasal dari biji dan buah kering tanaman milk thistle (*Silybum marianum*) mengandung berbagai senyawa antioksidan berupa polifenol, flavonolignan, dan flavonoid. Silymarin dapat digunakan sebagai hepatoprotektor karena struktur fenofiliknya yang memungkinkan membentuk senyawa stabil dengan ROS. Silymarin berperan dalam menstabilkan permeabilitas membran melalui penghambatan peroksidasi lipid sehingga dapat meningkatkan kadar *gluthatione* (Aghemo *et al.*, 2022; Federico *et al.*, 2017). Silymarin bekerja secara efektif sebagai hepatoprotektor dengan

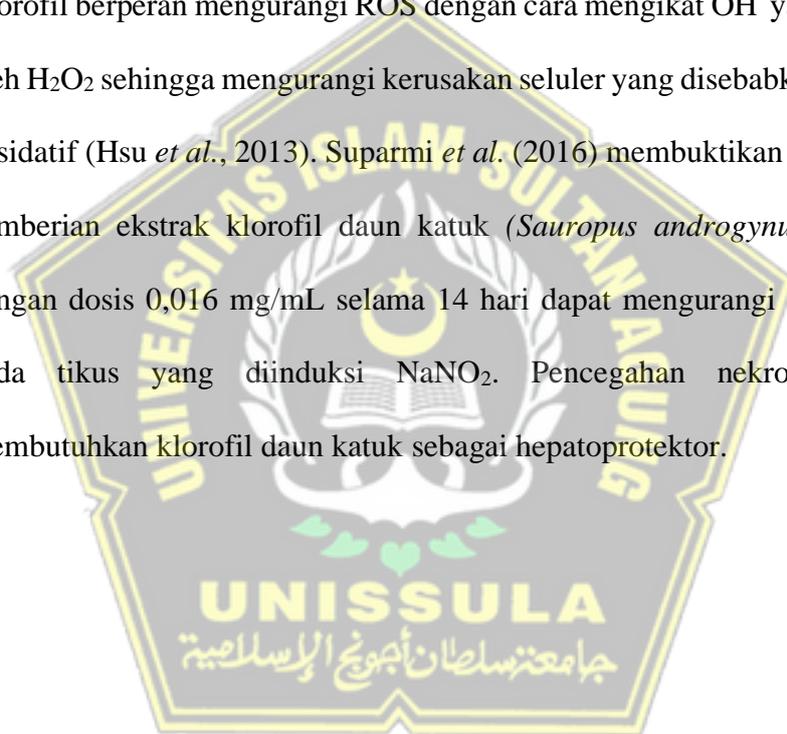
pemberian dosis sebanyak 46,9 mg/200 g BB selama 14 hari secara peroral (Wintariani & Suena, 2017).

2.5. Efek Pemberian Tablet Ekstrak Klorofil Daun Katuk terhadap Jumlah Nekrosis Hepatosit

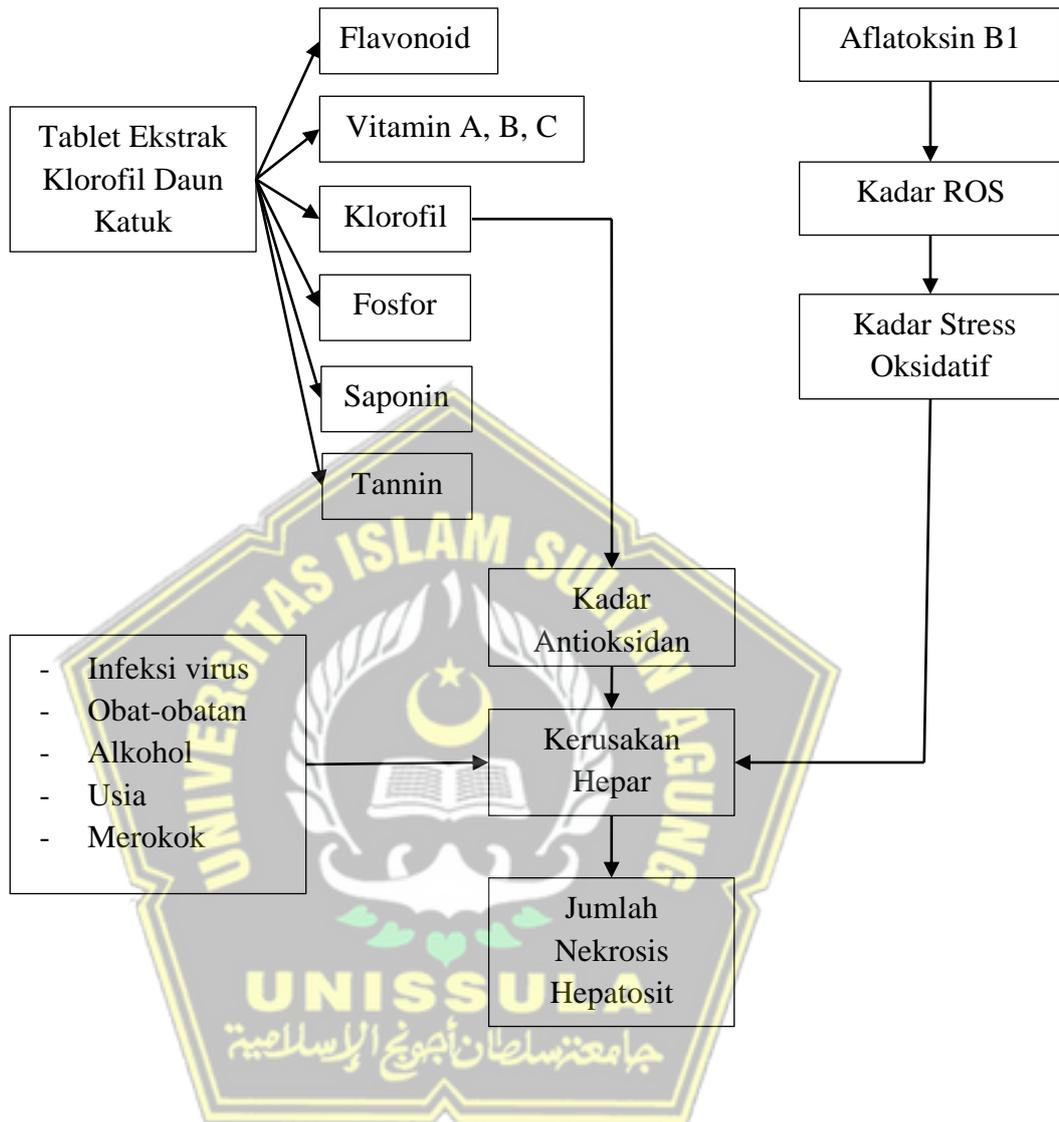
Daun katuk memiliki banyak kandungan senyawa yaitu tannin, saponin, flavonoid, fosfor, vitamin A, B, dan C sehingga berpotensi sebagai pengobatan alami (Tiara & Muchtaridi, 2018). Selain itu, Nurdin *et al.* (2009) melaporkan daun katuk juga mengandung klorofil. Klorofil daun katuk (*Sauropus androgynus* (L.) Merr.) mempunyai kandungan senyawa antioksidan sebagai pertahanan sel dalam melawan radikal bebas. Radikal bebas yang berasal dari oksigen disebut sebagai *reactive oxygen species* (ROS). ROS dapat timbul akibat paparan AFB1. Metabolisme AFB1 oleh CYP450 di hepar menghasilkan akumulasi ROS seperti O_2^- , OH^- , dan H_2O_2 . Dalam keadaan normal, ROS dapat diredam oleh antioksidan tubuh, tetapi bila produksi ROS terus berlanjut maka akan timbul stres oksidatif yang berpotensi menyebabkan kerusakan jaringan terutama pada hepar (Yilmaz & Bag, 2022). Hal itu dikarenakan jumlah antioksidan di dalam tubuh terbatas, sehingga diperlukan antioksidan dari luar tubuh untuk menyeimbangkan kelebihan jumlah oksidan.

Paparan AFB1 menyebabkan kerusakan hati termasuk nekrosis hepatosit. Mekanisme terbentuknya nekrosis setelah terpapar AFB1 akan menimbulkan stres oksidatif yang terjadi karena akumulasi ROS. Kemudian antioksidan alami dari tubuh akan mengikat ROS untuk didetoksifikasi.

