

**UJI KOMBINASI EKSTRAK ETANOL DAUN KATUK
(*Sauropus androgynus*) DAN TAPAK LIMAN (*Elephantopus
scaber*) TERHADAP HISTOLOGI GINJAL DAN HEPAR
MENCIT BUNTING TERINFEKSI *E. coli***

SKRIPSI

oleh
MEYLA RESTIA DIANA
145090101111026



**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2018**

repository.ub.ac.id

**UJI KOMBINASI EKSTRAK ETANOL DAUN KATUK
(*Sauropus androgynus*) DAN TAPAK LIMAN (*Elephantopus
scaber*) TERHADAP HISTOLOGI GINJAL DAN HEPAR
MENCIT BUNTING TERINFEKSI *E. coli***

SKRIPSI

**Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Sains dalam Bidang Biologi**



**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2018**

HALAMAN PENGESAHAN SKRIPSI

UJI KOMBINASI EKSTRAK ETANOL DAUN KATUK (*Sauropus androgynus*) DAN TAPAK LIMAN (*Elephantopus scaber*) TERHADAP HISTOLOGI GINJAL DAN HEPAR MENCIT BUNTING TERINFEKSI *E. coli*

MEYLA RESTIA DIANA
145090101111026

Telah dipertahankan di depan Majelis Penguji
pada tanggal 9 Juli 2018
dan dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Sains dalam Bidang Biologi



Menyetujui
Pembimbing

Prof. Dr. Ir. M. Sasmito Djati, MS
NIP 19610304 199403 1 001

Mengetahui
Ketua Program Studi S-1 Biologi
Fakultas MIPA Universitas Brawijaya

Rodiyati Azrianingsih, S.Si., M.Sc., Ph.D.
NIP 19700128 199412 2 001

HALAMAN PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Meyla Restia Diana

NIM : 145090101111026

Jurusan : Biologi

Penulis Skripsi berjudul : Uji Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Katuk
(*Sauropus androgynus*) dan Tapak Liman
(*Elephantopus scaber*) terhadap Histologi
Ginjal dan Hepar Mencit Bunting yang
E. coli

Dengan ini menyatakan bahwa:

1. Skripsi ini adalah benar-benar karya saya sendiri dan bukan hasil plagiat dari karya orang lain. Karya-karya yang tercantum dalam Daftar Pustaka Skripsi ini semata-mata digunakan sebagai acuan/referensi
2. Apabila kemudian hari diketahui bahwa isi Skripsi saya merupakan hasil plagiat, maka saya bersedia menanggung akibat hukum dari keadaan tersebut

Demikian pernyataan ini dibuat dengan segala kesadaran

Malang, 23 Juli 2018

Yang menyatakan

Meyla Restia Diana

14509010111102

PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI

Skripsi ini tidak dipublikasikan namun terbuka untuk umum dengan ketentuan bahwa hak cipta ada pada penulis. Daftar Pustaka diperkenankan untuk dicatat, tetapi pengutipan hanya dapat dilakukan seizin penulis dan harus disertai kebiasaan ilmiah untuk menyebutkannya.



Uji Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Katuk (*Sauropus androgynus*) dan Tapak Liman (*Elephantopus scaber*) terhadap Histologi Ginjal dan Hepar Mencit Bunting Terinfeksi *E. coli*

Meyla Restia Diana, Mochammad Sasmito Djati
Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam,
Universitas Brawijaya, Malang
2018

ABSTRAK

Kondisi hamil mengakibatkan terjadinya berbagai perubahan fisiologis dan hormonal sehingga lebih rentan terinfeksi bakteri yang dapat diminimalkan dengan konsumsi herbal. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian kombinasi ekstrak etanol daun katuk (*S. androgynus*) dan tapak liman (*E. scaber*) terhadap histologi ginjal dan hepar mencit bunting terinfeksi *E. coli*. Hewan coba dibagi delapan perlakuan yaitu kontrol sehat (K-), kontrol sakit (K+), P1, P2, P3, P4, P5, dan P6 (perlakuan kombinasi ekstrak tanpa infeksi). Mencit bunting diberi ekstrak secara oral pada kebuntingan hari ke-1 sampai hari ke-4. Hari ke-5 kebuntingan mencit diinfeksi *E. coli* 10^7 CFU/ml secara intraperitoneal. Setelah infeksi dilanjutkan pemberian ekstrak hingga hari pembedahan yaitu hari ke-8 dan ke-16 kebuntingan. Organ ginjal dan hati diisolasi dan dibuat preparat parafin dengan pewarnaan HE (*Hematoxylin-Eosin*). Selanjutnya sel nekrosis dihitung dan dianalisa menggunakan *two way* ANOVA dengan selang kepercayaan 95 % kemudian dilanjutkan *Tukey test*. Hasil nilai nekrosis masing-masing perlakuan kombinasi ekstrak dibandingkan dengan K+ mengalami penurunan yang berbeda nyata. Sedangkan nilai nekrosis P6 dibandingkan dengan K- mengalami peningkatan yang berbeda nyata. Hal ini menunjukkan pemberian kombinasi ekstrak pada keadaan normal dapat meningkatkan nekrosis namun dalam keadaan terinfeksi dapat menurunkan nekrosis. Bunting hari ke-8 nekrosis ginjal terendah P1 (23,00%) sedangkan nekrosis hepar terendah P5 (20,60%). Bunting hari ke-16 nekrosis ginjal terendah P2 (28,73%) sedangkan nekrosis hepar terendah P5 (33,40%). Berdasarkan hasil tersebut dosis P1 dan P5 merupakan dosis yang paling aman untuk dikonsumsi.

Kata kunci: *E. coli*, ginjal, hepar, katuk, tapak liman

Tests of Combination Ethanol Extract Katuk Leaf (*Sauropus androgynus*) and Tapak Liman (*Elephantopus scaber*) for Kidney and Hepar Histology Pregnant Mice that Infected *E. coli*

Meyla Restia Diana, Mochammad Sasmito Djati
Department of Biology, Faculty of Mathematics and Natural
Sciences, Brawijaya University, Malang
2018

ABSTRACT

Pregnant conditions result in various physiological and hormonal changes, so it make more susceptible to bacterial infections that can be minimized by herbal consumption. The aim of this research is to know the effect of combination ethanol extract tapak liman leaf (*E. scaber*) and katuk leaf (*S. androgynus*) for kidney and hepar histology of pregnant mice that infected *E. coli*. The animals trials were divided into eight groups: healty control (K-), diseased control (K+), P1, P2, P3, P4, P5, and P6 (treatment combination extract without infected *E. coli*). Pregnant mice were given extract by oral on pregnancy day 1th to day 4th. The 5th day of pregnancy mice were intraperitoneally infected with *E. coli*. Then continued giving extract until surgery in day 8th, and day 16th pregnancy. Kidney and hepar organ was isolated and then the isolated organs are prepared with paraffin and HE (Hematoxylin-Eosin) staining. The calculation of necrosis cells in each preparat analyzed using two way ANOVA with convidence interval 95% and continued with Tukey test. The results of necrosis values in each treatment combination extracts compared with K+ decrease with different significantly. While the necrosis values of P6 compared with K- increase with different significantly. This suggests that combination extracts in normal may increase necrosis but in an infected state may decrease necrosis. In 8th day pregnancy lowest kidney necrosis is P1 (23,00%) and lowest hepar necrosis is P5 (20,60%). In 8th day pregnancy lowest kidney necrosis is P2 (28,73%) and lowest hepar necrosis is P5 (33,40%). Based on these results, the doses of P1 and P5 are the safest doses to be consumed.

Keywords: *E. coli*, katuk, kidney, liver, tapak liman

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah Robbil ‘Aalamiin, segala puji dan syukur pada Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan hidayahNya sehingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan skripsi yang merupakan syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains dalam bidang Biologi di Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Brawijaya Malang.

Pada kesempatan ini, penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih kepada

1. Bapak Prof. Dr. Ir. Moch. Sasmito Djati, MS selaku Dosen Pembimbing skripsi yang telah membiayai penelitian, mendampingi dan memberi pengarahan serta tambahan ilmu dan saran-saran yang berguna bagi penulis.
2. Bapak Drs. Aris Soewondo, M.Si dan Bapak Prof. Muhaimin Rifa’i, Ph.D.Med.Sc selaku Dosen Penguji yang telah memberi pengarahan serta tambahan ilmu dan saran-saran yang berguna bagi penulis.
3. Orang tua penulis atas segala doa, dukungan, dan motivasi yang tidak terkira.
4. Seluruh dosen, staf dan laboran jurusan Biologi Fakultas MIPA Universitas Brawijaya yang telah memberikan ilmu yang bermanfaat serta membantu dalam melancarkan pelaksanaan penelitian dan skripsi.
5. Nurhayati, Eka Noviya F., Faradisa Noviani, Nida Safi, dan Yuyun Ika C., selaku teman-teman satu kelompok penelitian yang telah berjuang bersama dalam menyelesaikan penelitian.
6. Teman-teman AMINO 2014 yang telah memberikan semangat dan doa bagi penulis.

Penulisan skripsi ini merupakan upaya optimal penulis sebagai sarana terbaik dalam pengembangan ilmu pengetahuan. Saran dan kritik yang membangun sangat diharapkan untuk menjadikan karya ini semakin bermanfaat.

Malang, 23 Juli 2018

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
ABSTRAK	v
ABSTRACT	vi
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
DAFTAR LAMBANG DAN SINGKATAN	xiii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Katuk (<i>Sauropus androgynus</i> , L. Merr)	4
2.1.1 Klasifikasi dan anatomi	4
2.1.2 Kandungan senyawa	5
2.2 Tapak Liman (<i>Elephantopus scaber</i> L.)	6
2.2.1 Klasifikasi dan anatomi	6
2.2.2 Kandungan senyawa	8
2.3 Perubahan Hormon saat Kehamilan	9
2.4 Bakteri <i>Escherichia coli</i>	9
2.5 Mekanisme <i>Escherichia coli</i> terhadap Kerusakan Jaringan	11
2.6 Organ Ginjal	12
2.6.1 Anatomi dan struktur jaringan ginjal .	12
2.6.2 Fisiologi ginjal	15
2.7 Organ Hepar	16
2.7.1 Anatomi dan struktur jaringan hepar .	16
2.7.2 Fisiologi hepar	18
BAB III METODE PENELITIAN	19
3.1 Waktu dan Tempat	20
3.2 Deskripsi Hewan Coba	20
3.3 Pembuntingan Hewan Coba	20



3.4 Ekstraksi Daun Katuk (<i>Sauropus androgynus</i>) Tapak Liman (<i>Elephantopus scaber</i>)	21
3.5 Preparasi Isolat <i>E. coli</i>	21
3.6 Uji Konfirmasi <i>E. coli</i>	21
3.7 Pemberian Perlakuan	22
3.8 Pembuatan Preparat Histologi Ginjal dan Hepar	24
3.9 Pewarnaan Hematoxylin-Eosin (HE)	25
3.10 Pengamatan Histologi	25
3.11 Rancangan Penelitian	26
3.12 Analisis Data	26
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	27
4.1 Struktur Histologi Ginjal	27
4.2 Struktur Histologi Hepar	34
4.3 Pengaruh Kombinasi Ekstrak Etanol <i>S. androgynus</i> dan <i>E. scaber</i> terhadap Nekrosis Ginjal	41
4.4 Pengaruh Kombinasi Ekstrak Etanol <i>S. androgynus</i> dan <i>E. scaber</i> terhadap Nekrosis Hepar	45
BAB V PENUTUP	50
5.1 Kesimpulan	50
5.2 Saran	50
DAFTAR PUSTAKA	51
LAMPIRAN	55



DAFTAR TABEL

Nomor		Halaman
1	Kelompok perlakuan	24



DAFTAR GAMBAR

Nomor		Halaman
1	<i>Sauropus androgynus</i> (daun, buah, bunga, batang)	4
2	<i>Elephantopus scaber</i> (akar, batang, daun, bunga)	7
3	Struktur anatomi ginjal	13
4	Struktur glomerulus ginjal	14
5	Suktur histologi ginjal dengan pewarnaan Hematoxylin-Eosin	15
6	Struktur anatomi hepar	17
7	Struktur histologi hepar dengan pewarnaan Hematoxylin-Eosin	18
8	Struktur jaringan ginjal perbesaran 400x kontrol sehat (K-)	28
9	Struktur jaringan ginjal perbesaran 400x kontrol sakit (K+)	29
10	Struktur jaringan ginjal perbesaran 400x P1 dan P2	30
11	Struktur jaringan ginjal perbesaran 400x P3 dan P4	31
12	Struktur jaringan ginjal perbesaran 400x P5 dan P6	32
13	Struktur jaringan hepar perbesaran 400x kontrol sehat (K-) dan kontrol sakit (K+)	36
14	Struktur jaringan hepar perbesaran 400x P1	37
15	Struktur jaringan hepar perbesaran 400x P2 dan P3	38
16	Struktur jaringan hepar perbesaran 400x P4 dan P5	39
17	Struktur jaringan hepar perbesaran 400x P6	40
18	Grafik rata-rata nekrosis sel ginjal antar kelompok perlakuan	43
19	Grafik rata-rata nekrosis sel hepatosit antar kelompok perlakuan	46



DAFTAR LAMPIRAN

Nomor		Halaman
1	Determinasi daun tanaman Tapak Liman (<i>Elephantopus scaber</i>)	55
2	Determinasi daun tanaman Katuk (<i>Sauropus androgynus</i>)	56
3	Keterangan kelaikan etik “ <i>Ethical Clearence</i> ”..	57
4	Pembuatan larutan stok tiap perlakuan	58
5	Uji statistik jumlah sel nekrosis pada jaringan ginjal dan hepar	61



DAFTAR LAMBANG DAN SINGKATAN

<u>Simbol/Singkatan</u>	<u>Keterangan</u>
hCG	<i>Human chorionic gonadotropin</i>
HE	Hematoxylin-Eosin
HlyA	α -hemolysin
IL	Interleukin
INOS	Induksi nitrat oksida-synthase
LPPT	Laboratorium penelitian dan pengujian terpadu
LPS	Lipopolisakarida
NA	<i>Nutrient agar</i>
NB	<i>Nutrient broth</i>
NF- κ B	<i>Nuclear factor κB</i>
NK	<i>Natural killer</i>
TLR	<i>Toll-like receptors</i>
TNF- α	<i>Tumor necrosis factor</i>
UP	Uroplakin
<u>Simbol/Singkatan</u>	<u>Nama unit</u>
α	alpha

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Escherichia coli merupakan salah satu jenis spesies utama bakteri Gram negatif yang umumnya hidup dalam usus besar manusia dan memiliki peran positif dalam membantu pembusukan sisa makanan (Nicole, 2014). Sebagian besar *E. coli* yang berasal dari luar tubuh merupakan jenis bakteri patogen sehingga sangat mudah menginfeksi manusia (Ganzle & Yang, 2015). Infeksi *E. coli* patogen yang berlebih berdampak pada berbagai gangguan fisiologis tubuh seperti infeksi saluran kemih dan saluran pencernaan (Bruns dkk., 2014).