Aktivitas antioksidan menurun ditandai dengan peningkatan kadar MDA secara signifikan dan penurunan aktivitas *glutathione* (GSH) dan superoksida dismutase (SOD) (Alameri *et al.*, 2023; Zhou *et al.*, 2019). Antioksidan berperan dalam menstabilkan radikal bebas dengan cara melengkapi kekurangan elektron yang dimiliki radikal bebas. Salah satu yang menghambat terjadinya reaksi berantai dari pembentukan radikal bebas adalah klorofil. Klorofil berperan mengurangi ROS dengan cara mengikat OH^- yang dihasilkan oleh H_2O_2 sehingga mengurangi kerusakan seluler yang disebabkan oleh reaksi oksidatif (Hsu *et al.*, 2013). Suparmi *et al.* (2016) membuktikan bahwa setelah pemberian ekstrak klorofil daun katuk (*Sauropus androgynus* (L.) Merr.) dengan dosis 0,016 mg/mL selama 14 hari dapat mengurangi stres oksidatif pada tikus yang diinduksi NaNO_2 . Pencegahan nekrosis hepatosit membutuhkan klorofil daun katuk sebagai hepatoprotektor.

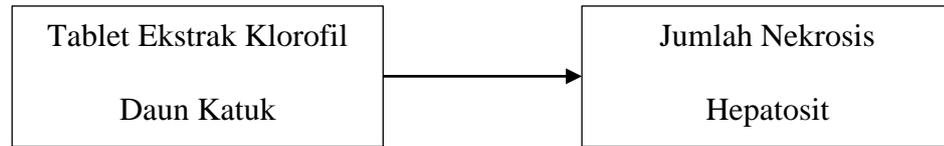


2.6. Kerangka Teori



Gambar 2.3 Kerangka Teori Penelitian

2.7. Kerangka Konsep



Gambar 2.4 Kerangka Konsep Penelitian

2.8. Hipotesis

TEKDK memiliki efek terhadap jumlah nekrosis hepatosit pada tikus yang diberi pakan yang mengandung AFB1.



BAB III

METODE PENELITIAN

3.1. Jenis dan Rancangan Penelitian

Jenis penelitian eksperimental dengan rancangan penelitian *post-test only control group design*.

3.2. Variabel dan Definisi Operasional

3.2.1. Variabel Penelitian

3.2.1.1. Variabel Bebas

Dosis tablet ekstrak klorofil daun katuk (TEKDK)

3.2.1.2. Variabel Tergantung

Jumlah nekrosis hepatosit

3.2.2. Definisi Operasional

3.2.2.1. Tablet Ekstrak Klorofil Daun Katuk

Tablet ekstrak klorofil daun katuk (TEKDK) diberikan secara oral dalam bentuk *suspense* dengan *Carboxymethyl Cellulose Sodium* (CMC-Na) sebanyak 5 ml per hari selama 28 hari. Dosis TEKDK yang digunakan dalam penelitian ini adalah 0,016 mg/200 g BB; 0,16mg/200 g BB; 1,6 mg/200 g BB; 16 mg/200 g BB; 160 mg/200 g BB (Suparmi *et al.*, 2016).

Skala = Nominal

3.2.2.2. Jumlah Nekrosis Hepatosit

Nekrosis hepatosit adalah kondisi kematian hepatosit yang bersifat *irreversibel* dan terjadi perubahan struktur sel seperti piknosis, karioreksis, dan kariolisis. Perubahan heptosit diamati menggunakan mikroskop pada lima lapang pandang dengan perbesaran 400× sehingga inti sel hepar yang akan diamati tampak dengan jelas (Taek *et al.*, 2020). Preparat diamati oleh dokter hewan di Departemen Patologi Fakultas Kedokteran Hewan UGM, Yogyakarta.

Skala = Rasio

3.3. Subjek Uji

Subjek uji pada penelitian ini adalah tikus putih jantan galur *Sprague-Dawley* yang didapatkan dari Laboratorium Pusat Studi Pangan dan Gizi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta. Sampel yang digunakan pada penelitian ini dibagi menjadi 8 kelompok dan besarnya didapat dari rumus Federer sebagai berikut (Prihanti, 2016):

$$(t - 1) (n - 1) \geq 15$$

$$(8 - 1) (n - 1) \geq 15$$

$$(7) (n-1) \geq 15$$

$$7n - 7 \geq 15$$

$$7n \geq 15 + 7$$

$$n \geq 22/7$$

$$n \geq 3,14 \approx 4$$

Keterangan:

t = jumlah kelompok perlakuan

n = jumlah subyek tiap kelompok

Untuk menghindari *loss to follow* maka dilakukan koreksi dengan cadangan (Prihanti, 2016):

$$\begin{aligned} \text{Cadangan} &= 10\% \times n \\ &= 10\% \times 8 \\ &= 0,8 \approx 1 \end{aligned}$$

Dengan menggunakan rumus federer, maka diperoleh minimal 4 ekor dan minimal 1 ekor cadangan untuk menghindari kemungkinan *loss of sample*. Maka dari itu, jumlah hewan uji tiap kelompok adalah 6 ekor tikus putih jantan galur *Sprague-Dawley*.

Penentuan sampel berdasarkan metode *simple random sampling* yaitu dengan memilih secara acak subjek uji yang didapat kemudian dimasukkan ke dalam kelompok kontrol atau kelompok perlakuan. Kriteria inklusi dan eksklusi yang digunakan sebagian berikut:

3.3.1. Kriteria Inklusi

- 1) Tikus putih jantan galur *Sprague Dawley*
- 2) Berat badan tikus ± 200 g
- 3) Tikus dalam keadaan sehat, gerak aktif
- 4) Tikus tidak ada luka atau cacat

3.3.2. Kriteria Eksklusi

- 1) Tikus yang mengalami kelainan anatomis atau kecacatan

2) Tikus yang sakit

3.3.3. Kriteria *Drop Out*

Tikus mati selama penelitian

3.4. Instrumen dan Bahan Penelitian

3.4.1. Instrumen Penelitian

Instrumen yang digunakan dalam penelitian ini adalah kandang hewan coba lengkap dengan tempat makan dan minumannya, timbangan digital, blender, *freeze dryer*, gunting bedah, sonde lambung, pinset, *tissue processor automatic*, mikroskop, *object glass*, tisu, *rotary microtome*, masker, *handscone*, *extruder*, *cabinet dryer*, dan beberapa alat gelas dan pipet.

3.4.2. Bahan Penelitian

Bahan-bahan penelitian meliputi tikus putih, TEKDK, AFB1, tablet silymarin, pakan tikus, akuades, bahan pembuat preparat histologis (*objek glass*, *buffer formalin 10%*, alkohol 70%, alkohol 80%, alkohol 95%, alkohol absolut, xylol, hematoksilin, eosin, entelan dan dek glass), dan minyak imersi.

3.5. Cara Penelitian

3.5.1. Persiapan Larutan Uji dari Tablet Ekstrak Klorofil Daun Katuk

TEKDK diperoleh dari tim penelitian Suparmi *et al.* (2023). Klorofil diekstrak menggunakan air dengan metode maserasi. Proses

pembuatan tablet menggunakan metode kempa langsung. Tablet yang diperoleh kemudian dilarutkan dengan aquades sesuai dengan dosis masing-masing kelompok perlakuan.

Dosis efektif TEKDK untuk tikus adalah 0,016 mg/200 g BB tikus (Suparmi *et al.*, 2016). Tablet disuspensi dengan Na-CMC konsentrasi 0,5%. Diberikan pada tiap kelompok I (KS), kelompok II (K-), kelompok III (P1) dengan dosis 0,016 mg/200 g, kelompok IV (P2) dengan dosis 0,16 mg/200 g, kelompok V (P3) dengan dosis 1,6 mg/200 g, kelompok VI (P4) dengan dosis 16 mg/200 g, kelompok VII (P5) dengan dosis 160 mg/200 g, dan kelompok kontrol Silymarin (K+). Pemberian tablet dilakukan secara oral sebanyak 5 ml per hari.

3.5.2. *Ethical Clearance*

Ethical clearance telah diperoleh dari Komite Bioetika Penelitian Kedokteran/Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang pada tanggal 30 Januari 2024 dengan No. 37/I/2024/Komisi Bioetik.

3.5.3. **Proses Pembuatan Pakan yang Mengandung Aflatoksin B1**

Langkah pertama yang dilakukan dalam pembuatan pakan yang mengandung AFB1 adalah menghaluskan pakan standart dan diletakkan dalam wadah. Kemudian tambahkan AFB1 sebanyak 10 mg/Kg pakan dan campur menggunakan *mixer*. Selanjutnya tambahkan air sedikit demi sedikit. Setelah semua tercampur rata, cetak menggunakan *extruder*. Lalu, keringkan dengan *cabinet dryer* pada

suhu 40°C selama 8 jam. Tikus diberi pakan sebanyak 20 g per hari pada pagi hari selama 28 hari.

3.5.4. Pelaksanaan Penelitian

3.5.4.1. Aklimatisasi

Penelitian dilakukan pada 48 ekor tikus putih jantan galur *Sparague-Dawley* yang telah disesuaikan dengan kriteria inklusi dan eksklusi. Tikus akan diberikan pakan dan minum standar selama selama 7 hari pertama pada pagi hari.

3.5.4.2. Pembagian Kelompok

Pada hari ke-8 tikus dibagi menjadi 8 kelompok secara acak terdiri dari 1 kelompok sehat, 2 kelompok kontrol, dan 5 kelompok perlakuan dengan masing-masing kelompok 6 ekor tikus. Pembagian kelompok tikus sebagian berikut:

- 1) Kelompok Sehat (KS): kelompok tikus yang hanya diberi pakan dan minum standar.
- 2) Kontrol Negatif (K-): kelompok tikus yang diberi pakan mengandung AFB1.
- 3) Perlakuan I (P1): kelompok tikus yang diberi pakan mengandung AFB1 dan TEKDK dengan dosis 0,016 mg/200 g BB.
- 4) Perlakuan II (P2): kelompok tikus yang diberi pakan mengandung AFB1 dan TEKDK dengan dosis 0,16 mg/200 g BB.

- 5) Perlakuan III (P3): kelompok tikus yang diberi pakan mengandung AFB1 dan TEKDK dengan dosis 1,6 mg/200 g BB.
- 6) Perlakuan IV (P4): kelompok tikus yang diberi pakan mengandung AFB1 dan TEKDK dengan dosis 16 mg/200 g BB.
- 7) Perlakuan V (P5): kelompok tikus yang diberi pakan mengandung AFB1 dan TEKDK dengan dosis 160 mg/200 g BB.
- 8) Kontrol Positif (K+): kelompok tikus yang diberi pakan mengandung AFB1 dan silymarin dengan dosis 46,9 mg/200 g BB.

3.5.4.3. Pembuatan Preparat Histologi

Setelah tikus dalam seluruh kelompok mendapat perlakuan selama 28 hari, tikus diterminasi dengan cara dislokasi servikal untuk diambil organ hatinya. Jaringan hati yang diambil dicuci dengan natrium klorida (NaCl) fisiologis. Fiksasi organ hati menggunakan buffer formalin 10% selama 2 jam. Kemudian dehidrasi jaringan menggunakan alkohol 70% selama 1,5 jam, alkohol 80% selama 2 jam, alkohol 95% selama 2 jam untuk menarik air di dalam jaringan. Setelah itu dilakukan *clearing* dengan larutan xylol selama 4 jam untuk menarik sisa alkohol

dalam jaringan. Lalu dilakukan infiltrasi paraffin untuk mengisi rongga-rongga yang ada pada jaringan. Langkah selanjutnya dilakukan *embedding* jaringan. Jaringan dimasukkan ke dalam cetakan blok yang sebelumnya sudah diisi paraffin cair kemudian diberi label di pinggirnya. Tunggu selama 20 menit lalu lepaskan cetakan dan diberi label permanen pada jaringan.

Lakukan pemotongan preparat menggunakan mikrotom dengan ketebalan 2-5 μ m. Masukkan potongan preparat ke waterbath yang berisi air hangat kemudian ambil dan letakkan di objek glas serta beri nomor perlakuan. Lakukan inkubasi di atas *hot plate* dengan suhu 20°C selama 15 menit untuk menguapkan kadar air yang terbawa pada hasil potongan sehingga dapat menempel kuat pada objek glass. Preparat diparafinisasi dengan xylol untuk menghilangkan sisa paraffin. Kemudian direhidrasi dengan alkohol absolut untuk membersihkan sisa xylol. Cuci dengan air mengalir untuk menghilangkan sisa alkohol. Setelah itu lakukan pengecatan dengan hematoxilin selama 7 menit untuk memberi warna biru pada inti sel dan pengecatan eosin untuk memberi warna merah pada sitoplasma, jaringan ikat, dan lainnya. Selanjutnya lakukan dehidrasi dengan alkohol 70% sampai 100%. Lakukan

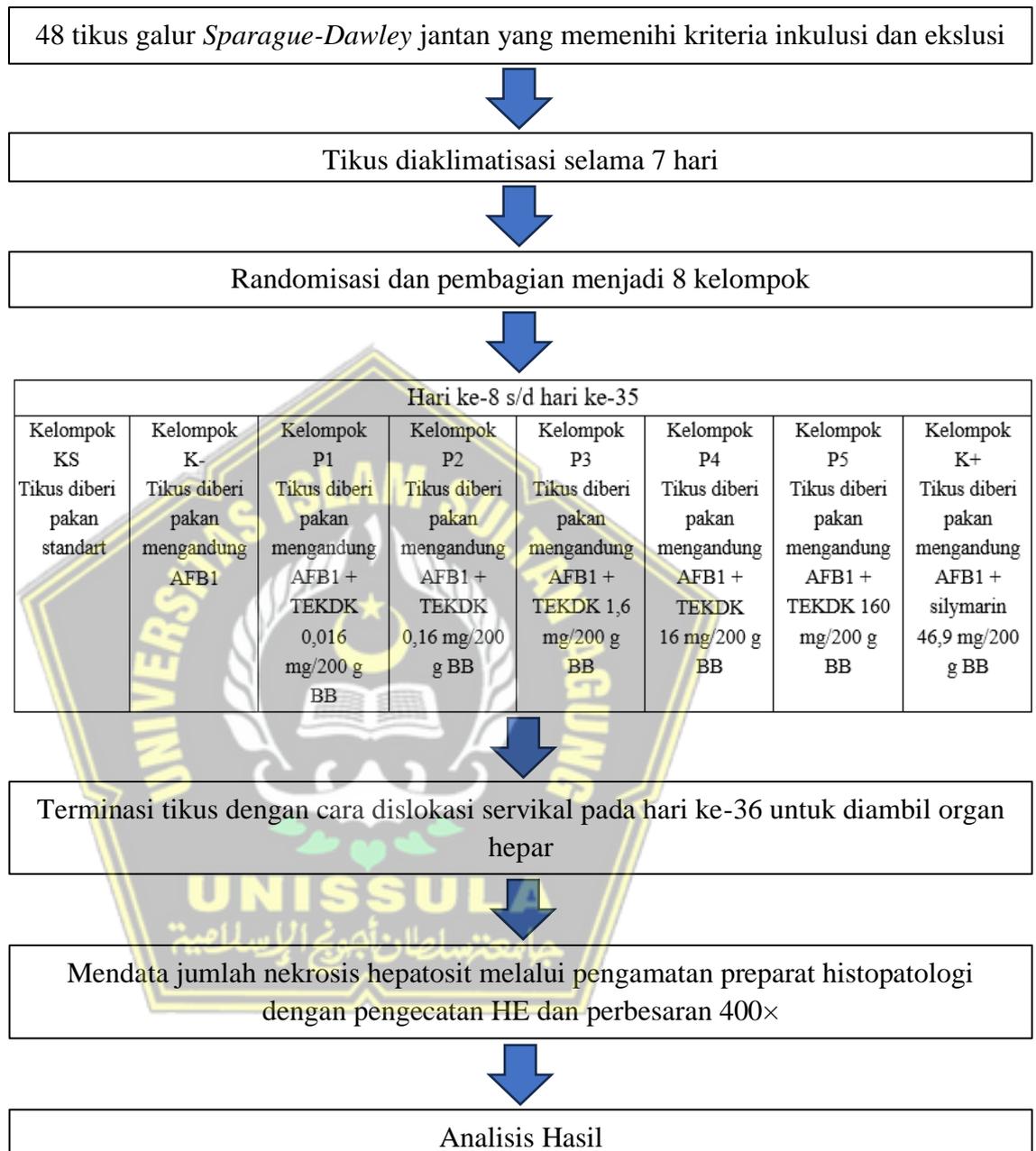
clearing menggunakan larutan xylol sebanyak 3 kali. Langkah terakhir beri 1 tetes entelan dan dek glass untuk membuat preparat lebih awet (Khistian & Inderiati, 2017).