Kasus infeksi *E. coli* sangat mudah ditemui pada wanita hamil karena wanita hamil cenderung mengalami berbagai perubahan fisiologis dan hormonal (Rowińska dkk., 2013). Selama kehamilan peningkatan hormon progesteron dan estrogen menyebabkan otot-otot yang melapisi uretra berelaksasi dan terjadi pelebaran ureter, sehingga memudahkan bakteri yang menginfeksi saluran kemih untuk menyebar menginfeksi ginjal (Yin, 2007). Perubahan pada hormon reproduksi juga berdampak pada menurunnya respon imun. Peningkatan hormon progesteron dapat menekan sekresi TNF- α serta menghambat produksi sitokin. Progesteron juga menekan respons imun bawaan termasuk makrofag dan sel NK (*Natural killer*) serta transduksi sinyal NF- κ B sehingga wanita hamil lebih mudah terinfeksi paparan dari luar seperti infeksi bakteri *E. coli* (Robinson & Sabra, 2012).

Infeksi *E. coli* dapat berdampak pada kerusakan jaringan ginjal dan hepar. *E. coli* dapat menginfeksi ginjal karena ginjal merupakan organ yang berhubungan langsung dengan uretra sehingga bakteri dapat menuju organ ginjal melalui uretra (Bien dkk., 2011). Selain itu, *E. coli* yang telah menginfeksi saluran pencernaan juga dapat menginfeksi organ hepar melalui vena porta hepatica yang berasal dari lambung dan usus (Bruns dkk., 2014).

Dinding sel *E. coli* mengandung dua protein utama yaitu α -hemolysin (HlyA) dan lipopolisakarida (LPS) yang dikaitkan dengan kerusakan jaringan (Nicole, 2014). Ketika LPS dan HlyA masuk ke dalam sel *host* maka sel *host* akan menganggap kedua protein ini sebagai protein asing sehingga sel *host* akan mengaktifkan respon

imun. Selanjutnya terjadi peningkatan produksi sitokin yang berdampak pada peningkatan produksi interleukin, salah satunya adalah IL-6 dan IL-8 yang memicu respon inflamasi sehingga menimbulkan nekrosis sel dan berdampak pada inflamasi sel *host* (Jahnukainen dkk., 2005).

Berbagai kasus infeksi *E. coli* dapat diminimalkan melalui konsumsi herbal agar tidak menimbulkan dampak yang lebih luas (Bien dkk., 2012). Tapak liman (*Elephantopus scaber* L.) dan katuk (*Sauropus androgynus*, L. Merr) dipercaya dapat meminimalkan dampak negatif infeksi *E. coli* pada wanita hamil. Dua jenis tumbuhan ini mengandung senyawa antiinflamasi dan antibakteria yang cukup tinggi sehingga dapat dimanfaatkan untuk mencegah maupun menanggulangi berbagai penyakit yang diakibatkan oleh infeksi *E. coli* (Wei dkk., 2011). Menurut Bunawan dkk. (2014), senyawa flavonoid pada daun katuk terdiri dari dua jenis yaitu flavonoid epigenin dan uteolin yang terbukti mampu menghambat kerja protein lipopolisakarida dari bakteri Gram negatif. Daun tapak liman banyak mengandung senyawa antimikrobia yaitu alkaloid, steroid, tanin, and phenol yang berperan dalam menghambat perkembangan *E. coli* di dalam sel (Setyari & Sri, 2008).

Namun tapak liman dan katuk juga memiliki beberapa senyawa toksik yang jika dikonsumsi dalam dosis yang tidak tepat dapat berdampak pada berbagai gangguan tubuh (Erawati, 2011). Saat ini sebagian besar pasien yang mengalami gangguan ginjal dan hepar diakibatkan oleh konsumsi herbal yang tidak memperhatikan dosis (Yunita dkk., 2014). Hepar merupakan organ utama yang berperan dalam proses detoksifikasi sehingga menjadi sasaran utama dari toksik yang masuk ke dalam tubuh (Stanford, 2017). Sedangkan ginjal memiliki peran utama dalam proses sekresi zat yang tidak dibutuhkan dalam tubuh sehingga ketika senyawa toksik masuk ke dalam tubuh akan langsung menyerang ginjal (Mayo, 2017). Maka dari itu, untuk mengetahui tingkat toksisitas dari herbal dapat dilihat dari gambaran histologi hepar dan ginjal setelah perlakuan *treatment*.

Berdasarkan uraian di atas, penelitian ini dilakukan untuk mengetahui efek toksik kombinasi ekstrak etanol daun katuk dan tapak liman yang digunakan dalam menanggulangi infeksi *E. coli* pada mencit bunting. Sehingga diketahui dosis yang aman dalam penggunaan kombinasi herbal tersebut. Penelitian ini juga dilakukan untuk mengetahui apakah konsumsi dari kombinasi ekstrak daun

tapak liman (*E. scaber*) dan katuk (*S. androgynus*) lebih bersifat memperbaiki kerusakan jaringan akibat infeksi bakteri atau memperparah kerusakan jaringan.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah yang bisa diambil dari latar belakang di atas antara lain:

1. Bagaimana pengaruh kombinasi ekstrak etanol daun *E. scaber* dan *S. androgynus* terhadap histologi jaringan ginjal dan hepar mencit bunting yang terinfeksi *E. coli* ?
2. Bagaimana tingkat toksisitas kombinasi ekstrak etanol daun *E. scaber* dan *S. androgynus* terhadap histologi jaringan ginjal dan hepar mencit bunting yang terinfeksi *E. coli* ?

1.3 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk:

1. Menganalisis pengaruh kombinasi ekstrak etanol daun *E. scaber* dan *S. androgynus* terhadap histologi jaringan ginjal dan hepar mencit bunting yang terinfeksi *E. coli*.
2. Menganalisis tingkat toksisitas kombinasi ekstrak etanol daun *E. scaber* dan *S. androgynus* terhadap histologi jaringan ginjal dan hepar mencit bunting yang terinfeksi *E. coli*.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah:

1. Memberikan informasi tambahan kepada masyarakat terkait manfaat ekstrak etanol daun *E. scaber* dan *S. androgynus* yang dapat digunakan sebagai suplemen Ibu hamil untuk mencegah dan menanggulangi infeksi bakteri.
2. Membantu pasien yang mengalami infeksi bakteri untuk melakukan pengobatan alami menggunakan suplemen dari daun *E. scaber* dan *S. androgynus*.
3. Memberikan informasi terkait dosis yang tepat dalam mengkonsumsi kombinasi herbal daun *E. scaber* dan *S. androgynus*.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Katuk (*Sauropus androgynus*, L. Merr)

2.1.1 Klasifikasi dan anatomi

Katuk atau yang memiliki nama latin *Sauropus androgynus*, L. Merr merupakan jenis tumbuhan semak yang tingginya bisa mencapai 2 - 3 meter (Gambar 1). Tanaman ini termasuk dalam jenis tanaman berbiji tertutup (Angiospermae) dan berasal dari kelas Dicotyledonae. Tumbuhan ini tumbuh di dataran rendah hingga ketinggian 1.300 mdpl. Persebaran tanaman ini sangat luas di wilayah Asia Tenggara termasuk Indonesia dan Malaysia (Florafauna, 2013).

Klasifikasi tumbuhan *Sauropus androgynus* adalah sebagai berikut:

Kingdom : Plantae

Divisi : Spermatophyta

Sub Divisi : Angiospermae

Kelas : Dicotyledoneae

Ordo : Euphorbiales

Famili : Euphorbiaceae

Genus : *Sauropus*

Spesies : *Sauropus androgynus*, L.Merr.



(Karen, 2013)

Gambar 1. *Sauropus androgynus* (daun, buah, bunga, batang)

Tanaman katuk terdiri dari akar, batang, daun, bunga, dan buah (Gambar 1). Akar tanaman katuk merupakan akar tunggang yang berwarna putih kotor. Batangnya tumbuh tegak lurus ke atas dan bercabang-cabang. Ketika masih muda batang katuk berwarna hijau sedangkan ketika sudah tua warnanya menjadi kelabu keputihan. Daun yang dimiliki tumbuhan katuk merupakan jenis daun majemuk genap yang tersusun selang seling. Daun katuk berbentuk lonjong hingga bundar, berwarna hijau gelap dan memiliki ukuran kecil. Panjang daun sekitar 5-6 cm dan lebarnya sekitar 1-3 cm. Bunga katuk berukuran kecil-kecil dengan warna kekuning-kuningan hingga ungu serta terdapat bintik-bintik merah. Bunga ini merupakan bunga tunggal dan terletak diantara satu daun dengan daun lainnya. Bunga ini juga termasuk bunga sempurna karena mempunyai helaian kelopak berbentuk bulat telur. Katuk memiliki buah yang berukuran kecil, berwarna putih, dan bentuknya bulat, di dalam buah katuk terdapat tiga buah biji yang ukurannya sangat kecil-kecil (Florafauna, 2013).

2.1.2 Kandungan senyawa

Katuk (*Sauropus androgynus*, L. Merr) merupakan salah satu tumbuhan herbal yang memiliki beragam fungsi. Salah satu fungsi dari tanaman katuk adalah sebagai hematoprotektor yang dapat memperbaiki kerusakan pada jaringan hepar (Sinuraya, 2011). Beberapa kandungan senyawa kimia daun katuk yang dapat berperan dalam menanggulangi kerusakan jaringan antara lain adalah flavanoid, vit C, vit A, dan klorofil. Flavonoid memiliki fungsi sebagai antioksidan yang dapat menangkap radikal bebas dengan melepaskan atom hidrogen dari gugus hidroksilnya. Flavonoid memiliki gugus hidroksil (OH) fenolik dalam struktur molekulnya yang berfungsi sebagai senyawa pereduksi yang dapat menampung radikal hidroksi dan superoksida sehingga dapat melindungi lipid membran dari reaksi radikal bebas yang dapat merusak jaringan. Atom hidrogen yang dihasilkan dapat menstabilkan radikal bebas, sehingga tidak dapat merusak sel. Vit C berperan sebagai antioksidan pemecah rantai hidrofilik sehingga dapat mengurangi lipid peroksida. Vit A berfungsi untuk menjaga integritas sel epitel, mempertahankan integritas selular dan mengurangi kerusakan sel. Serta klorofil juga mampu menghilangkan zat kimia yang bersifat

racun termasuk radikal bebas (Wei dkk., 2011). Menurut Bunawan dkk. (2014), senyawa flavonoid pada *S. androgynus* terdiri dari dua jenis yaitu flavonoid epigenin dan flavonoid uteolin yang terbukti mampu menghambat kerja protein lipopolisakarida yang berasal dari bakteri Gram negatif sehingga dapat menurunkan respon inflamasi.

Selain berbagai dampak positif tersebut, daun katuk juga mengandung beberapa senyawa toksik yang dapat berdampak negatif pada tubuh. Menurut Erawati (2011), daun katuk mengandung kalsium oksalat dalam bentuk roset yang apabila dikonsumsi dalam dosis yang tidak tepat dapat berdampak pada kerusakan ginjal, sehingga dapat menimbulkan efek yang sangat berbahaya bagi penderita penyakit batu ginjal. Menurut Suprayogi (2000), daun katuk juga mengandung senyawa alkaloid papaverin yang akan dioksidasi dalam hepar, dan menghasilkan metabolit berbahaya yang berdampak pada kerusakan jaringan hepar. Metabolik papaverin yang dihasilkan hepar juga dapat menghambat sistem neural sehingga dapat mengganggu aktifitas organ ginjal dan berdampak pada kerusakan jaringan ginjal.

2.2 Tapak Liman (*Elephantopus scaber* L.)

2.2.1 Klasifikasi dan anatomi

Tapak liman atau yang memiliki nama latin *Elephantopus scaber* L. merupakan tanaman jenis rumput-rumputan atau terna yang tumbuh tegak dengan tinggi 60-75 cm (Gambar 2). Tumbuhan ini merupakan jenis Angiospermae dan berasal dari kelas Dicotyledonae. Tapak liman banyak ditemukan tumbuh liar dan kadang ditemukan dalam jumlah banyak di lapangan rumput, tepi jalan atau pematang. Tapak liman dapat tumbuh di daerah dataran rendah sampai ketinggian 1.200 mdpl. Persebaran tumbuhan ini meliputi daerah China, Malaysia, Indonesia, Afrika, India, Amerika Latin dan Australia (Fern, 2004).

Klasifikasi tumbuhan *Elephantopus scaber* adalah sebagai berikut:

Kingdom : Plantae

Divisi : Spermatophyta

Sub Divisi : Angiosperma

Kelas : Dicotyledonae

Ordo : Asterales

Famili : Asteraceae

Genus : *Elephantopus*

Spesies : *Elephantopus scaber* L.



(Fern, 2004)

Gambar 2. *Elephantopus scaber* (akar, batang, daun, bunga)

Tumbuhan tapak liman terdiri dari akar, batang, daun, dan bunga (Gambar 2). Akar tapak liman merupakan akar tunggang yang besar dan berwarna putih. Batang tumbuhan ini pendek dan kaku. Daun tapak liman merupakan jenis daun tunggal yang berkumpul pada permukaan tanah didekat akar-akar membentuk karangan (roset akar) dengan tangkai yang pendek. Daun bentuknya jorong, tepi melekuk dan bergerigi tumpul, ujung tumpul, permukaan berambut kasar, tulang menyirip, warnanya hijau tua, panjang 10-18 cm dan lebar 3-5 cm. Tangkai bunga keluar dari tengah-tengah roset dengan batang tangkai yang kaku dan liat, berambut panjang dan rapat, bercabang dan beralur. Daun pada tangkai bunga kecil dan letaknya jarang

dengan panjang 3-9 cm dan lebar 1-3 cm. Bunganya merupakan bunga majemuk yang berbentuk bongkol, letaknya di ujung batang dan berwarna ungu. Buah berupa buah bongkah yang keras, berambut, dan berwarna hitam (Fern, 2004).

2.2.2 Kandungan senyawa

Tapak liman (*Elephantopus scaber* L.) memiliki berbagai khasiat penting untuk tubuh. Tanaman ini mengandung senyawa antibakterial dan antioksidan yang berperan penting dalam memperbaiki kerusakan jaringan. Senyawa antimikrobia yang terkandung dalam tapak liman adalah alkaloid, steroid, tanin, dan phenol. Senyawa-senyawa ini telah terbukti dapat menghambat perkembangan dari beberapa jenis bakteri seperti *Escherichia coli*, *Staphylococcus*, serta *Salmonella* di dalam sel (Setyari & Sri, 2008). Menurut Akiyama dkk. (2001), senyawa tanin bekerja sebagai antimikrobia dengan cara merusak membran sel bakteri. Selain itu, tanin juga mengandung senyawa astringent yang dapat menginduksi terjadinya ikatan terhadap mikroba.

Selain senyawa antimikrobia, tapak liman juga mengandung senyawa antioksidan berupa flavonoid yang berfungsi dalam memperbaiki kerusakan jaringan akibat infeksi. Kerja dari senyawa flavonoid ini adalah menstabilkan radikal bebas yang terakumulasi dalam tubuh sehingga radikal bebas tersebut tidak dapat merusak jaringan (Hung dkk., 2011). Kandungan flavonoid yang tinggi juga berfungsi sebagai hematoprotektor yang dapat memperbaiki kerusakan hepar akibat berbagai infeksi, salah satunya adalah infeksi bakteri (Ho dkk., 2012).

Senyawa tanin yang berperan sebagai antimikroba ternyata juga memiliki efek toksik dalam tubuh. Senyawa tanin jika bereaksi dengan mineral akan membentuk suatu ikatan kompleks yang tidak dapat larut dalam sistem pencernaan. Hal ini mengakibatkan terjadinya defisiensi oksigen terhadap jaringan. Salah satu dampak dari defisiensi jaringan adalah terjadinya nekrosis pada sel dan menyusutnya ukuran sel ginjal (Puspitasari, 2015). Akumulasi senyawa toksik yang berlebih di dalam tubuh juga dapat berakibat kerusakan jaringan pada organ hepar (Suprayogi, 2000). Hal ini dikarenakan hepar merupakan organ yang memiliki peran utama dalam proses metabolisme dan detoksifikasi, sehingga hepar menjadi

sasaran utama dari toksik yang masuk ke dalam tubuh (Stanford, 2017).

2.3 Perubahan Hormon saat Kehamilan

Kehamilan dimulai dengan terjadinya proses fertilisasi oleh sel telur dan sel sperma yang selanjutnya diikuti dengan proses implantasi. Ketika terjadi kehamilan hormon-hormon reproduksi mengalami berbagai perubahan. 48 jam setelah proses implantasi sel cytotropoblast mulai mensekresi hCG (*human Chorionic Gonadotropin* (Jones & Kristin, 2013). Kemudian pada kehamilan minggu ke-5 mulai disekresikan hormon estrogen dan progesteron oleh plasenta yang distimulasi oleh hCG. Selama kehamilan hormon-hormon ini akan terus mengalami peningkatan. Selain itu plasenta juga memproduksi hormon prolaktin yang akan terus meningkat selama masa kehamilan untuk memproduksi air susui ibu (NCT, 2017).

Perubahan produksi hormon yang terjadi selama proses kehamilan berdampak pada perubahan sistem imun pada wanita. Ketika masa awal kehamilan fetus yang telah menempel pada dinding rahim dianggap sebagai zat asing atau antigen oleh sistem imun. Hal ini mengakibatkan sistem imun meningkatkan aktifitas antiinflamasi dan menurunkan aktifitas proinflamasi untuk menjaga keberadaan fetus (Bruns dkk., 2014). Seiring dengan peningkatan hormon progesteron akan meningkatkan respon antiinflamasi pada tubuh dengan cara menekan sekresi dari TNF- α . Progesteron juga menghambat produksi sitokin yang diinduksi oleh TLR (*Toll-Like Receptors*) selama kehamilan. Selanjutnya progesteron juga akan menekan respons imun bawaan, termasuk makrofag dan aktivitas sel NK (*Natural Killer*) serta transduksi sinyal NF- κ B. Menurunnya respon imun bawaan ini mengakibatkan wanita hamil lebih mudah terinfeksi paparan dari luar seperti infeksi bakteri (Robinson & Sabra, 2012).

2.4 Bakteri *Escherichia coli*

Escherichia coli atau yang biasa disebut dengan *E. coli* merupakan spesies dari bakteri Gram negatif yang berasal dari famili Enterobacteriaceae. Umumnya bakteri ini memiliki bentuk batang dan berukuran sangat kecil yaitu dengan panjang 2 - 6 μ m dan lebar

1,1 – 1,5 μm . Bakteri ini memiliki alat gerak berupa flagela yang membantu pergerakan bakteri. Permukaan dinding selnya mengandung bulu-bulu halus yang disebut dengan *fimbriae* atau pili yang berfungsi sebagai media penempelan bakteri terhadap substrat. Dinding sel *E. coli* terdiri dari membran luar yang mengandung dua protein utama yaitu LPS (lipopolisakarida) dan HlyA (α -hemolysin), ruang periplasma dengan lapisan peptidoglikan, dan membran sitoplasma dalam. Protein LPS dan HlyA yang dihasilkan oleh dinding sel bakteri berfungsi untuk membantu bakteri dalam menginfeksi *host* (Nicole, 2014). Bakteri ini merupakan jenis bakteri yang tidak berspora, bersifat *aerobic* fakultatif, kemoorganotropik, serta mempunyai tipe metabolisme fermentasi dan respirasi. *E. coli* dapat tumbuh dengan baik pada suhu 37 $^{\circ}\text{C}$, namun bakteri ini juga masih dapat bertahan hidup pada suhu 60 $^{\circ}\text{C}$ selama 15 menit atau pada suhu 50 $^{\circ}\text{C}$ selama 60 menit. Media pertumbuhan *E. coli* adalah peptone yang berfungsi sebagai sumber karbon dan nitrogen (Grimaldi dkk., 2010).

E. coli merupakan bakteri penghuni normal dari usus manusia maupun hewan yang memiliki peran positif dalam membantu proses penyerapan dan pembusukan sisa-sisa makanan, pembentuk vitamin K, mempertahankan tekanan homeostasis normal pada usus, serta berperan dalam menekan pertumbuhan bakteri jahat di dalam usus. Bakteri ini termasuk dalam jenis bakteri yang memiliki persebaran sangat luas di alam. Sebagian besar bakteri *E. coli* yang berasal dari luar tubuh merupakan jenis bakteri patogen yang dapat dengan mudah menginfeksi manusia maupun hewan (Ganzle & Yang, 2015). Bakteri *E. coli* dapat menginfeksi tubuh melalui beberapa cara yaitu secara oral dengan melalui makanan maupun minuman, melalui hubungan seks, dan melalui pembuluh darah. Infeksi *E. coli* patogen yang berlebih dapat berdampak pada berbagai gangguan fisiologis tubuh. Salah satu kasus infeksi bakteri *E. coli* yang sering ditemui adalah infeksi saluran kemih, dan infeksi pada saluran pencernaan. Bakteri dapat dengan mudah menginfeksi saluran pencernaan maupun saluran kemih melalui aliran pembuluh darah (Bruns dkk., 2014).

2.5 Mekanisme *Escherichia coli* terhadap Kerusakan Jaringan

Dinding sel dari *Escherichia coli* mengandung lipoprotein yang disebut α -hemolisin (HlyA) dan protein lipopolisakarida (LPS), yang dikaitkan dengan kerusakan jaringan (Nicole, 2014). HlyA adalah racun yang dapat membentuk pori dan termasuk dalam keluarga protein RTX (*Repeats in Toxin*). Racun ini tersebar luas di antara patogen Gram negatif. Konsentrasi tinggi HlyA mampu melisis eritrosit pada sel inang. Konsentrasi rendah HlyA juga dapat menginduksi apoptosis dari sel target *host*, termasuk neutrofil, limfosit T, serta dapat menginduksi pengelupasan sel epitel. HlyA juga telah terbukti menyebabkan osilasi Ca^{2+} dalam sel epitel ginjal sehingga dapat mengakibatkan peningkatan produksi IL-6 dan IL-8. Sekitar 50% dari semua kasus infeksi ini mengarah pada kerusakan jaringan-jaringan tubuh seperti pada ginjal dan hepar. Ekspresi HlyA yang berlebih dapat menyebabkan kerusakan sel endotel maupun sel-sel epitel (Bien dkk., 2012).

Selain itu HlyA juga dapat menyebabkan induksi nitrat oksidasi sintase (iNOS) yang menyebabkan cedera membran sel dan berdampak pada terjadinya apoptosis sel. Dosis tinggi dari HlyA yang dihasilkan oleh bakteri dapat menghasilkan peningkatan kalsium intraselular yang tidak terkendali yang berdampak pada lisisnya sel dan nekrosis. HlyA dapat membentuk pori-pori pada membran sel untuk memudahkan bakteri dalam menembus membran basal sel sehingga dapat berakibat pada nekrosis sel (Jahnukainen dkk., 2005).

Ketika bakteri *E. coli* berhasil menginfeksi sel *host*, maka dapat berdampak pada kerusakan jaringan. Terjadinya kerusakan jaringan diakibatkan oleh dua faktor utama yaitu *Surface Virulence Factors* dan *Secreted Virulence Factors*. *Surface Virulence Factors* merupakan faktor yang berasal dari permukaan bakteri yaitu *fimbriae* dan flagela. *Fimbriae* tipe 1 akan berikatan pada uroplakin Ia dan IIIa (UPIIIa) melalui subunit-subunit adhesin yang berada di ujung fimbrial. Interaksi ini mengarah pada peristiwa fosforilasi, yang diperlukan untuk stimulasi jalur sinyal yang terlibat dalam invasi dan apoptosis serta dapat menyebabkan peningkatan tingkat Ca^{2+} intraselular di sel urothelial. P *fimbriae* adalah faktor virulensi umum kedua yang memegang peranan penting dalam meningkatkan patogenesis pada kasus infeksi saluran kemih dan pielonefritis pada

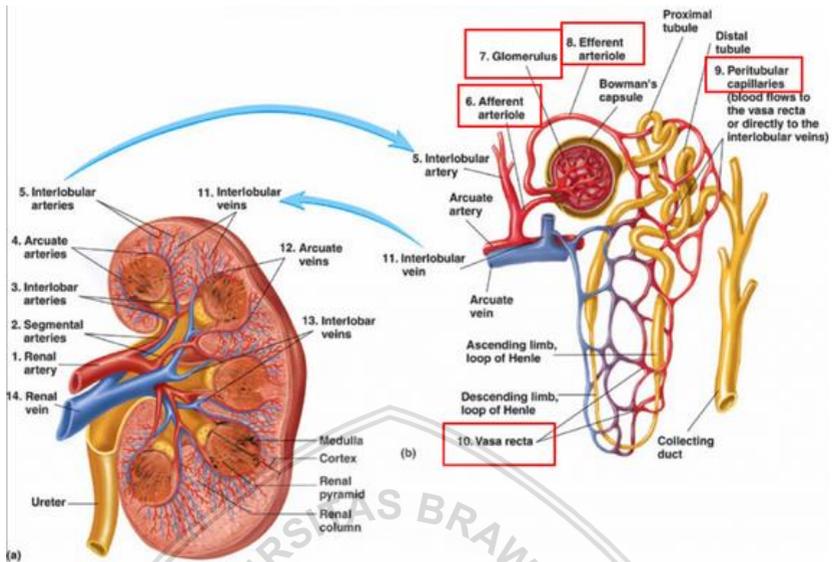
manusia. Hal ini berdampak pada adhesi matriks mukosa dan jaringan yang akan meningkatkan produksi sitokin. *S fimbriae* dan FIC *fimbriae* juga terlibat dalam proses infeksi, yaitu berperan dalam memfasilitasi penyebaran bakteri dalam jaringan inang. Kemudian flagela dari bakteri berperan dalam proses motilitas bakteri yang akan membantu pergerakan bakteri dalam menginfeksi jaringan-jaringan disekitarnya (Bien dkk., 2012).

Sedangkan *Secreted Virulence Factors* merupakan faktor yang disekresikan oleh bakteri (Bien dkk., 2012). Dua protein yang dihasilkan oleh dinding sel bakteri yaitu LPS dan HlyA akan mengaktifkan respon imun dari *host*. Hal ini diakibatkan karena ketika protein asing masuk ke dalam sel *host* maka sel *host* akan berusaha untuk menangkap protein asing tersebut. Sehingga terjadi peningkatan produksi sitokin yang berdampak pada peningkatan produksi interleukin, salah satunya adalah IL-6 dan IL-8 yang akan memicu respon inflamasi sehingga menimbulkan nekrosis pada sel *host* (Jahnukainen dkk., 2005).

2.6 Organ Ginjal

2.6.1 Anatomi dan struktur jaringan ginjal

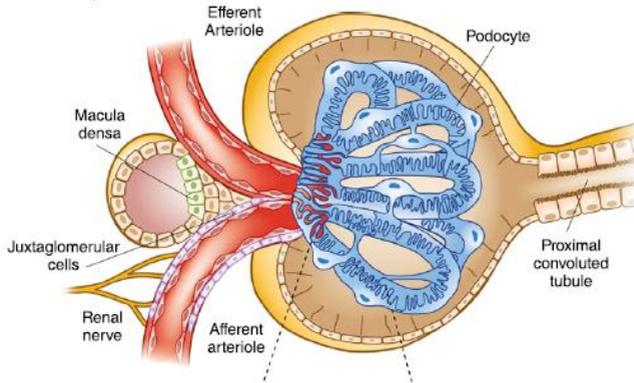
Ginjal merupakan organ yang memiliki bentuk seperti biji kacang buncis pada beberapa spesies hewan mammalia dan manusia. Bagian paling luar diselubungi oleh jaringan ikat tipis (kapsula renalis). Bagian yang membentuk cekungan disebut dengan hilum yang di dalamnya terdapat bundel saraf, arteri renalis, vena renalis, dan ureter. Ginjal dapat dibedakan menjadi bagian korteks yaitu lapisan luar yang berwarna coklat agak terang dan bagian medulla yaitu lapisan dalam yang berwarna agak gelap. Pada korteks renalis banyak dijumpai korpuskula renalis, badan malphigi dan kapsula Bowman, sedangkan pada medulla banyak dijumpai *loop of Henle* atau lengkung Henle (Gambar 3) (Ernst dkk., 2011).



(Ernst dkk., 2011)

Gambar 3. Struktur anatomi ginjal

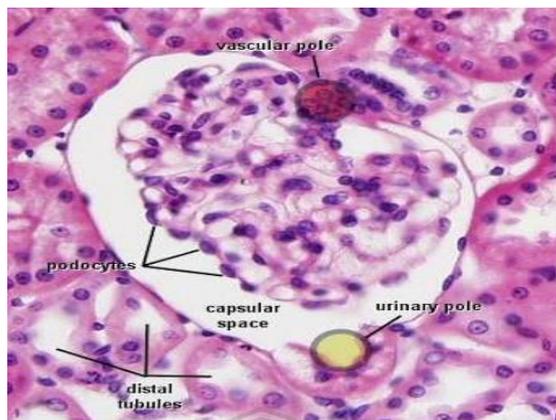
Tiap ginjal tersusun atas unit struktural dan fungsional dalam pembentukan urin yang dinamakan nefron (*nephron*). Tiap nefron terdiri atas bagian yang melebar yang dinamakan korpuskula renalis atau badan malphigi, tubulus kontortus proksimal, lengkung Henle serta tubulus kontortus distal (Gambar 3) (Ernst dkk., 2011). Selanjutnya terdapat bagian korpuskula renalis yang terdiri atas glomerulus dan dikelilingi oleh kapsula Bowman. Glomerulus merupakan anyaman pembuluh darah kapiler yang merupakan cabang dari arteriol aferen (Gambar 4). Pada permukaan luar kapiler glomerulus terdapat sel spesifik yang menempel dan terdapat penjurukan-penjurluran yang disebut podosit. Antara sel-sel endotel kapiler dan podosit membentuk struktur kontinyu yang berlubang-lubang yang memisahkan darah yang terdapat di dalam kapiler dengan ruang kapsuler. Glomerulus dibungkus oleh kapsul yang disebut kapsula Bowman yang terdiri atas sel epitel gepeng selapis. Korpus renalis memiliki dua kutub yaitu kutub vaskular dan kutub tubular. Kutub vaskular merupakan kutub tempat masuknya arteriol aferen dan keluarnya arteriol eferen (Pearce, 2009).