3.5.4.4. Pembacaan Preparat Histologi

Preparat pada masing-masing kelompok diamati menggunakan mikroskop pada 5 lapang pandang dengan perbesaran 400×. Pengamatan nekrosis hepatosit dilihat dari inti sel yang mengalami kariolisis (gambaran basofil memudar), piknosis (inti sel menyusut dan basofil meningkat), serta karioreksis (fragmen inti sel piknotik). Kemudian hitung jumlah hepatosit yang mengalami nekrosis dan lakukan pengambilan gambar menggunakan kamera digital (Taek *et al.*, 2020).



3.6. Alur Penelitian



Gambar 3.1 Alur Penelitian

3.7. Tempat dan Waktu

3.7.1. Tempat Penelitian

1. Perlakuan hewan coba dilakukan di Laboratorium Pusat Studi Pangan dan Gizi (PSPG) Universitas Gadjah Mada (UGM), Yogyakarta.
2. Proses pembuatan preparat histologi hati dilakukan di Laboratorium Riset Terpatu Fakultas Kedokteran Gigi (FKG) UGM, Yogyakarta.
3. Proses pengamatan preparat histopatologi hepar dilakukan di Departemen Patologi Fakultas Kedokteran Hewan (FKH) UGM, Yogyakarta.

3.7.2. Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Februari-Agustus 2024.

3.8. Analisis Data

Data jumlah nekrosis hepatosit tikus yang diberi pakan mengandung AFB1 diolah menggunakan analisis statistik program *IBM SPSS 27.0 for Windows*. Sampel berjumlah lebih dari 30 sehingga untuk mengetahui normalitas distribusi data dilakukan uji *Kolmogorov-Smirnov* dan untuk mengetahui homogenitas varian data dilakukan uji *Levene statistic*. Hasil uji normalitas dan homogenitas menunjukkan distribusi data tidak normal dan varian data tidak homogen sehingga dilakukan uji *Kruskal Wallis*. Hasil uji

Kruskal Wallis menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang signifikan di antara seluruh kelompok perlakuan.



BAB IV

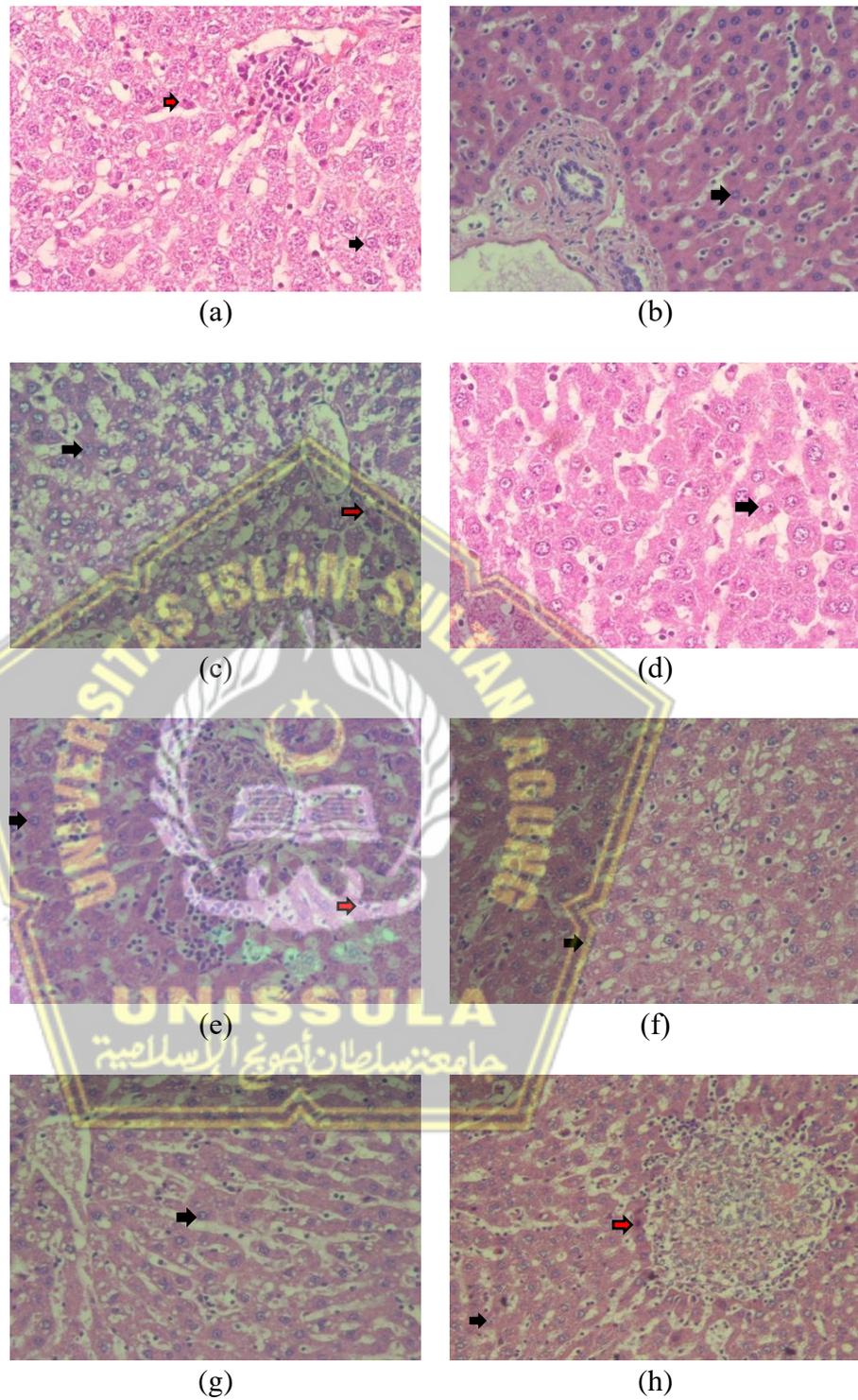
HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

4.1. Hasil Penelitian

4.1.1. Deskripsi Data

Penelitian dengan 48 ekor tikus galur *Sprague Dawley* jantan sebagai subjek penelitian ini terbagi menjadi 8 kelompok. Kelompok sehat (KS) diberi pakan standar; kontrol negatif (K-) diberi pakan mengandung AFB1; perlakuan (P1), (P2), (P3), (P4), dan (P5) masing-masing diberi pakan mengandung AFB1+TEKDK dengan dosis yang berbeda: 0,016; 0,16; 1,6; 16; dan 160 mg/200 g BB/hari; kontrol positif (K+) diberi pakan mengandung AFB1+silymarin 46,9 mg/kg BB/hari selama 28 hari. Selama periode perlakuan, tidak ada tikus yang mengalami drop out. Setelah menjalani berbagai perlakuan, tikus diterminasi dan diambil organ hatinya untuk dibuat preparat dengan pewarnaan hematoxilin & eosin. Preparat diamati menggunakan mikroskop pada lima lapang pandang dengan perbesaran 400× sehingga inti sel hepar yang akan diamati tampak dengan jelas.

Induksi AFB1 tidak menyebabkan perubahan histopatologi hepar yang di ditandai dengan nekrosis pada hepatosit. Hasil pengamatan histopatologi hepar menunjukkan terdapat multifokal nekrosis, multifokal infiltrasi limfosit dan sel kuffer, hemoragi, fokal nekrosis, dan degenerasi melemak ringan sekitar pembuluh darah pada berbagai kelompok perlakuan (Gambar 4.1 dan Tabel 4.1).