(Pollak dkk., 2014)

Gambar 4. Struktur glomerulus ginjal

Bagian selanjutnya adalah tubulus yang berperan penting dalam proses pembentukan urin. Terdapat dua jenis tubulus ginjal yaitu tubulus kontortus proksimal dan tubulus kontortus distal. Mukosa tubulus kontortus proksimal tersusun atas sel-sel epitel kubus selapis, batas antar selnya tidak jelas karena terdapat sitoplasma asidofilik dan granular, jarak antar inti sel jauh karena bagian apeks sel menghadap ke arah lumen tubulus dan memiliki banyak mikrovili (*brush border*). Sedangkan tubulus kontortus distal tersusun atas sel-sel epitel kuboid selapis yang memiliki sitoplasma pucat, jarak antar inti sel lebih rapat, nukleus lebih banyak serta tidak terdapat *brush border* sehingga batas sel dengan lumen tampak cukup jelas dibanding tubulus kontortus proksimal (Subramanya & David, 2014). Diantara tubulus kontortus distal dan tubulus kontortus proksimal terdapat saluran panjang yang disebut dengan lengkung Henle (*loop of Henle*). Lengkung Henle merupakan suatu saluran terusan dari tubulus kontortus proksimal yang berbentuk seperti huruf U dan terdiri atas segmen tipis dan diikuti dengan segmen tebal. Bagian tipis lengkung Henle tersusun atas sel gepeng dan inti yang menonjol ke dalam lumen (Janker & Nouri, 2009). Jika dilihat melalui preparat histologi dengan pewarnaan HE (Hematoxylin-Eosin) jaringan ginjal dapat terlihat seperti Gambar 5.



(Jankeer dan Nouri, 2009)

Gambar 5. Suktur histologi ginjal dengan pewarnaan Hematoxylin-Eosin (HE)

2.6.2 Fisiologi ginjal

Kapiler glomerulus ginjal memiliki sifat *impermeable* terhadap protein plasma yang lebih besar namun cukup *permeable* terhadap air dan larutan yang lebih kecil seperti asam amino, elektrolit, sisa nitrogen dan glukosa. Kapiler glomerulus akan mengalami kenaikan tekanan sehingga darah terdorong menuju ruang yang lebih kecil. Hal ini mengakibatkan air dan partikel kecil yang terlarut dari plasma masuk kedalam kapsula Bowman. Tekanan darah terhadap dinding pembuluh ini disebut tekanan hidrostatik (Pearce, 2009).

Glomerulus berperan dalam proses filtrasi yaitu proses penyaringan awal yang menghasilkan produk berupa urea, glukosa, air, ion-ion anorganik seperti natrium, kalium, kalsium, dan klor. Produk ini selanjutnya akan ditampung pada kapsula Bowman. Setelah proses filtrasi dilanjutkan dengan proses reabsorpsi yaitu penyerapan kembali dari zat-zat yang sudah disaring pada glomerulus. Zat-zat yang mengalami proses reabsorpsi antara lain adalah glukosa, sodium, klorida, fosfat dan beberapa ion bikarbonat. Proses reabsorpsi terjadi pada tubulus kontortus proksimal (Pollak dkk., 2014). Bagian tubulus kontortus distal berperan dalam berbagai proses homeostatik, termasuk reabsorpsi natrium klorida, sekresi potassium, serta pemeliharaan kalsium dan magnesium. Tubulus

kontortus distal dibagi menjadi dua sub bagian yang berbeda secara fungsional, yaitu tubulus kontortus distal 1 (awal) dan tubulus kontortus distal 2 (akhir) seperti yang terlihat pada Gambar 3 (Subramanya & David, 2014).

Ginjal merupakan saluran ekskresi utama dari sebagian besar zat yang ada dalam ramuan herbal. Senyawa toksik yang terkandung di dalam tanaman mengakibatkan laju aliran darah meningkat dan luas permukaan endothelial ginjal membesar. Sehingga jika hal ini terjadi secara terus menerus maka dapat berdampak pada kerusakan jaringan ginjal. Penggunaan berbagai ramuan tradisional atau herbal dapat berdampak pada cedera ginjal akut, cacat fungsi tubular, *diselectrolytaemias*, hipertensi sistemik, penyakit ginjal kronis, nekrosis papiler ginjal, urolitiasis dan urothelial kanker. Salah satu cara untuk melihat tingkat toksisitas dari suatu herbal dapat diketahui dengan melihat gambaran histologi dari jaringan ginjal (Mayo, 2017).

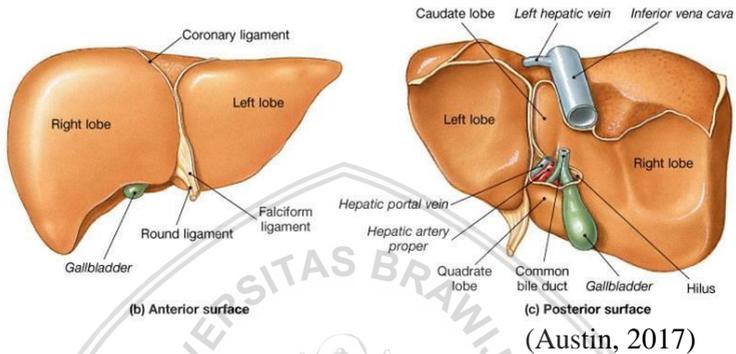
2.7 Organ Hepar

2.7.1 Anatomi dan struktur jaringan hepar

Hepar merupakan organ pencernaan terbesar dalam tubuh yang memiliki berat antara 1,2 - 1,8 kg atau sekitar kurang lebih 25% berat badan. Hepar juga merupakan kelenjar terbesar dalam tubuh yang terletak pada bagian rongga perut bawah, yaitu di bawah diafragma dan menempati sebagian besar kuadran kanan abdomen (Cormack, 2001).

Secara anatomi organ hepar tersusun oleh empat lobus yang berbeda yaitu lobus kiri, kanan, kaudatus, dan kuadrat. Setiap lobus ini dipisahkan oleh ligamen. Organ hepar memiliki struktur ligamen yang terdiri dari tiga jenis yaitu *coronary ligament*, *falciform ligament*, dan *round ligament* (Gambar 6). *Corony ligament* terletak pada perbatasan lateral lobus kiri dan kanan, masing-masing dan menghubungkan ujung superior hepar menuju diafragma. *Falciform logament* berada pada bagian inferior dari diafragma menuju batas inferior hepar yang akan membentuk *round ligament* (ligamentum teres) hepar yang menghubungkan hepar menuju umbilikus. *Round ligament* adalah sisa dari vena umbilikalisis yang membawa darah masuk ke tubuh. Selanjutnya terdapat saluran empedu dan pembuluh darah. Saluran empedu berbentuk berupa sebuah tabung yang

membawa empedu melalui hepar dan kantong empedu. Pembuluh darah terdiri dari *vena cava inferior*, vena porta hepar, dan vena hepatic. Hepar juga memiliki sistem arteri dan arteriol tersendiri yang menyediakan darah beroksigen untuk organ-organ lainnya (Austin, 2017).

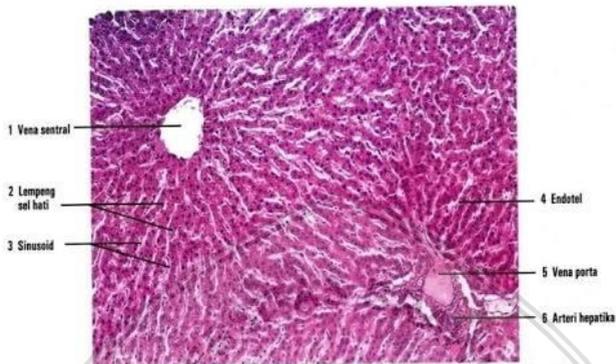


Gambar 6. Struktur anatomi hepar

Secara mikroskopis setiap lobus hepar terbagi menjadi struktur yang disebut dengan lobulus. Lobulus hepar merupakan struktur berupa lembaran-lembaran. Setiap lobulus dipisahkan oleh jaringan pengikat dan pembuluh darah. Daerah ini disebut dengan *trigonum portae* yang berisi cabang arteri hepatica, cabang vena porta, cabang duktus biliferus, dan anyaman pembuluh limfa. Lobulus hepar tersusun secara radial mengelilingi bagian vena sentral. Secara fungsional, lobulus hepar dibagi dalam tiga zona yaitu zona 1, zona 2, dan zona 3. Zona 1 adalah zona aktif, yaitu sel-sel yang paling dekat dengan pembuluh darah. Zona 2 adalah zona intermedia, sel-sel yang terdapat pada zona ini memberi respon kedua terhadap darah. Zona 3 adalah zona pasif, pada zona ini aktivitas dari sel-selnya lebih rendah (Rogers, 2005).

Sel-sel hepar memiliki bentuk poligonal yang memiliki 6 atau lebih permukaan dengan ukuran sekitar 20-35 nm. Sel hepar memiliki membran sel yang terlihat jelas, inti bulat atau lonjong dengan permukaan teratur dan besar inti yang bervariasi. Antara lembaran sel hepar terdapat kapiler-kapiler yang disebut sinusoid

(Gambar 7). Sinusoid merupakan cabang dari vena porta dan arteri hepatica. Di sekitar sel sinusoid dikelilingi oleh sebuah saluran empedu yang membentuk kapiler empedu (Cormack, 2001).



(David, 2015)

Gambar 7. Struktur histologi hepar dengan pewarnaan Hematoxylin-Eosin

Struktur sinusoid tidak teratur dan hanya terdiri dari satu lapis sel endotel yang tersusun secara diskontinyu. Sinusoid memiliki pembatas yang tidak sempurna yang memungkinkan pengaliran makromolekul dengan mudah dari lumen menuju sel-sel hepar maupun sebaliknya. Selain itu sinusoid juga dikelilingi dan disokong oleh selubung serabut retikuler halus yang berperan penting dalam mempertahankan bentuk dari sinusoid. Sel-sel fagosit dari retikuloendotel atau yang dikenal sebagai sel Kuffer juga ditemukan didalam sinusoid. Sel Kupfer ini memiliki sifat yang lebih permeabel sehingga mudah dilalui oleh sel-sel makro dibandingkan kapiler-kapiler yang lain (Cormack, 2001).

2.7.2 Fisiologi hepar

Fungsi utama hepar adalah sebagai pusat metabolisme tubuh yang berperan dalam sistem sirkulasi untuk menampung, mengubah, menimbun metabolit, serta menetralsir dan mengeluarkan substansi

toksik yang terbawa oleh aliran darah. Hepar juga berperan dalam proses detoksifikasi untuk menghindari terjadinya kerusakan seluler akibat adanya racun. Hepar menerima suplai darah sekitar 80%, dari vena porta yang mengalir dari saluran pencernaan. Bahan-bahan toksik yang berasal dari tumbuhan, fungi, dan produk bakteri akan diabsorpsi menuju pembuluh darah portal dan ditransfer ke dalam hepar (MacLachlan & Cullen 1995). Bahan toksik yang terkumpul di jaringan hepar dapat mengakibatkan berbagai gangguan fisiologi yang berdampak pada kerusakan jaringan hepar. Kerusakan jaringan hepar dapat bersifat *irreversible* (tetap) dan *reversible* (sementara). Kerusakan jaringan hepar yang sering ditemui adalah kerusakan yang bersifat sementara, salah satu contohnya adalah degenerasi jaringan hepar yang mengakibatkan perubahan struktur normal hepar. Proses degenerasi yang berlangsung terus-menerus dapat berdampak pada nekrosis sel dan inflamasi (Stanford, 2017).

Faktor penyebab degenerasi sel hepar bermacam-macam antara lain dikarenakan gangguan metabolisme, toksik, dan trauma. Saat ini kasus gangguan hepar yang sering ditemui adalah dikarenakan konsumsi herbal yang berlebih. Tumbuhan herbal umumnya mengandung beberapa senyawa bersifat toksik yang apabila dikonsumsi dalam dosis yang tidak tepat akan berdampak pada berbagai gangguan fisiologis tubuh salah satunya adalah kerusakan jaringan hepar (Yunita dkk., 2014).

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Fisiologi, Struktur dan Perkembangan Hewan, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam dan di Laboratorium Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya, yang dimulai pada bulan Januari 2018 – Mei 2018.

3.2 Deskripsi Hewan Coba

Penelitian ini menggunakan hewan coba mencit (*Mus musculus*) bunting galur BALB/c yang diperoleh dari LPPT Universitas Gajahmada, Yogyakarta. Mencit yang digunakan berumur 4-5 minggu dengan kondisi yang sehat yaitu aktif bergerak, kaki tidak bengkok atau cacat serta bulu lebat dan tidak rontok. Mencit diaklimatisasi terlebih dahulu selama 7 hari agar bisa beradaptasi dengan lingkungan baru. Mencit dirawat pada bak plastik sebagai kandang yang dilengkapi dengan tutup dari kawat dengan serut kayu atau sekam sebagai alas. Mencit juga diberi makanan dan minuman yang cukup. Sekam pada kandang mencit diganti maksimal 3 hari sekali untuk menjaga kebersihan. Berat badan mencit dikontrol setiap hari dengan menimbang menggunakan timbangan.

3.3 Pembuntingan Hewan Coba

Setelah 7 hari aklimatisasi, mencit dikawinkan dengan cara dalam satu kandang diisi dengan 1 mencit betina dan 1 mencit jantan selama 3 hari agar terjadi perkawinan. Pembuntingan mencit dilakukan ketika mencit berada dalam *fase* awal estrus atau akhir proestrus yang diketahui dari pembuatan preparat apus vagina. Setiap 3 hari sekali mencit jantan diganti dari kandang satu ke kandang lainnya. Setiap pagi dilakukan pengamatan ada tidaknya vagina *plug* atau sumbat vagina pada mencit betina untuk mengetahui terjadinya perkawinan. Setelah ditemukan adanya vagina *plug* selanjutnya dilakukan apusan vagina untuk mengetahui *fase* metestrus. Jika dalam dua kali pengamatan apus vagina mencit tetap dalam *fase* metestrus maka mencit dinyatakan bunting.