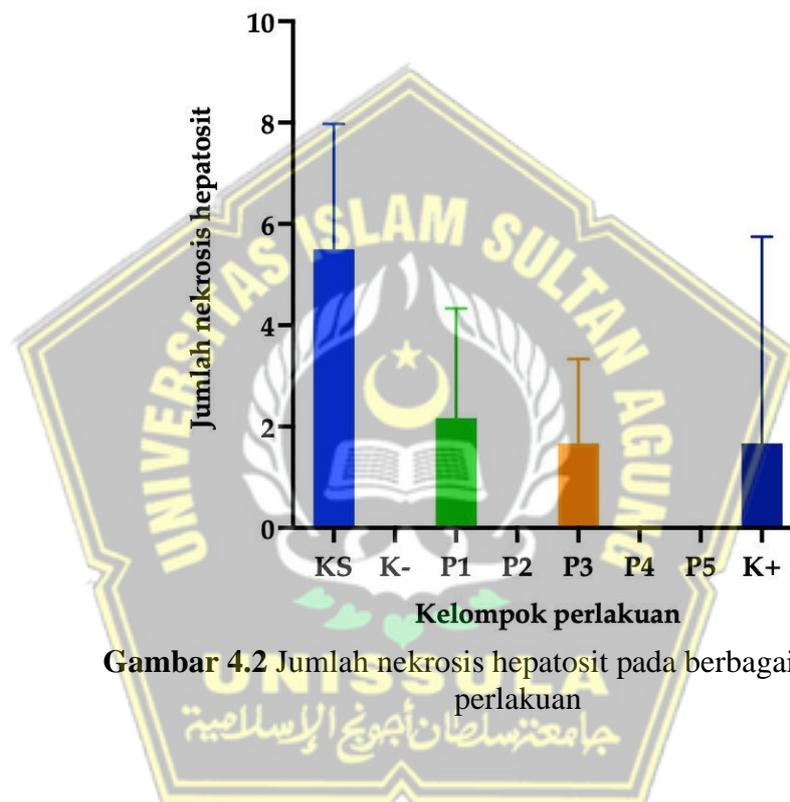
Gambar 4.1 Hasil pengamatan histopatologi hepar pada berbagai kelompok perlakuan: KS (a), K- (b), P1 (c), P2 (d), P3 (e), P4 (f), P5 (g), K+ (h). Keterangan: panah hitam (hepatosit normal), panah merah (nekrosis hepatosit)

Tabel 4.1 Gambaran histopatologi hepar pada berbagai kelompok perlakuan sesuai dengan gambar 4.1

Kelompok	Gambaran Histopatologi
KS	Multifokal nekrosis. Multifokal infiltrasi limfosit dan sel kuffer.
K(-)	Tidak ada perubahan patologi spesifik.
P1	Hemoragi. Multifokal nekrosis. Infiltrasi sel kuffer dan limfosit di banyak Lokasi (multifokal) derajat ringan.
P2	Tidak ada perubahan patologi spesifik.
P3	Fokal nekrosis. Infiltrasi sel kuffer dan limfosit di banyak lokasi (multifokal).
P4	Tidak ada perubahan patologi spesifik.
P5	Degenerasi melemak ringan sekitar pembuluh darah. Multifokal infiltrasi limfosit.
K(+)	Fokal nekrosis. Degenerasi melemak ringan. Multifokal infiltrasi limfosit dan sel kuffer.

Kelompok KS yang diberi pakan standar menunjukkan rerata jumlah nekrosis hepatosit tertinggi dibandingkan dengan kelompok lainnya, yaitu sebanyak $5,50 \pm 6,06$ sel (Gambar 4.2). Lalu kelompok P1 yang diberi pakan mengandung AFB1+TEKDK 0,016 mg/200 g BB menunjukkan rata-rata jumlah nekrosis hepatosit sebanyak $2,17 \pm 5,31$. Kelompok K(+) yang diberi pakan mengandung AFB1+silymarin 56,9 mg/200 g BB dan kelompok P3 yang diberi pakan mengandung AFB1 serta TEKDK 1,6 mg/200 g BB menunjukkan rata-rata jumlah nekrosis hepatosit sebanyak $1,67 \pm 4,08$. Sedangkan kelompok K(-) yang hanya diberi pakan mengandung AFB1 tidak menunjukkan adanya hepatosit

yang mengalami nekrosis. Hal serupa terjadi pada kelompok P2, kelompok P4, kelompok P5 yang masing-masing mendapatkan pakan AFB1 dengan perbedaan dosis TEKDK yaitu 0,16 mg/200 g BB; 16 mg/200 gBB; 160 mg/200 g BB.



Gambar 4.2 Jumlah nekrosis hepatosit pada berbagai kelompok perlakuan

4.1.2. Analisis Statistik

Tabel 4.2 Hasil Rerata Jumlah Nekrosis Hepatosit, Uji *Kolmogorov-Smirnov*, *Levene Test*, *Kruskal Wallis*

Kelompok	Rerata Jumlah Nekrosis Hepatosit±SD	<i>p-value</i>		
		<i>Kolmogorov-Smirnov</i>	<i>Levene Test</i>	<i>Kruskal Wallis</i>
KS	5,50±6,06	0,058*	0,001	0,127
K(-)	0,00±0,00	0,000		
P1	2,17±5,31	0,001		
P2	0,00±0,00	0,000		
P3	1,67±4,08	0,001		
P4	0,00±0,00	0,000		
P5	0,00±0,00	0,000		
K(+)	1,67±4,08	0,001		

Keterangan: * = distribusi normal, ** = varian homogen, *** = terdapat perbedaan signifikan

Berdasarkan tabel 4.2, hasil uji normalitas *Kolmogorov-Smirnov* berdasarkan tabel di atas menunjukkan bahwa semua kelompok data terdistribusi tidak normal dengan nilai ($p < 0,05$), kecuali kelompok KS. Selanjutnya, pada uji homogenitas *Levene Test* menunjukkan hasil data yang tidak homogen dengan nilai ($p < 0,05$). Karena data di atas tidak memenuhi syarat untuk uji parametrik, maka dilakukan uji non parametrik yaitu *Kruskal Wallis*. Hasil uji *Kruskal Wallis* menunjukkan nilai ($p > 0,05$) yang berarti H_0 diterima H_1 ditolak sehingga tidak

terdapat perbedaan signifikan rerata jumlah nekrosis hepatosit diantara seluruh kelompok. Maka, dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat efek TEKDK terhadap jumlah nekrosis hepatosit pada tikus yang diberi pakan yang mengandung AFB1.

4.2. Pembahasan

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek TEKDK terhadap jumlah nekrosis hepatosit tikus galur *Sprague Dawley* jantan yang diberi pakan mengandung AFB1. Hasil pengamatan histopatologi hepar pada kelompok K- menunjukkan bahwa induksi AFB1 melalui pakan tidak menyebabkan peningkatan nekrosis hepatosit. Hasil ini tidak sesuai dengan penelitian Souza *et al.* (2019) yang melaporkan bahwa pemberian pakan mengandung AFB1 dapat menyebabkan nekrosis hepatosit. Setelah lima hari diberikan pakan mengandung AFB1 ditemukan tanda-tanda kerusakan hati yang signifikan yaitu anisositosis, infiltrasi lemak sedang, kematian hepatosit melalui apoptosis dan/atau nekrosis multifokal serta piknosis nuklear pada heaptosit yang menjadi ciri hepatitis toksik. Kemudian pada hari ke-10 pasca pemberian pakan mengandung AFB1, tingkat keparahan kerusakan hepatosit meningkat. Selain apoptosis dan nekrosis yang lebih menyebar, terjadi aktivasi sel ito di beberapa sinusoid yang menebal, juga dengan beberapa penebalan kanalikuli bilier, yang menjadi ciri hepatitis toksik dan hepatosis. Hasil penelitian ini juga tidak sesuai dengan penelitian Qian *et al.* (2013) yang melaporkan bahwa pada hari ke-3 pada kelompok yang diberi dosis tunggal 1000 mg/kg BB didapatkan

perubahan histopatologi hepar berupa fokal nekrosis masif dengan infiltrasi sel inflamasi pada hepatosit dan pada kelompok yang diberi AFB1 dosis berulang yaitu 10 mg/kg BB ditemukan adanya nekrosis di zona periportal. Hasil penelitian ini tidak sesuai dengan penelitian sebelumnya diduga karena setelah terjadi paparan toksin yaitu AFB1, hepar mengalami kerusakan. Kemudian terjadi aktivasi sinyal pertama untuk perbaikan sel hati (hepatosit) berasal dari sel-sel bukan parenkim, yaitu sel Kupffer dan sel endotel yang melapisi pembuluh darah di hati. Sel-sel ini menghasilkan zat-zat kimia seperti TNF- α dan IL-6 sebagai respons terhadap zat-zat dari usus halus yang masuk melalui pembuluh darah vena porta. Faktor pertumbuhan penting untuk regenerasi hati, seperti *Hepatocyte Growth Factor* (HGF), dilepaskan dari tempat penyimpanannya di jaringan hati dan diproduksi oleh sel stelat hati. Sementara itu, *Epidermal Growth Factor* (EGF) dialirkan ke darah portal oleh sel-sel di usus halus dan kelenjar ludah. Proses regenerasi ini juga didukung oleh hormon tiroid (T3), insulin, dan norepinefrin. Lalu proses perbaikan hati dimulai dari sel-sel utama hati, yaitu hepatosit. Replikasi hepatosit pertama kali terlihat di area dekat pembuluh darah vena porta, di mana sel-sel baru membentuk kelompok. Penggandaan ini kemudian menyebar ke area lain, diikuti oleh penggandaan sel-sel bukan parenkim sekitar 1-3 hari setelahnya. Sel-sel endotel yang baru terbentuk kemudian bergabung dengan kelompok sel hepatosit yang sudah berproliferasi, sehingga hati kembali ke kondisi semula (Mauss *et al.*, 2020).

Hasil pengamatan histopatologi hepar pada kelompok KS yang diberi pakan standar menunjukkan bahwa rerata jumlah nekrosis hepatosit tertinggi dibandingkan dengan kelompok lainnya. Hal ini diduga karena proses apoptosis dan faktor eksternal yang tidak dapat dikendalikan mungkin dapat menyebabkan kerusakan inti hepatosit seperti usia serta keadaan awal hepar tikus tidak diperiksa sebelum perlakuan sehingga ada kemungkinan terdapat tikus yang sudah mengalami kerusakan hepar. Selain itu, faktor eksternal lainnya mungkin bisa terjadi selama penelitian berlangsung tikus mengalami kerusakan hepar, atau pengaruh stress fisiologis karena lingkungan yang lembab dan bising turut memengaruhi kesehatan hepar tikus putih tersebut (Gondo, 2022). Stres merangsang pelepasan ACTH dari kelenjar hipofisis anterior, yang kemudian memicu kelenjar adrenal untuk menghasilkan hormon adrenokortikoid, yaitu kortisol. Kortisol meningkatkan kadar glukosa dalam darah dengan merangsang proses glukoneogenesis di hati. Selama kondisi stres, produksi hormon glukokortikoid meningkat lebih tinggi dibandingkan keadaan normal, sehingga sel-sel hati terus menerus dipacu untuk menjalankan proses glukoneogenesis (Sherwood, 2018). Pada proses tersebut diduga dapat berakibat pada meningkatnya senyawa ROS dan jika berikatan dengan hepatosit dapat menyebabkan hepatosit mengalami nekrosis (Sa'diyah & Hariani, 2020).

Rerata jumlah nekrosis hepatosit terendah ditunjukkan pada kelompok perlakuan 3 (P3) yang diberi pakan mengandung AFB1+TEKDK 1,6 mg/kg BB/hari selama 28 hari dibandingkan dengan kelompok lainnya, kecuali

kelompok K+ yang menunjukkan hasil serupa. Hal ini membuktikan bahwa kandungan klorofil daun katuk mampu menurunkan jumlah nekrosis hepatosit. Penelitian Prakoso *et al.* (2018) melaporkan bahwa pemberian AFB1 dosis minimal <50 ppb dan daun katuk (*Sauropus androgynus* (L.) Merr.) 5% terbukti berdampak pada perubahan histopatologi hepar berupa degenerasi lemak, infiltrasi hepatosit, dan nekrosis hepatosit. Kandungan klorofil daun katuk mempunyai aktivitas antioksidan yang dapat dimanfaatkan oleh tubuh. Penelitian Suparmi *et al.* (2016) membuktikan bahwa setelah pemberian TEKDK dengan dosis 0,016 mg/mL selama 14 hari dapat menurunkan kadar stress oksidatif pada tikus yang diinduksi NaNO₂. Sebagai antioksidan, klorofil berperan dalam mencegah kerusakan oksidatif DNA dan mengurangi ROS dengan cara mengikat gugus hidroksil (OH⁻) yang dihasilkan oleh hidrogen peroksida (H₂O₂) sehingga mengurangi reaksi *lipid peroxide* (LPO) (Hsu *et al.*, 2013). Dengan demikian, kontaminasi AFB1 pada pakan menyebabkan kerusakan dan gangguan fungsi hati serta daun katuk (*Sauropus androgynus* (L.) Merr.) memiliki efek potensial pada perlindungan hepar selama paparan AFB1.

Selain kelompok P3, kelompok kontrol positif (K+) yang diberi pakan mengandung AFB1+silymarin 46,9 mg/kg BB/hari selama 28 hari juga menunjukkan rerata jumlah nekrosis hepatosit yang terendah dibandingkan dengan kelompok lainnya. Silymarin terbukti memiliki kemampuan hepatoprotektif, yang memungkinkan senyawa ini untuk melindungi hati dari kerusakan yang diakibatkan oleh AFB1. Hal ini sesuai dengan penelitian

Sinaga *et al.* (2021) yang melaporkan bahwa silymarin mempunyai efek hepatoprotektif pada tikus yang diinduksi paracetamol. Hal itu karena struktur fenofiliknya yang memungkinkan membentuk senyawa stabil dengan ROS. Silymarin berperan dalam menstabilkan permeabilitas membran melalui penghambatan peroksidasi lipid sehingga dapat meningkatkan kadar *gluthatione* (Koltai & Fliegel, 2022).

Hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa TEKDK tidak memiliki efek yang signifikan terhadap pengurangan jumlah nekrosis hepatosit pada tikus yang diberi pakan mengandung AFB1. Temuan ini mengindikasikan bahwa senyawa bioaktif yang terkandung dalam ekstrak klorofil daun katuk, pada dosis serta durasi pemberian yang diterapkan dalam penelitian ini, tidak mampu memberikan efek perlindungan yang memadai untuk mencegah atau mengurangi kerusakan hati akibat AFB1 (Mulyati *et al.*, 2024).

Penelitian efek TEKDK terhadap jumlah nekrosis hepatosit mempunyai keterbatasan yang perlu diperhatikan diantaranya melakukan pengukuran kadar antioksidan seperti MDA, GSH, dan SOD sebelum dan sesudah perlakuan. Hal itu bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan dari ekstrak klorofil daun katuk (Alameri *et al.*, 2023). Keterbatasan lainnya adalah penelitian ini hanya menggunakan satu pewarnaan preperat untuk mengidentifikasi nekrosis hepatosit yaitu hematoksilin eosin. Selain dengan pewarnaan H&E, histopatologi hepar juga dapat diamati dengan pewarnaan *masson's trichrome* karena seringkali pada nekrosis hepatosit tampak pengikatan jaringan ikat sebagai respon kerusakan jaringan serta pewarnaan

periodic acid-Schiff (PAS) untuk mendiagnosis penyakit heparnya melalui gambaran nekrosis hepatosit dan degenerasi lemak (Krishna, 2013).



BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

- 5.1.1 Tidak terdapat efek TEKDK terhadap jumlah nekrosis hepatosit tikus yang diberi pakan mengandung AFB1.
- 5.1.2 Rerata jumlah nekrosis hepatosit yang diperoleh pada tikus yang diberi pakan standar adalah $5,50 \pm 6,06$ sel.
- 5.1.3 Rerata jumlah nekrosis hepatosit yang diperoleh pada tikus yang diberi pakan mengandung AFB1 adalah $0,00 \pm 0,00$ sel.
- 5.1.4 Rerata jumlah nekrosis hepatosit yang diperoleh pada tikus yang diberi pakan mengandung AFB1 dan TEKDK dengan dosis $0,016 \text{ mg}/200 \text{ g}$ BB adalah $2,17 \pm 5,31$ sel.
- 5.1.5 Rerata jumlah nekrosis hepatosit yang diperoleh pada tikus yang diberi pakan mengandung AFB1 dan TEKDK dengan dosis $0,16 \text{ mg}/200 \text{ g}$ BB adalah $0,00 \pm 0,00$ sel.
- 5.1.6 Rerata jumlah nekrosis hepatosit yang diperoleh pada tikus yang diberi pakan mengandung AFB1 dan TEKDK dengan dosis $1,6 \text{ mg}/200 \text{ g}$ BB adalah $1,67 \pm 4,08$ sel.
- 5.1.7 Rerata jumlah nekrosis hepatosit yang diperoleh pada tikus yang diberi pakan mengandung AFB1 dan TEKDK dengan dosis $16 \text{ mg}/200 \text{ g}$ BB adalah $0,00 \pm 0,00$ sel.