3.4 Ekstraksi Daun Katuk (*Sauropus androgynus*) dan Tapak Liman (*Elephantopus scaber*)

Serbuk daun *E. scaber* dan *S. androgynus* diperoleh dari Material Medika Batu, Malang. Serbuk daun dimasukkan ke dalam botol dan ditambah etanol 70% lalu botol ditutup rapat. Botol kemudian disimpan pada tempat gelap selama 24 jam. Larutan disaring dan dilakukan pergantian etanol. Selanjutnya larutan diinkubasi kembali hingga terlihat warna asli etanol yang menandakan bahwa senyawa telah terekstrak seluruhnya. Hasil ekstraksi diuapkan pada suhu 50 °C dalam *water bath* dengan menggunakan *vacuum pump evaporator* untuk menghilangkan kandungan etanol yang masih tersisa. Hasil penguapan yang diperoleh berupa ekstrak kental (pasta). Pasta kemudian ditimbang sesuai dosis perlakuan menggunakan neraca elektrik untuk membuat larutan stok.

3.5 Preparasi Isolat *E. coli*

Isolat bakteri *E. coli* diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya Malang. Bakteri dari media NA (*Nutrient agar*) dicuplik satu ose dan diinokulasikan pada 50 ml media cair NB (*Nutrient broth*). Bakteri pada media cair diinkubasi pada suhu ruang selama 2 jam kemudian dihitung jumlah bakteri menggunakan hemositometer. Setelah didapatkan jumlah bakteri 10^7 CFU/ml selanjutnya bakteri dari media cair diambil 1 mL dan disentrifugasi pada kecepatan 10.000 rpm, suhu 4 °C, selama 5 menit. Supernatan dibuang dan pelet ditambah dengan 1 mL PBS. Sampel bakteri disentrifugasi kembali pada kecepatan 10.000 rpm, suhu 4 °C, selama 5 menit. Supernatan dibuang dan pelet ditambah dengan 1 mL PBS. Selanjutnya bakteri *E. coli* diinjeksikan 0,1 mL pada mencit secara intraperitoneal.

3.6 Uji Konfirmasi *E. coli*

Setelah dilakukan infeksi selama 24 jam selanjutnya dilakukan uji konfirmasi untuk mengetahui bahwa bakteri telah menginfeksi mencit. Uji konfirmasi dilakukan dengan mengambil sampel darah mencit melalui pembuluh *vena caudalis* (ekor). Mencit dimasukan ke dalam penyungkup terlebih dahulu. Selanjutnya ekor dibersihkan dengan alkohol 70% agar steril dan terhindar dari rasa nyeri. Ekor

mencit dipotong ± 2 mm pada bagian ujungnya. Tetesan darah pertama dibuang dan diusap dengan tisu. Ekor mencit selanjutnya diurut dari pangkal menuju ujung ekor untuk mengeluarkan darah. Tetesan darah yang keluar ditampung ke dalam tabung EDTA.

Darah selanjutnya ditambah 450 μ l NaCL fisiologi steril. Selanjutnya darah ditanam pada 4,5 ml media NB dan diinkubasi 24 jam dalam *shaker* inkubator pada suhu 37 °C dan kecepatan 120 rpm. Hasil penanaman bakteri pada media NB lalu diinokulasikan pada media NA dan diinkubasi 24 jam pada suhu ruang. Selanjutnya dilakukan uji katalase dengan mengambil 1 ose biakan bakteri lalu diletakan pada kaca objek yang telah ditetesi H₂O₂. Hasil positif ditandai dengan adanya gelembung sedangkan hasil negatif tidak menghasilkan gelembung (Cohen, 2011).

Selanjutnya dilakukan uji pewarnaan gram dengan mengambil 1 ose biakan bakteri murni kemudian diusapkan pada gelas obyek yang sudah ditetesi air steril dan diratakan. Preparat selanjutnya difiksasi di atas api bunsen. Preparat yang telah siap dicat digenangi dengan cat Gram A selama 1 - 3 menit, kemudian cat dibuang lalu preparat dicuci dengan air mengalir dan dikering anginkan. Preparat digenangi cat Gram B selama 0,5 - 1 menit, kemudian cat dibuang lalu preparat dicuci dengan air mengalir dan dikering anginkan. Preparat digenangi cat Gram C kurang lebih 30 detik, kemudian cat dibuang lalu preparat dicuci dengan air mengalir dan dikering anginkan. Preparat digenangi cat Gram D selama 1-2 menit. Sisa cat dibuang dan preparat dikering anginkan. Selanjutnya preparat siap diamati dengan mikroskop. Preparat yang terlihat berwarna merah muda menandakan bahwa bakteri merupakan jenis bakteri Gram negatif (Mohan, 2009).

1.7 Pemberian Perlakuan

Pemberian kombinasi ekstrak daun *E. scaber* dan *S. androgynus* pada mencit dilakukan secara oral pada kebuntingan hari ke-1 hingga ke-4, kemudian dilakukan infeksi *E. coli* pada hari ke-5 kebuntingan secara intraperitoneal, selanjutnya diberikan kembali kombinasi ekstrak hingga pembedahan. Pembedahan dilakukan selama 2 kali yaitu hari ke-8 kebuntingan dan hari ke-16 kebuntingan. Percobaan ini menggunakan 8 kelompok mencit yang terdiri atas kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Penjelasan mengenai kelompok kontrol dan perlakuan adalah sebagai berikut:

- Kelompok kontrol sehat (K-): Mencit bunting tanpa infeksi *E. coli* dan tidak diberikan kombinasi ekstrak.
- Kelompok kontrol sakit (K+): Mencit bunting yang diinfeksi *E. coli* dan tidak diberi kombinasi ekstrak.
- Kelompok perlakuan 1 (P1): Pemberian ekstrak *E. scaber* 100% (mencit bunting yang diinfeksi *E. coli* kemudian diberi ekstrak *E. scaber* 200 mg/kg BB).
- Kelompok perlakuan 2 (P2): Pemberian ekstrak *E. scaber* 75% dan *S. androgynus* 25% (mencit bunting yang diinfeksi *E. coli* kemudian diberi kombinasi ekstrak *E. scaber* 150 mg/kg BB dan *S. androgynus* 37,5 mg/kg BB).
- Kelompok perlakuan 3 (P3): Pemberian ekstrak *E. scaber* 50% dan *S. androgynus* 50% (mencit bunting yang diinfeksi *E. coli* kemudian diberi kombinasi ekstrak *E. scaber* 100 mg/kg BB dan *S. androgynus* 75 mg/kg BB).
- Kelompok perlakuan 4 (P4): Pemberian ekstrak *E. scaber* 25% dan *S. androgynus* 75% (mencit bunting yang diinfeksi *E. coli* kemudian diberi kombinasi ekstrak *E. scaber* 50 mg/kg BB dan *S. androgynus* 112,5 mg/kg BB).
- Kelompok perlakuan 5 (P5): Pemberian ekstrak *S. androgynus* 100% (mencit bunting yang diinfeksi *E. coli* kemudian diberi kombinasi ekstrak *S. androgynus* 150 mg/kg BB).
- Kelompok perlakuan 6 (P6) : Pemberian ekstrak *E. scaber* 50% dan *S. androgynus* 50% (mencit bunting tanpa infeksi *E. coli* kemudian diberi kombinasi ekstrak *E. scaber* 100 mg/kg BB dan *S. androgynus* 75 mg/kg BB).

Tabel 1. Kelompok perlakuan

Kelompok Perlakuan	Infeksi 10 ⁷ CFU/ml <i>E. coli</i>	Serbuk <i>E. scaber</i> mg/kg BB	Serbuk <i>S. androgynus</i> mg/kg BB
K-	-	-	-
K+	+	-	-
P1	+	200	-
P2	+	150	37,5
P3	+	100	75
P4	+	50	112,5
P5	+	-	150
P6	-	100	75

(Djati dkk., 2017)

Keterangan:

(-) = tidak diberi perlakuan

(+) = diberi perlakuan

3.8 Pembuatan Preparat Histologi Ginjal dan Hepar

Mencit dimatikan dengan cara dislokasi leher kemudian dibedah bagian perutnya untuk diisolasi organ hepar dan ginjalnya. Masing-masing organ dipotong dengan ketebalan 2-3 mm. Potongan organ difiksasi dengan larutan formalin 10% dan diinkubasi selama 24 jam. Organ yang telah difiksasi dicuci dengan alkohol 3x, kemudian dilanjutkan dengan proses dehidrasi dengan larutan alkohol konsentrasi bertingkat 70%, 80%, 90%, 96%, dan alkohol absolut, masing-masing selama 30 menit. Selanjutnya dilakukan proses penjernihan (*clearing*) dengan alkohol absolut : xilol (3:1; 1:1; dan 1:3) masing-masing selama 10 menit pada suhu ruang dan dilanjutkan dengan perendaman organ pada larutan xilol I dan xilol II masing-masing selama 20 menit. Proses selanjutnya adalah infiltrasi, yaitu potongan organ direndam pada larutan xilol : parafin (1:1) selama 1 jam pada suhu 54°C. Selanjutnya organ direndam dalam parafin I selama 24 jam pada suhu 54°C dan dilanjutkan perendaman pada parafin II selama 1 jam dengan suhu 54°C. Potongan organ selanjutnya diletakkan di dalam cetakan lalu dituang parafin cair hingga organ terendam dan didinginkan pada suhu ruang hingga mengering menjadi blok parafin. Setelah kering blok parafin dikeluarkan dari cetakan lalu pinggiran blok parafin dirapikan.

Kemudian blok parafin ditempelkan pada cetakan plastik dan dipasang pada *holder* mikrotom putar yang telah diatur ketebalannya, lalu dilakukan pemotongan dengan ketebalan 5 μm hingga terbentuk pita parafin. Pita parafin yang terbentuk diletakkan pada permukaan air hangat suhu 45°C lalu ditempelkan pada gelas obyek yang telah dilapisi mayer albumin. Preparat kemudian diinkubasi pada suhu 60°C selama 45 menit hingga preparat benar-benar menempel pada gelas obyek (Shi dkk., 2001).

3.9 Pewarnaan Hematoxylin Eosin (HE)

Sebelum dilakukan pewarnaan dilakukan deparafinisasi terlebih dahulu dengan merendam preparat pada larutan xilol I dan xilol II masing-masing selama 5 menit dan dilanjutkan dengan perendaman preparat pada xilol : alkohol (1:1) selama 2 menit. Selanjutnya dilakukan proses rehidrasi dalam alkohol bertingkat 100%, 95%, 80%, 70%, 60%, 50%, 40%, dan 30% masing-masing selama 5 menit, lalu dicuci dengan akuades. Setelah proses rehidrasi preparat siap diwarnai dengan pewarna hematoxylin. Pewarnaan dilakukan dengan merendam preparat pada larutan hematoxylin selama 20 menit. Setelah pewarnaan dengan hematoxylin preparat direndam pada akuades selama 2 menit lalu dicuci dengan air mengalir untuk menghilangkan sisa-sisa pewarna. Kemudian preparat direndam kembali pada akuades selama 2 menit dan dilanjutkan dengan perendaman preparat dalam larutan alkohol bertingkat 30%, 40%, 50%, 60% dan 70% masing-masing selama 5 menit. Selanjutnya preparat diwarnai dengan pewarna eosin selama 3 menit. Kemudian dilanjutkan lagi dengan perendaman pada larutan alkohol bertingkat 70%, 80%, 90%, dan 100%. Sisa alkohol dihisap dengan tisu dan selanjutnya dilakukan proses *clearing* menggunakan xilol I dan xilol II masing-masing selama 2 menit. Preparat kemudian dikeringkan lalu ditetesi entelan dan ditutup dengan *cover glass* (Shi dkk., 2001).

3.10 Pengamatan Histologi

Preparat histologi ginjal dan hepar yang telah diwarnai diamati dengan mikroskop cahaya BX51 perbesaran 10x40. Selanjutnya dilakukan perhitungan sel yang mengalami nekrosis pada jaringan hepar dan ginjal, masing-masing pengamatan dilakukan sebanyak 10 bidang pandang. Hasil perhitungan dijadikan data kualitatif dan hasil

pengamatan preparat histologi hepar dan ginjal didokumentasikan (Wayan dkk., 2001).

3.11 Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) faktorial. Faktor pertama adalah dosis perlakuan dan faktor kedua hari pembedahan. Hari pembedahan dilakukan dua kali yaitu pada hari ke-8 kebuntingan dan hari ke-16 kebuntingan.

3.12 Analisis Data

Data berupa nilai persentase dari perhitungan sel nekrosis pada preparat hepar dan ginjal dianalisa menggunakan *two way ANOVA* dengan selang kepercayaan 95% dan dilanjutkan *Tukey test*. Analisis dilakukan dengan menggunakan program SPSS 20.0 *for windows*.



BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

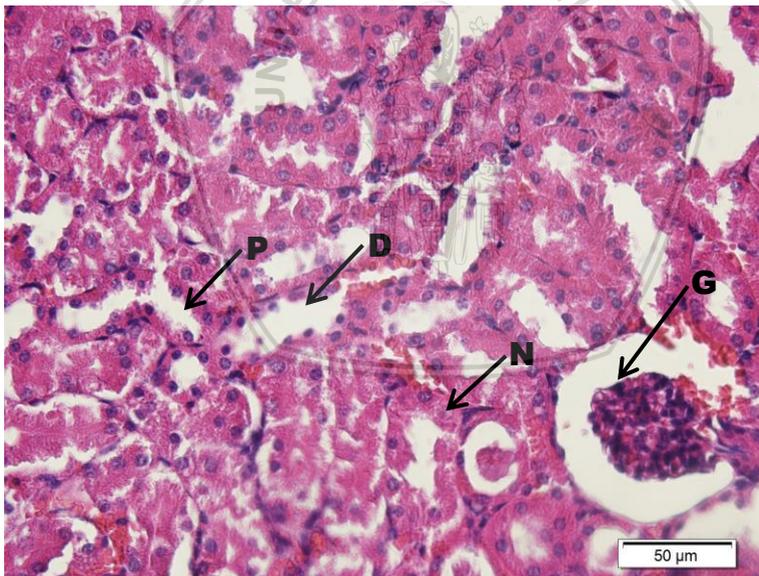
4.1 Struktur Histologi Ginjal

Struktur jaringan ginjal antar kelompok perlakuan menunjukkan hasil gambaran histologi yang tidak berbeda jauh dengan histologi ginjal pada umumnya. Bagian-bagian jaringan ginjal yang teramati adalah glomerulus, kapsula Bowman, *space Bowman*, dan tubulus-tubulus baik tubulus distal maupun tubulus proksimal. Selain struktur jaringan tersebut juga ditemukan beberapa sel-sel ginjal yang mengalami nekrosis yang ditandai dengan rusaknya inti dan membran sel. Beberapa sel nekrosis yang ditemukan terlihat inti sel yang menghitam dan batas antar sel yang tidak jelas karena rusaknya membran. Selain itu sel nekrosis juga terlihat dari inti sel yang mulai pecah dan rusak sehingga inti sel tidak terlihat jelas (Gambar 8 dan 9).

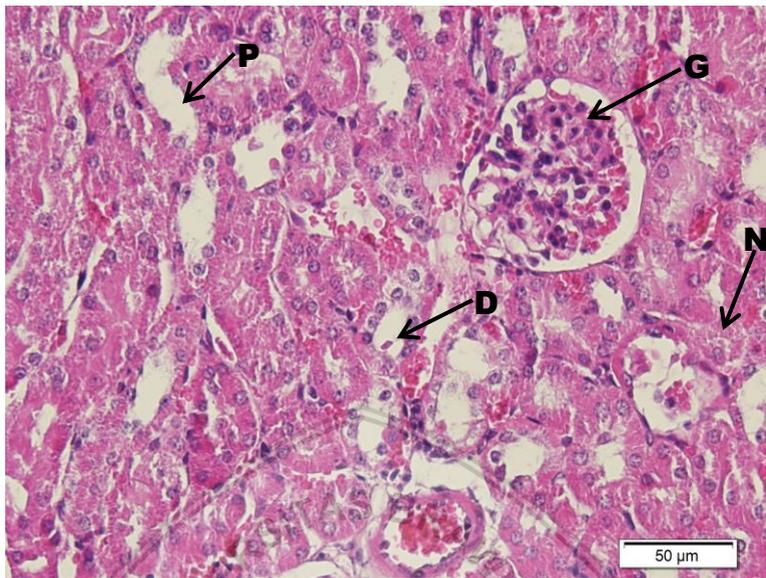
Kelompok kontrol sehat (K-) didapatkan gambaran histologi jaringan seperti yang terlihat pada Gambar 8. Terlihat adanya glomerulus, sel podosit dan tubulus-tubulus ginjal baik tubulus distal maupun tubulus proksimal. Tubulus proksimal ditandai dengan adanya *brush border* di sekitar sel sedangkan tubulus distal tidak memiliki *brush border*. Bagian glomerulus terbungkus oleh kapsula Bowman dan terdapat ruang yang disebut *space Bowman*. Selain sel-sel normal, juga ditemukan beberapa sel nekrosis pada kelompok K-. Sel nekrosis pada kelompok K- hanya terlihat sedikit dan sebagian besar selnya masih normal. Sel-sel pada tubulus distal maupun proksimal juga masih dapat dibedakan dengan jelas.

Kemudian untuk kelompok kontrol sakit (K+), gambaran histologinya terlihat pada Gambar 9. Struktur jaringan yang teramati sama seperti pada kelompok K- yaitu glomerulus, sel podosit, tubulus distal, dan tubulus proksimal serta sel nekrosis. Namun pada kelompok K+ terlihat sel nekrosis yang lebih banyak dibanding kelompok K-. Sel nekrosis ini ditandai dengan mulai memudarnya inti sel dan membran sel yang mulai rusak. Sel-sel pada tubulus-tubulus baik tubulus distal maupun proksimal terlihat tidak beraturan karena banyaknya sel yang mengalami nekrosis. Selain itu tubulus-tubulus ginjal juga banyak yang mengalami penyusutan.

Kelompok K⁺ merupakan kelompok mencit yang diinfeksi dengan *E. coli* 10⁷ CFU/ml tanpa *treatment* ekstrak. *E. coli* merupakan bakteri yang dapat dengan mudah menginfeksi organ ginjal melalui saluran kemih (Bien dkk., 2012). Pada keadaan bunting mencit dapat lebih mudah terinfeksi *E. coli* karena peningkatan hormon progesteron dan esterogen yang menyebabkan otot yang melapisi uretra berelaksasi sehingga terjadi pelebaran pada ureter dan bakteri akan mudah menginfeksi saluran kemih dan menyebar menuju ginjal melali uretra (Yin, 2007). Selain itu, keadaan bunting juga akan menurunkan respon imun. Peningkatan progesteron dapat menekan sekresi TNF- α , menghambat produksi sitokin dan menekan respon imun bawaan seperti makrofag dan sel NK (*Natural killer*) (Robinson & Sabra, 2012). Sehingga pada perlakuan K⁺ terlihat sel nekrosis yang lebih banyak jika dibandingkan dengan K⁻ maupun perlakuan kombinasi ekstrak.

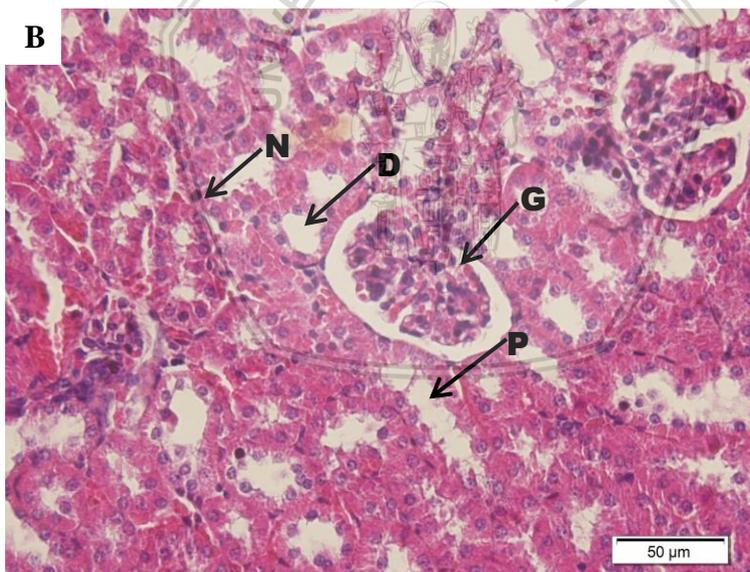
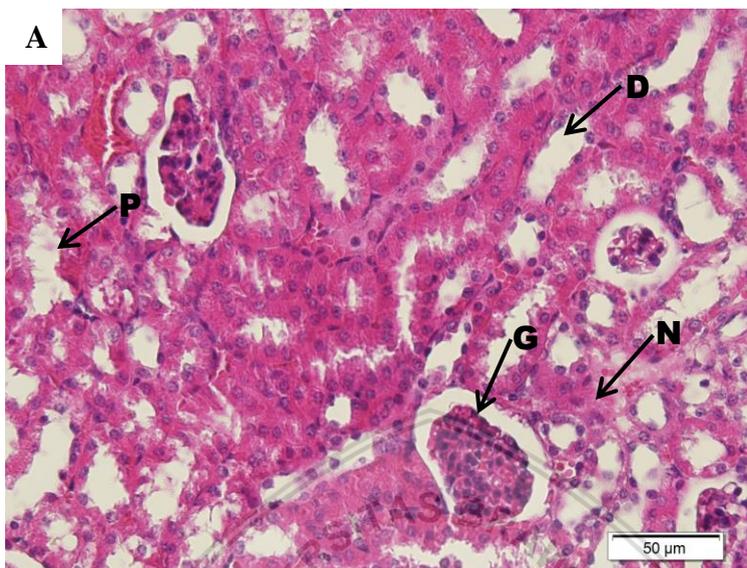


Gambar 8. Struktur jaringan ginjal perbesaran 400x kontrol sehat (K⁻). Keterangan gambar: G (glomerulus), P (tubulus proksimal), D (tubulus distal), dan N (sel nekrosis)

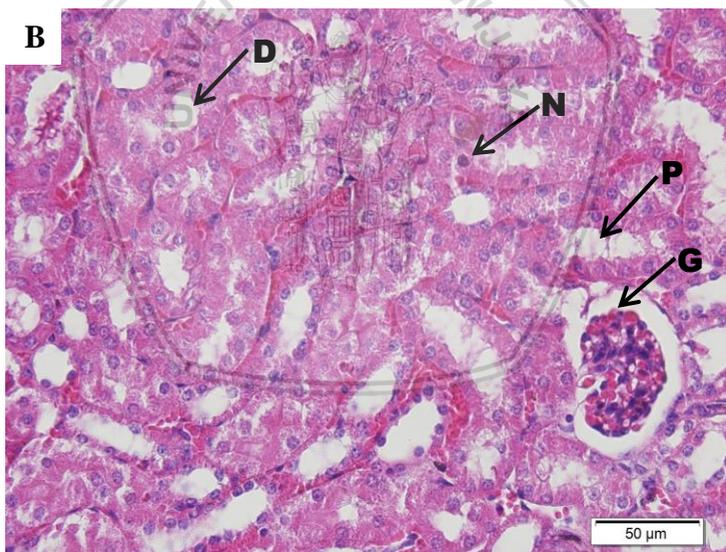
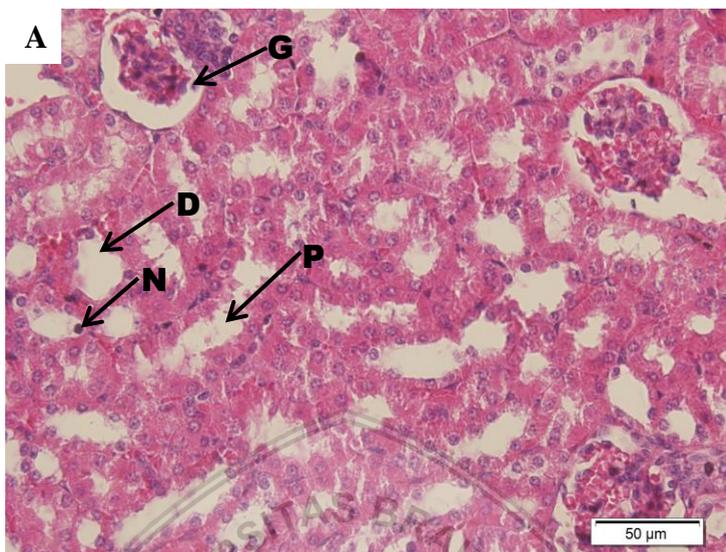


Gambar 9. Struktur jaringan ginjal perbesaran 400x kontrol sakit (K+). Keterangan gambar: G (glomerulus), P (tubulus proksimal), D (tubulus distal), dan N (sel nekrosis)

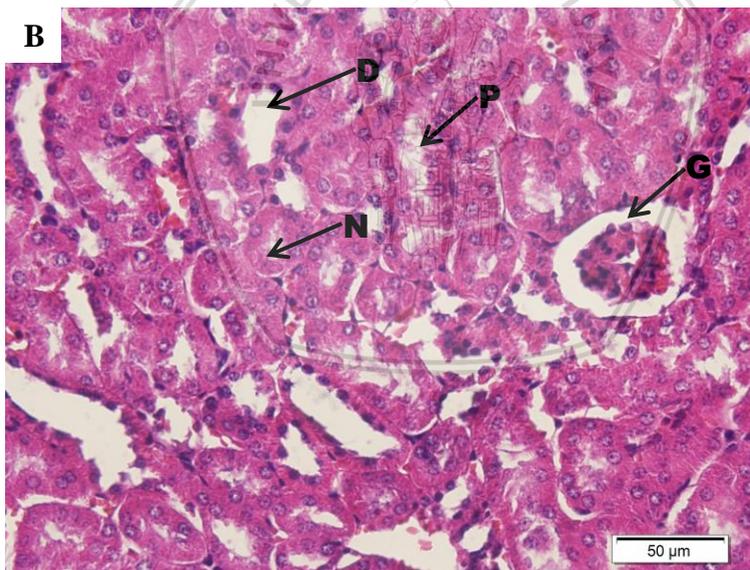
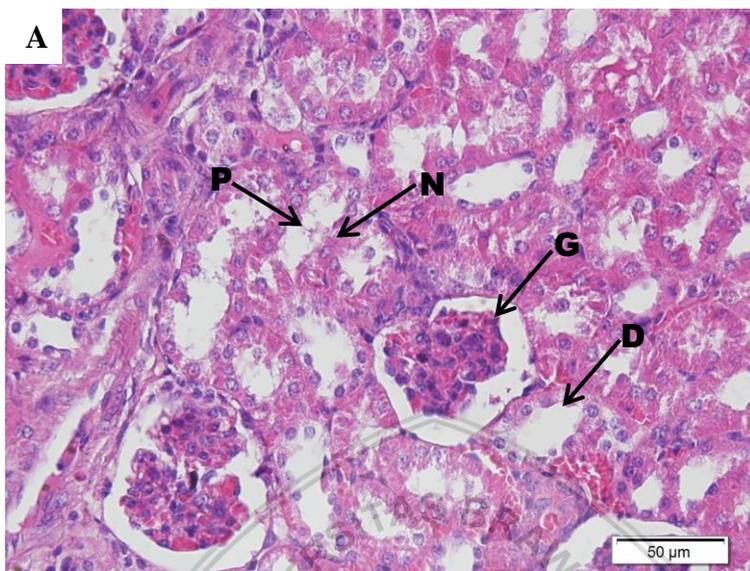
Selanjutnya pada kelompok kombinasi ekstrak yaitu P1, P2, P3, P4, P5, dan P6 juga terlihat bagian-bagian jaringan ginjal yaitu glomerulus, tubulus distal, tubulus proksimal dan sel-sel podosit. Sel-sel nekrosis juga ditemukan pada tiap kelompok perlakuan. Sel-sel nekrosis yang ditemukan meliputi piknosis, karioreksis, dan kariolisis. Masing-masing tahapan nekrosis tersebut memiliki gambaran mikroskopi yang berbeda-beda. Piknosis terlihat inti yang berwarna gelap dan terkondensasi. Karioreksis terlihat inti sel yang mengalami fragmentasi sehingga inti mulai terlihat hancur dan tidak utuh lagi. Kemudian kariolisis terlihat mulai hilangnya inti sel dan pecahnya membran sehingga bentuk sel menjadi tidak beraturan. Gambaran histologi jaringan ginjal pada masing-masing perlakuan kombinasi ekstrak dapat dilihat pada Gambar 10, 11 dan 12.



Gambar 10. Struktur jaringan ginjal perbesaran 400x A). P1 (100% *E. scaber* + infeksi *E. coli*), B). P2 (75% *E. scaber* dan 25% *S. androgynus* + infeksi *E. coli*). Keterangan gambar: G (glomerulus), P (tubulus proksimal), D (tubulus distal), dan N (sel nekrosis)



Gambar 11. Struktur jaringan ginjal perbesaran 400x A). P3 (50% *E. scaber* dan 50% *S. androgyus* + infeksi *E. coli*), B). P4 (25% *E. scaber* dan 75% *S. androgyus* + infeksi *E. coli*). Keterangan gambar: G (glomerulus), P (tubulus proksimal), D (tubulus distal), dan N (sel nekrosis)



Gambar 12. Struktur jaringan ginjal perbesaran 400x A) P5 (100% *S. androgynus* + infeksi *E. coli*), B) P6 (50% *E. scaber* dan 50% *S. androgynus*). Keterangan gambar: G (glomerulus), P (tubulus proksimal), D (tubulus distal), dan N (sel nekrosis)

Tiap ginjal tersusun atas unit struktural dan fungsional yang dinamakan nefron. Tiap nefron terdiri atas bagian yang melebar yang dinamakan korpuskula renalis atau badan malphigi, tubulus kontortus proksimal, lengkung Henle serta tubulus kontortus distal (Ernst dkk., 2011). Glomerulus adalah pembuluh darah kapiler cabang dari arteriol aferen, pada permukaan luar kapiler glomerulus terdapat sel-sel podosit. Glomerulus dibungkus oleh kapsula Bowman yang terdiri atas sel epitel gepeng selapis (Pearce, 2009). Terdapat dua jenis tubulus ginjal yaitu tubulus kontortus proksimal dan tubulus kontortus distal. Tubulus kontortus proksimal memiliki banyak mikrovili (*brush border*) sedangkan tubulus kontortus distal tidak memiliki *brush border*. Antara tubulus kontortus distal dan tubulus kontortus proksimal terdapat lengkung Henle (*loop of Henle*) yang terdiri atas segmen tipis dan diikuti dengan segmen tebal (Jankeer & Nouri, 2009).