- 5.1.8 Rerata jumlah nekrosis hepatosit yang diperoleh pada tikus yang diberi pakan mengandung AFB1 dan TEKDK dengan dosis 160 mg/200 g BB adalah $0,00 \pm 0,00$ sel.
- 5.1.9 Rerata jumlah nekrosis hepatosit yang diperoleh pada tikus yang diberi pakan mengandung AFB1 dan silymarin dengan dosis 46,9 mg/200 g BB adalah $1,67 \pm 4,08$ sel.
- 5.1.10 Tidak ada perbedaan rerata jumlah nekrosis hepatosit antara berbagai kelompok perlakuan.

5.2. Saran

1. Melakukan pengukuran kadar MDA, GSH, dan SOD untuk mengetahui aktivitas antioksidan sebelum dan setelah perlakuan yang mungkin berefek pada nekrosis hepatosit.
2. Melakukan penelitian dengan pewarnaan selain H&E, seperti pewarnaan *masson's trichrome* dan *periodic acid-Schiff* (PAS) untuk mengamati nekrosis hepatosit.

DAFTAR PUSTAKA

- Aghemo, A., Alekseeva, O. P., Angelico, F., Bakulin, I. G., Bakulina, N. V., Bordin, D., Bueverov, A. O., Drapkina, O. M., Gillissen, A., Kagarmanova, E. M., Koro-chanskaya, N. V., Kucheryavii, U. A., Lazebnik, L. B., Livzan, M. A., Maev, I. V., Martynov, A. I., Osipenko, M. F., Sas, E. I., Starodubova, A., ... Yakovlev, A. A. (2022). *Role of Silymarin as Antioxidant in Clinical Management of Chronic Liver Diseases: A Narrative Review. Annals of Medicine*, 54(1), 1548–1560. <https://doi.org/10.1080/07853890.2022.2069854>
- Alameri, M. M., Kong, A. S. Y., Aljaafari, M. N., Ali, H. Al, Eid, K., Sallagi, M. Al, Cheng, W. H., Abushelaibi, A., Lim, S. H. E., Loh, J. Y., & Lai, K. S. (2023). *Aflatoxin Contamination: An Overview on Health Issues, Detection and Management Strategies. Toxins*, 15(4), 1–16. <https://doi.org/10.3390/toxins15040246>
- Ali, F. A. Z., Abdel-Maksoud, F. M., Elaziz, H. O. A., Al-Brakati, A., & Elmahallawy, E. K. (2021). *Descriptive histopathological and ultrastructural study of hepatocellular alterations induced by aflatoxin b1 in rats. Animals*, 11(2), 1–15. <https://doi.org/10.3390/ani11020509>
- Allameh, A., Niayesh-Mehr, R., Aliarab, A., Sebastiani, G., & Pantopoulos, K. (2023). *Oxidative Stress in Liver Pathophysiology and Disease. Antioxidants*, 12(9), 1–23. <https://doi.org/10.3390/antiox12091653>
- Betty, B., & Christin, M. I. M. (2018). *Cirrosis Hepatis With Moderately Differentiation Hepatocellular Carcinoma, Trabecular Pattern. Talenta Conference Series: Tropical Medicine (TM)*, 1(2), 367–373. <https://doi.org/10.32734/tm.v1i2.218>
- Broto, W. (2018). Status Cemaran dan Upaya Pengendalian Aflatoksin pada Komoditas Serealia dan Aneka Kacang. *Jurnal Litbang Pertanian*, 37(2), 81–90.
- Ekasari, W., Fatmawati, D., Khoiriah, S. M., Baqiuddin, W. A., Nisa, H. Q., Maharupini, A. A. S., Wahyuni, T. S., Oktarina, R. D., Suhartono, E., & Sahu, R. K. (2022). *Antimalarial Activity of Extract and Fractions of Sauropus androgynus (L.) Merr. Scientifica*, 2022, 1–9. <https://doi.org/10.1155/2022/3552491>
- Eroschenko, V. P. (2015). *Atlas Histologi diFiore dengan Korelasi Fungsional* (12th ed.). Jakarta: EGC. 367–375.
- Fan, T., Xie, Y., & Ma, W. (2021). *Research Progress on The Protection and Detoxification of Phytochemicals Against Aflatoxin B1-Induced Liver*

- Toxicity*. *Toxicicon*, 195(1), 58–68.
<https://doi.org/10.1016/j.toxicicon.2021.03.007>
- Federico, A., Dallio, M., & Loguercio, C. (2017). *Silymarin/Silybin and Chronic Liver Disease: A Marriage of Many Years*. *Molecules*, 22(2), 1–16.
<https://doi.org/10.3390/molecules22020191>
- Gondo, H. K. (2022). Pengaruh Serbuk Daun Kelor (*Moringa oleifera*) Terhadap Apoptosis Sel Hepar Pada Tikus Bunting Diabetes Mellitus. *Jurnal Ilmiah Kedokteran Wijaya Kusuma*, 11(1), 12–18.
<https://doi.org/10.30742/jikw.v11i1.1650>
- Guyton, A. C., & Hall, J. E. (2016). *Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology* (13th ed.). Philadelphia: Elsevier. 837–840.
- Hayati, A., Arumingtyas, L., Indriyani, S., & Hakim, L. (2016). *Local Knowledge of Katuk (*Sauropus androgynus* (L.) Merr) in East Java, Indonesia*. *Ijcp*, 7(4), 210–215.
- Hsu, C.-Y., Chao, P.-Y., Hu, S.-P., & Yang, C.-M. (2013). *The Antioxidant and Free Radical Scavenging Activities of Chlorophylls and Pheophytins*. *Food and Nutrition Sciences*, 4(8A), 1–8. <https://doi.org/10.4236/fns.2013.48A001>
- International Agency for Research on Cancer (IARC). (2012). *IARC Monographs Chemical Agents and Related Occupations* (Vol. 100). France: WHO. 225–243.
- Kamala, A., Shirima, C., Jani, B., Bakari, M., Sillo, H., Rusibamayila, N., De Saeger, S., Kimanya, M., Gong, Y. Y., Simba, A., Wigenge, R., Justin, I., Kyombo, F., Tarimo, V., Hipolite, D., Mziray, R., Kaiz, K., Mutabuzi, C., Muita, M., ... Mengele, I. (2018). *Outbreak of an acute aflatoxicosis in Tanzania during 2016*. *World Mycotoxin Journal*, 11(3), 311–320.
<https://doi.org/10.3920/WMJ2018.2344>
- Khistian, E., & Inderiati, D. (2017). Sitohistoteknologi. *In Sustainability (Switzerland)* (1st ed.). Jakarta: Pusat Pendidikan Sumber Daya Manusia Kesehatan. 69–217.
- Kim, I. H., Kisseleva, T., & Brenner, D. A. (2015). *Aging and Liver Disease*. *Curr Opin Gastroenterol*, 31(3), 184–191.
<https://doi.org/10.1097/MOG.0000000000000176>
- Koltai, T., & Fliegel, L. (2022). *Role of Silymarin in Cancer Treatment: Facts, Hypotheses, and Questions*. *Journal of Evidence-Based Integrative Medicine*, 27, 1–38. <https://doi.org/10.1177/2515690X211068826>