Sel-sel nekrosis merupakan sel yang mengalami cedera dan dapat mengakibatkan kematian sel dengan cara autolisis. Hal ini dapat terjadi akibat adanya rangsangan berbahaya seperti kekurangan oksigen, radiasi, infeksi (bakteri, jamur, virus, parasit), maupun paparan bahan-bahan toksik (Adigun & Steve, 2017). Menurut Price & Wilson (2006), terdapat tiga tahapan nekrosis yaitu piknosis, karioreksis, dan kariolisis yang masing-masing memiliki tanda berbeda-beda. Piknosis ditandai dengan inti yang berwarna gelap dan terkondensasi, karioreksis ditandai dengan inti sel yang mengalami fragmentasi sehingga inti mulai terlihat hancur, dan kariolisis yang ditandai dengan mulai hilangnya inti sel dan pecahnya membran.

Pengaruh paparan senyawa asing terhadap fisiologi tubuh dapat dilihat dari kerusakan jaringan ginjal. Ginjal merupakan organ sekresi utama sehingga semua zat yang masuk ke dalam tubuh akan diproses di dalam ginjal dan apabila terdapat senyawa yang bersifat toksik masuk ke dalam tubuh maka akan langsung menyerang ginjal. Senyawa toksik yang terkandung di dalam tanaman dapat meningkatkan laju aliran darah dan memperluas permukaan endothelial ginjal. Penggunaan berbagai ramuan tradisional atau herbal dapat berdampak pada cedera ginjal akut, cacat fungsi tubular, *diselectrolytaemias*, hipertensi sistemik, penyakit ginjal kronis, nekrosis papiler ginjal, urolitiasis dan urothelial kanker (Mayo, 2017).

Korteks ginjal merupakan bagian pertama yang dilalui oleh zat-zat yang masuk ke dalam ginjal. Zat yang masuk ke dalam ginjal akan difiltrasi di dalam glomerulus, selanjutnya menuju tubulus proksimal untuk proses absorpsi dan diteruskan menuju tubulus distal untuk reabsorpsi. Berdasarkan fungsi tersebut maka sel epitel tubulus ginjal baik tubulus proksimal maupun tubulus distal lebih sensitif terhadap paparan senyawa asing sehingga bagian ginjal ini rentan mengalami nekrosis (Paul & Rick, 2013).

Pada penelitian ini digunakan kombinasi herbal daun katuk dan tapak liman. Kedua jenis herbal ini selain memiliki berbagai khasiat, juga mengandung beberapa senyawa yang bersifat toksik. Menurut Erawati (2011), daun katuk mengandung kalsium oksalat dalam bentuk roset. Senyawa ini apabila terakumulasi di dalam tubuh dapat berdampak pada kerusakan ginjal, sehingga dapat menimbulkan efek yang sangat berbahaya bagi penderita penyakit batu ginjal. Selain itu senyawa tanin yang terkandung dalam tapak liman jika bereaksi dengan mineral akan membentuk suatu ikatan kompleks yang tidak dapat larut dalam sistem pencernaan sehingga mengakibatkan defisiensi oksigen terhadap jaringan. Hal tersebut berdampak pada terjadinya penyusutan ukuran sel ginjal dan nekrosis sel ginjal (Puspitasari, 2015). Efek tersebut dapat dilihat dari gambaran histologi ginjal, seperti yang terlihat pada hasil penelitian bahwa pada perlakuan kombinasi ekstrak baik P1, P2, P3, P4, P5 dan P6 didapatkan sel nekrosis yang lebih tinggi dibandingkan kontrol sehat (K-).

4.2 Struktur Histologi Hepar

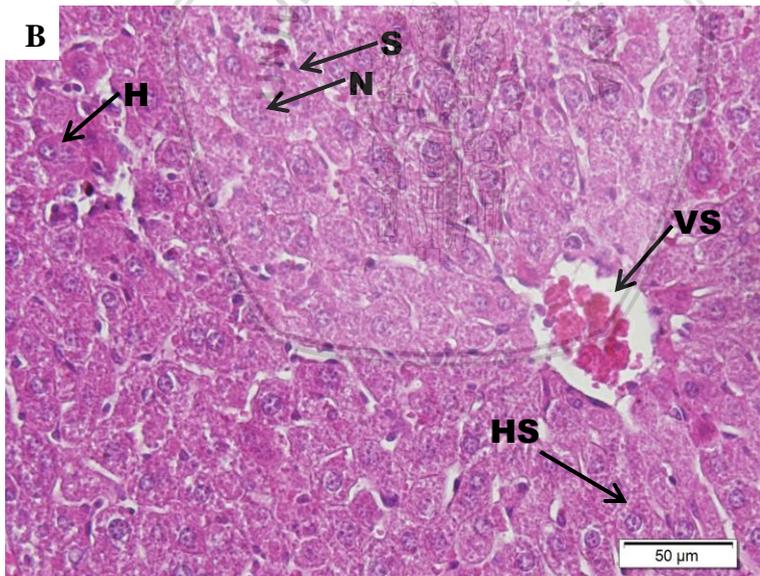
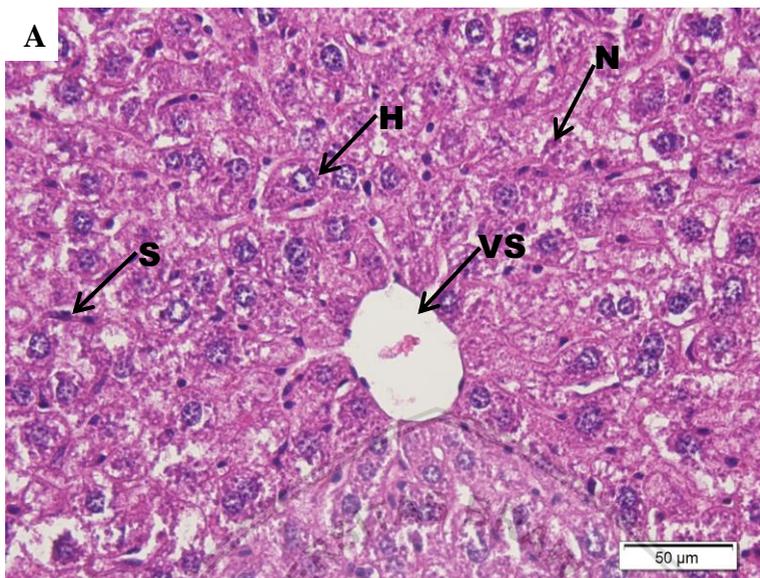
Struktur jaringan hepar antar kelompok perlakuan tampak seperti struktur jaringan hepar pada umumnya yang tersusun atas sel-sel hepatosit dan kapiler-kapiler sinusoid serta ditemukan juga vena sentralis pada beberapa bagian. Namun selain sel-sel yang normal juga ditemukan beberapa sel yang mengalami abnormalitas atau kerusakan pada beberapa kelompok perlakuan maupun kelompok kontrol. Kerusakan-kerusakan tersebut adalah nekrosis dan sel yang mengalami *hydropic swelling*.

Kelompok kontrol sehat (K-) dan kontrol sakit (K+) memiliki gambaran histologi yang terdiri atas sel-sel hepatosit, sinusoid dan vena sentralis (Gambar 13a dan 13b). Sebagian besar sel yang teramati adalah sel hepaosit yang memiliki struktur poligonal dengan

inti yang cukup besar. Di sekitar sel-sel hepatosit terdapat sel-sel kecil berwarna gelap yang menyerupai kapiler yaitu sinusoid. Vena sentralis ditemukan di sekitar sel hepatosit berupa ruang yang cukup besar yang didalamnya terdapat pembuluh darah (Gambar 13). Kemudian juga terdapat beberapa sel yang mengalami nekrosis. Kelompok K- sel nekrosis yang terlihat hanya sedikit. Sedangkan kelompok K+ jumlah sel yang mengalami nekrosis lebih banyak dan beberapa sel juga ada yang mengalami *hydropic swelling* (Gambar 13b).

Sel nekrosis yang ditemukan memiliki inti yang menghitam. Selain itu terdapat pula sel nekrosis yang inti selnya mulai pecah dan rusak sehingga inti sel tidak terlihat jelas. Sel hepatosit yang mengalami nekrosis batas antar selnya juga terlihat tidak jelas karena rusaknya membran (Gambar 13). Sel yang mengalami *hydropic swelling* dicirikan dengan sekumpulan sel yang terlihat berwarna putih dengan batas sel yang tidak terlihat jelas karena banyaknya sel-sel yang menumpuk dan mengalami pembengkakan (Gambar 13b).

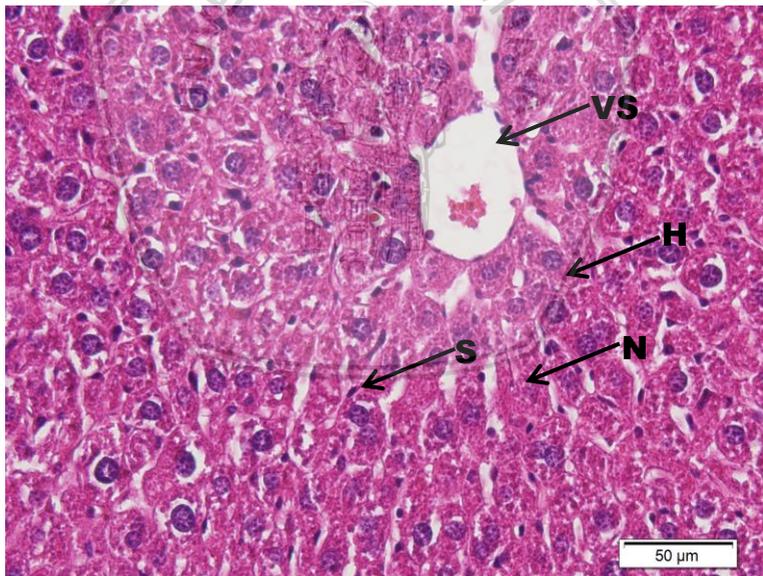
Nekrosis sel pada kelompok K+ terlihat lebih banyak karena infeksi dari *E. coli* yang berdampak pada kerusakan jaringan hepar. *E. coli* merupakan jenis bakteri yang sangat mudah menginfeksi sistem pencernaan. Infeksi *E. coli* pada saluran pencernaan jika tidak segera ditanggulangi dapat menyebar menuju hepar melalui vena porta hepatica yang berasal dari lambung dan usus (Bruns dkk., 2014). Pada keadaan bunting mencit dapat lebih mudah terinfeksi *E. coli* karena peningkatan hormon progesteron yang akan menekan sekresi TNF- α , menghambat produksi sitokin dan menekan respon imun bawaan seperti makrofag dan sel NK (*Natural killer*), (Robinson & Sabra, 2012). Sehingga pada perlakuan K+ terlihat sel nekrosis yang lebih banyak jika dibandingkan dengan K- maupun perlakuan kombinasi ekstrak.



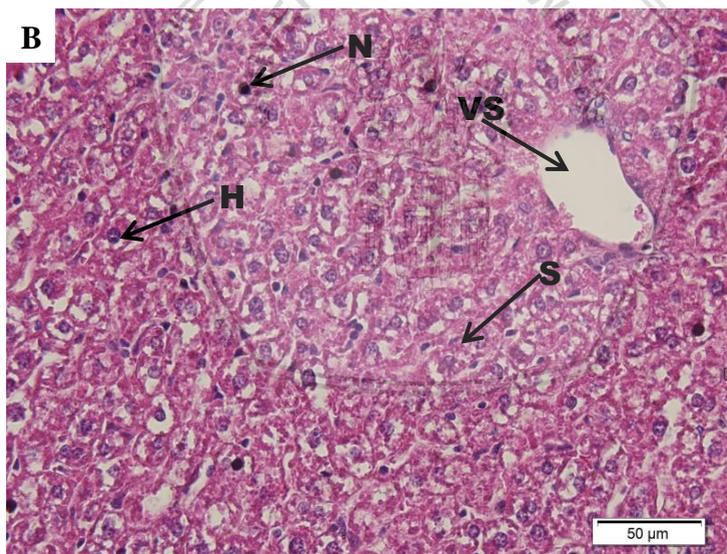
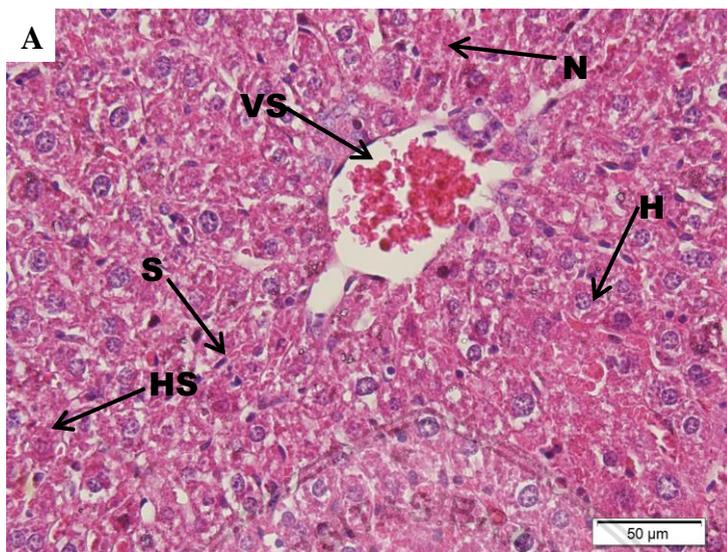
Gambar 13. Struktur jaringan hepar perbesaran 400x A). kontrol sehat (K-), B). kontrol sakit (K+). Keterangan gambar: H (hepatosit), S (sinusoid), VS (vena sentralis), HS (*hydropic swelling*) dan N (sel nekrosis)

Selanjutnya pada kelompok kombinasi ekstrak yaitu P1, P2, P3, P4, P5, dan P6. Juga terlihat bagian-bagian jaringan hepar seperti sel hepatosit, sinusoid, dan vena sentralis. Masing-masing perlakuan ditemukan beberapa sel yang mengalami nekrosis. Seperti nekrosis pada umumnya, nekrosis sel pada sel hepatosit yang teramati meliputi piknosis, karioreksis, dan kariolisis. Piknosis ditandai dengan inti yang menghitam, karioreksis ditandai dengan mulai pecahnya inti sehingga inti terlihat tidak jelas, dan kariolisis ditandai dengan hilangnya inti serta lisisnya membran.