- Krishna, M. (2013). *Role of special stains in diagnostic liver pathology. Clinical Liver Disease*, 2(S1), 8–10. <https://doi.org/10.1002/cld.148>
- Kumar, V., Abbas, A. K., & Aster, J. C. (2018). *Robbins Basic Pathology* (10th ed.). Philadelphia: Elsevier. 8–11.
- Kwartiningsih, E., Ramadhani, A. N., Putri, N. G. A., & Damara, V. C. J. (2021). *Chlorophyll Extraction Methods Review and Chlorophyll Stability of Katuk Leaves (Sauropus androgynous). Journal of Physics: Conference Series*, 1858(1), 1–7. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1858/1/012015>
- Marchese, S., Polo, A., Ariano, A., Velotto, S., Costantini, S., & Severino, L. (2018). *Aflatoxin B1 and M1: Biological Properties and Their Involvement in Cancer Development. Toxins*, 10(6), 1–19. <https://doi.org/10.3390/toxins10060214>
- Mauss, S., Thomas Berg, Rockstroh, J., Sarrazin, C., & Wedemeyer, H. (2020). *Hepatology A Clinical Textbook* (10th ed.). Jerman: Gilead. 719–721.
- Mescher, A. L. (2016). *Junquera's Basic Histology Text and Atlas* (14th ed.). New York: McGraw-Hill Education. 335–345.
- Mulyati, S., Nurhidayat, A. I., Faturrochman, F. F. F., Dzaqiah, M. N., & RS, E. R. (2024). *Potensi Daun Katuk (Sauropus androgynus) Sebagai Sayuran Superfood. Jurnal Multidisiplin Ilmu Akademik*, 1(6), 300–306.
- Nugraha, A., Khotimah, K., & Rietjens, I. M. C. M. (2018). *Risk Assessment of Aflatoxin B1 Exposure From Maize and Peanut Consumption in Indonesia Using The Margin of Exposure and Liver Cancer Risk Estimation Approaches. Food and Chemical Toxicology*, 113, 134–144. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2018.01.036>
- Nurdin, Kusharto, C. M., Tanziha, I., & Januwati, M. (2009). *Kandungan Klorofil Berbagai Jenis Daun Tanaman dan Cu-Turunan Klorofil serta Karakteristik Fisiko-Kimianya. Jurnal Gizi Dan Pangan*, 4(1), 13–20. <https://doi.org/10.25182/jgp.2009.4.1.13-19>
- Nurjanah, S., Kamariyah, N., & Soleha, U. (2018). *Pengaruh Konsumsi Ekstrak Daun Sauropus androgynus (L) Meer (Katuk) dengan Peningkatan Hormon Prolaktin Ibu Menyusui dan Perkembangan Bayi Di Kelurahan Wonokromo Surabaya. Journal of Health Sciences*, 10(1), 24–35. <https://doi.org/10.33086/jhs.v10i1.154>
- Ovalle, W. K., & Nahirney, P. C. (2020). *Netter's Essential Histology With Correlated Histopathology* (3th ed.). Philadelphia: Elsevier. 334–347.

- Prakoso, Y. A., Puspitasari, Rini, C. S., Aliviameita, A., Salasia, S. I. O., Kurniasih, Ikram, A. F. D., Walalangi, B., Utama, K. P., Al Huda, M. F., & Su'udiyah, N. A. (2018). *The Role of Sauropus androgynus (L.) Merr. Leaf Powder in the Broiler Chickens Fed a Diet Naturally Contaminated with Aflatoxin*. *Journal of Toxicology*, 1–18. <https://doi.org/10.1155/2018/2069073>
- Prihanti, G. S. (2016). *Pengantar Biostatistik (1th ed.)*. Universitas Muhammadiyah Malang: Malang. 12–13.
- Qian, G., Wang, F., Tang, L., Massey, M. E., Mitchell, N. J., su, J., Williams, J. H., Phillips, T. D., & Wang, J. S. (2013). *Integrative Toxicopathological Evaluation of Aflatoxin B1 Exposure in F344 Rats*. *Toxicologic Pathology*, 41(8), 1093–1105. <https://doi.org/10.1177/0192623313477256>
- Rizzo, G. E. M., Cabibbo, G., & Craxì, A. (2022). *Hepatitis B Virus-Associated Hepatocellular Carcinoma*. *Viruses*, 14(5), 1–25. <https://doi.org/10.3390/v14050986>
- Rodwell, V. W., Bender, D. A., Botham, K. M., Kenelly, P. J., & Weil, P. A. (2018). *Harper's Illustrated Biochemistry (31st ed.)*. New York: McGraw-Hill Education. 305–308.
- Sa'diyah, L., & Hariani, D. (2020). Efek Pemberian Epigallocatechin 3-gallate (EGCG) terhadap Kadar Glukosa Darah dan Histopatologi Hepar Mencit Diabetes yang Diinduksi Aloksan. *LenteraBio : Berkala Ilmiah Biologi*, 9(1), 67–73. <https://doi.org/10.26740/lenterabio.v9n1.p67-73>
- Santosa, U. (2013). *Katuk, Tumbuhan Multi Khasiat (1st ed.)*. Bengkulu: Badan Penerbit Fakultas Pertanian (BPPF) Unib. 127.
- Sherwood, L. (2018). *Fisiologi Manusia Dari Sel ke Sistem (9th ed.)*. Jakaeta: EGC. 593–595
- Sinaga, E., Fitrayadi, A., Asrori, A., Rahayu, S. E., Suprihatin, S., & Prasasty, V. D. (2021). *Hepatoprotective Effect of Pandanus odoratissimus Seed Extracts on Paracetamol-Induced rats*. *Pharmaceutical Biology*, 59(1), 31–39. <https://doi.org/10.1080/13880209.2020.1865408>
- Souza, C. de F., Baldissera, M. D., Descovi, S., Zeppenfeld, C., Eslava-Mocha, P. R., Gloria, E. M., Zanette, R. A., Baldisserotto, B., & Silva, A. S. da. (2019). *Melaleuca Alternifolia Essential Oil Abrogates Hepatic Oxidative Damage in Silver Catfish (Rhamdia quelen) Fed With An Aflatoxin-Contaminated Diet*. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 221, 10–20. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2019.03.007>
- Suparmi, Sampurna, Nur Anna, C. S., Ednisari, A. M., Urfani, G. D., Laila, I., &

- Saintika, H. R. (2016). *Anti-anemia Effect of Chlorophyll from Katuk (Sauropus androgynus) Leaves on Female Mice Induced Sodium Nitrite*. *Pharmacognosy Journal*, 8(4), 375–379. <https://doi.org/10.5530/pj.2016.4.10>
- Taek, A., Ndaong, N., & Gaina, C. (2020). Gambaran Histopatologi Hepar Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Jantan Pasca Pemberian Ekstrak Infusa Buah Pare (*Momordica charantia* L.) Lokal NTT. *Jurnal Veteriner Nusantara*, 3(2), 89–96. <http://ejurnal.undana.ac.id/jvn>
- Tiara, M. S., & Muchtaridi, M. (2018). Aktivitas Farmakologi Ekstrak Daun Katuk (*Sauropus androgynus* (L.) Merr). *Farmaka*, 16(2), 398–405.
- Tortora, Gerard J., D. B. (2017). *Principles of Anatomy & Physiology* (15th ed.). USA: John Wiley & Sons. 922–927.
- Tungadi, R. (2018). *Teknologi Sediaan Solida* (1th ed.). Jawa Timur: WADE Group. 16-18.
- Wintariani, N. P., & Suena, N. M. D. S. (2017). Pengaruh Ekstrak Etanol Daun Ubi Jalar (*Ipomoea batatas* Lamk.) Sebagai Hepatoprotektor Terhadap Kadar Bilirubin Total Pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar. *Jurnal Ilmiah Medicamento*, 3(2), 110–114.
- Yan, M., Huo, Y., Yin, S., & Hu, H. (2018). *Mechanisms of Acetaminophen-Induced Liver Injury and Its Implications for Therapeutic Interventions*. *Redox Biology*, 17, 274–283. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2018.04.019>
- Yilmaz, S., & Bag, H. (2022). *Aflatoxin B1: Mechanism, Oxidative Stress, and Effects on Animal Health. Insights in Veterinary Science*, 2, 1–16. <https://doi.org/10.17303/javm.2022.2.102>
- Zaman, N. N., & Sopyan, I. (2020). Metode Pembuatan dan Kerusakan Fisik Sediaan Tablet. *Majalah Farmasetika*, 5(2), 82–93. <https://doi.org/10.24198/mfarmasetika.v5i2.26260>
- Zhang, B. dou, Cheng, J. xin, Zhang, C. feng, Bai, Y. dan, Liu, W. yuan, Li, W., Koike, K., Akihisa, T., Feng, F., & Zhang, J. (2020). *Sauropus androgynus* L. Merr.-A Phytochemical, Pharmacological and Toxicological Review. *Journal of Ethnopharmacology*, 257, 1–12. <https://doi.org/10.1016/J.JEP.2020.112778>
- Zhou, R., Liu, M., Liang, X., Su, M., & Li, R. (2019). *Clinical Features of Aflatoxin B1-Exposed Patients With Liver Cancer and The Molecular Mechanism of Aflatoxin B1 on Liver Cancer Cells*. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 71, 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2019.103225>