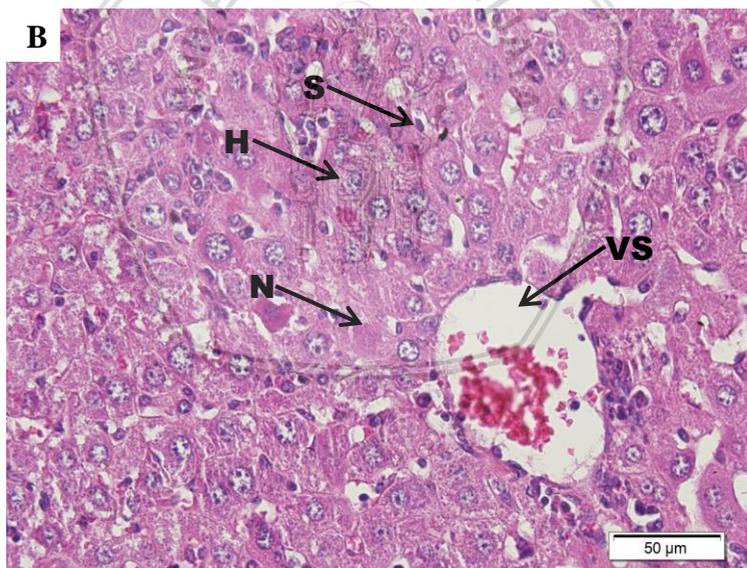
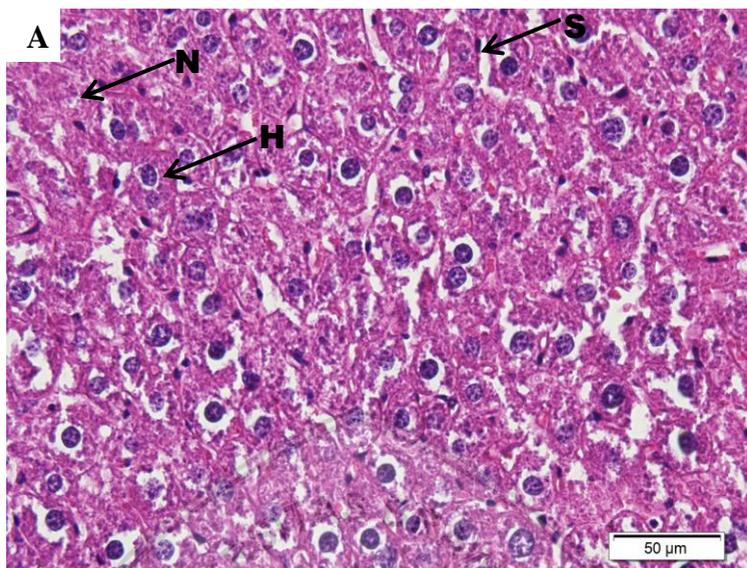
Gambaran histologi jaringan hepar pada masing-masing perlakuan kombinasi ekstrak dapat dilihat pada Gambar 14, 15, 16 dan 17. Selain itu juga ditemukan sel hepatosit yang mengalami *hydropic swelling* seperti yang terlihat pada Gambar 15a. Kondisi *hydropic swelling* ini ditandai dengan sekumpulan sel yang mengalami pembengkakan sehingga sel terlihat bertumpuk.



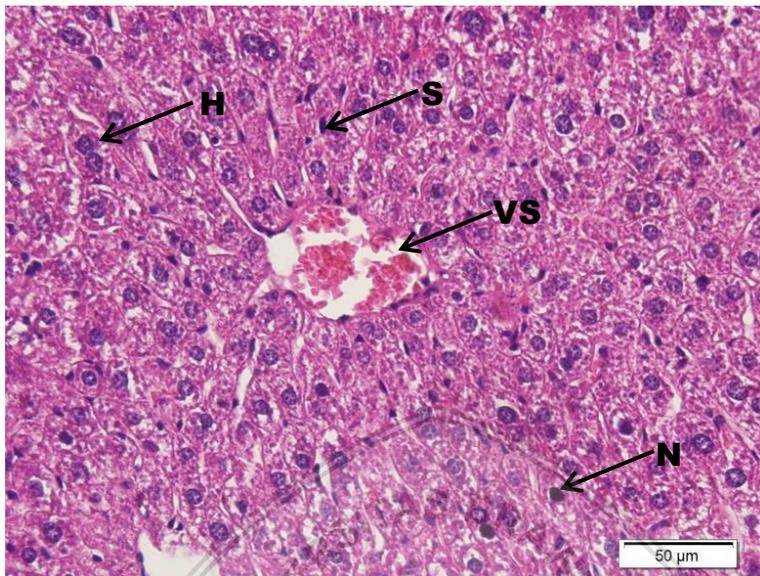
Gambar 14. Struktur jaringan hepar perbesaran 400x P1 (100% *E. scaber* + infeksi *E. coli*). Keterangan gambar: H (hepatosit), S (sinusoid), VS (vena sentralis), dan N (sel nekrosis)



Gambar 15. Struktur jaringan hepar perbesaran 400x A). P2 (75% *E. scaber* dan 25% *S. androgynus* + infeksi *E. coli*), B). P3 (50% *E. scaber* dan 50% *S. androgynus* + infeksi *E. coli*). Keterangan gambar: H (hepatosit), S (sinusoid), VS (vena sentralis), HS (*hydropic swelling*) dan N (sel nekrosis)



Gambar 16. Struktur jaringan hepar perbesaran 400x A). P4 (25% *E. scaber* dan 75% *S. androgynus* + infeksi *E. coli*), B). P5 (100% *S. androgynus* + infeksi *E. coli*). Keterangan gambar: H (hepatosit), S (sinusoid), VS (vena sentralis), dan N (sel nekrosis)



Gambar 17. Struktur jaringan hepar perbesaran 400x perlakuan P6 (50% *E. scaber* dan 50% *S. androgynus*). Keterangan gambar: H (hepatosit), S (sinusoid), VS (vena sentralis), dan N (sel nekrosis)

Umumnya jaringan hepar tersusun atas sel-sel hepar atau hepatosit yang memiliki bentuk poligonal dengan inti bulat atau lonjong dan membran sel yang terlihat jelas. Di antara sel hepatosit terdapat kapiler sinusoid yang tersusun atas lapisan sel-sel endotel. Sinusoid tersusun melingkari bagian *effluent* vena hepatis dan duktus hepatis. Sinusoid juga mengandung sel-sel fagosit dari *retikuloendotel* atau biasa disebut dengan sel Kuppfer yang berfungsi sebagai makrofag (Cormack, 2001). Beberapa situasi dapat menimbulkan terjadinya abnormalitas pada sel-sel hati seperti nekrosis dan *hydropic swelling* (Adigun & Steve, 2017).

Nekrosis merupakan proses cedera sel yang dapat mengakibatkan kematian sel dengan cara autolisis. Nekrosis biasanya terjadi akibat adanya rangsangan berbahaya seperti infeksi (bakteri, jamur, virus, parasit), kekurangan oksigen, radiasi maupun paparan bahan-bahan toksik (Adigun & Steve, 2017). Nekrosis dibagi menjadi tiga tahapan

yaitu piknosis, karioreksis, dan kariolisis. Piknosis ditandai dengan inti terkondensasi dan berwarna gelap karena bertambahnya basofil. Karioreksis merupakan sel yang inti selnya mengalami fragmentasi sehingga mulai terlihat hancur dengan kromatin tersebar dalam sel. Kariolisis ditandai dengan mulai hilangnya inti sel dan pecahnya membran sel (Price & Wilson, 2006). *Hydropic swelling* merupakan edema intraseluler keratinosit yang sering terjadi akibat adanya infeksi virus dan bakteri. Kerusakan ini merupakan cedera sel reversibel yang ditandai dengan masuknya air dan natrium klorida ke dalam cairan sitoplasma sehingga menimbulkan pembengkakan (Rubin dkk, 2011).

Nekrosis sel yang terjadi pada jaringan hepar dapat dipicu berbagai faktor salah satunya adalah faktor dari konsumsi bahan-bahan herbal. Tanaman herbal selain mengandung berbagai senyawa baik juga mengandung beberapa senyawa yang bersifat toksik. Menurut Suprayogi (2000), daun katuk mengandung senyawa alkaloid papaverin yang akan dioksidasi dalam hepar, dan menghasilkan metabolit berbahaya yang berdampak pada kerusakan jaringan hepar. Hepar berperan dalam proses metabolisme dan detoksifikasi, sehingga hepar menjadi sasaran utama dari toksik yang masuk ke dalam tubuh (Stanford, 2017). Seperti yang terlihat pada gambaran histologi hasil pengamatan, bahwa pada perlakuan kombinasi ekstrak sel yang mengalami nekrosis terlihat lebih banyak dibandingkan dengan kontrol sehat (K-).

4.3 Pengaruh Kombinasi Ekstrak Etanol *S. androgynus* dan *E. scaber* terhadap Nekrosis Ginjal

Pengamatan nekrosis sel ginjal dibagi delapan kelompok perlakuan yaitu; kontrol sehat (K-), kontrol sakit (K+), perlakuan kombinasi ekstrak tapak liman dan katuk yaitu; P1, P2, P3, P4, P5, dan P6. Hasil perhitungan sel nekrosis antar kelompok perlakuan didapatkan nilai presentase yang berbeda nyata baik pada bunting hari ke-8 maupun bunting hari ke-16 (Gambar 18).

Bunting hari ke-8 didapatkan nilai nekrosis K-; 13,53%, K+; 39,89%, P1; 23,00%, P2; 23,26%, P3; 25,73%, P4; 26,13%, P5; 28,53% dan P6; 26,06%. Berdasarkan hasil tersebut dapat diketahui nilai sel nekrosis tertinggi ada pada kelompok K+ 39,89% sedangkan nilai terendah pada kelompok K- 13,53%.

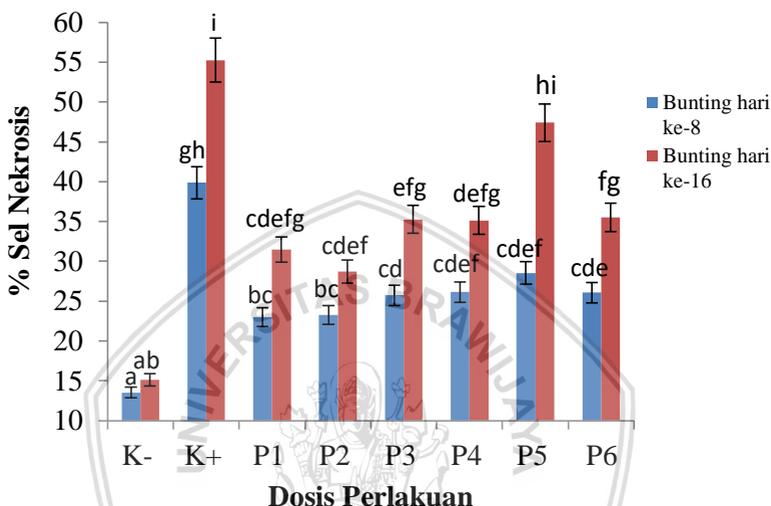
Hal ini dikarenakan pada kelompok K+ mencit diinfeksi dengan *E. coli* 10^7 CFU/ml tanpa *treatment* ekstrak. Seperti yang diketahui bahwa infeksi bakteri *E. coli* dapat berdampak pada berbagai gangguan fisiologis tubuh salah satu contoh yang paling sering ditemui adalah infeksi pada saluran kemih (Brunns dkk., 2014). *E. coli* yang telah menginfeksi saluran kemih dapat dengan mudah menginfeksi ginjal karena ginjal merupakan organ yang berhubungan langsung dengan uretra sehingga bakteri dapat menuju organ ginjal melalui uretra (Bien dkk., 2012). Dinding sel *E. coli* mengandung protein α -hemolysin (HlyA) dan lipopolisakarida (LPS) yang dapat mengakibatkan kerusakan jaringan (Nicole, 2014). Protein HlyA dan LPS yang masuk ke dalam sel *host* akan dianggap sebagai protein asing oleh sel *host* sehingga terjadi respon imun sel *host*. Respon imun ini akan mengakibatkan peningkatan produksi sitokin sehingga terjadi peningkatan produksi interleukin (IL-6 dan IL-8) yang memicu respon inflamasi. Akibatnya terjadilah kerusakan sel yaitu nekrosis (Jahnukainen dkk., 2005).

Sedangkan kelompok K- memiliki nilai nekrosis yang paling rendah karena K- merupakan kelompok mencit sehat tanpa *treatment* dan tanpa infeksi *E. coli*. Pada kelompok K- masih ditemui adanya sel nekrosis karena menurut Price & Wilson (2006), sel-sel tubuh pada umumnya dalam keadaan normal juga dapat mengalami nekrosis, namun nekrosis ini bukan termasuk dalam proses patologi. Nekrosis ini dapat terjadi akibat dari gangguan simultan tubuh yang berdampak pada kerusakan sel.

Perbandingan nilai sel nekrosis pada perlakuan ekstrak memiliki perbedaan yang signifikan dengan kelompok K+ (Gambar 18). Hal ini menunjukkan bahwa pemberian kombinasi ekstrak daun katuk dan tapak liman dapat berperan dalam menurunkan nekrosis sel ginjal akibat infeksi *E. coli*. Menurut Bunawan dkk. (2014), daun katuk (*S. androgynus*) mengandung dua jenis senyawa flavonoid yaitu flavonoid epigen dan flavonoid utelon yang terbukti mampu menghambat kerja dari protein lipopolisakarida dari bakteri Gram negatif sehingga dapat menurunkan respon inflamasi. Sedangkan tapak liman (*E. scaber*) menurut Akiyama dkk. (2001), mengandung senyawa tanin yang bekerja sebagai antimikrobal dengan cara merusak membran dari sel bakteri.

Nilai sel nekrosis antar dosis perlakuan terendah didapatkan pada kelompok P1 23,00% sedangkan nilai tertinggi didapatkan pada

kelompok P5 28,53%. Hal ini menunjukkan bahwa kelompok P1 (100% ekstrak tapak liman) lebih berperan dalam menurunkan nekrosis sel ginjal akibat infeksi *E. coli* dibandingkan dengan perlakuan ekstrak lainnya.



Gambar 18. Rata-rata nekrosis sel ginjal antar kelompok perlakuan; K- (kontrol negatif), K+ (kontrol positif) dan perlakuan kombinasi ekstrak (P1, P2, P3, P4, P5, P6) pada pembedahan 1 dan pembedahan 2

Kemudian pada bunting hari ke-16 didapatkan nilai nekrosis K-; 15,13%, K+; 55,26%, P1; 31,46 %, P2; 28,73%, P3; 35,26%, P4; 35,13%, P5; 47,40%, P6; 35,53%. Sama seperti pada bunting hari ke-8, bunting hari ke-16 nilai sel nekrosis tertinggi ada pada kelompok K+ 55,26% sedangkan nilai terendah pada kelompok K- 15,13%. Nilai sel nekrosis antar dosis perlakuan terendah didapatkan pada kelompok P2 28,73% diikuti dengan kelompok P1 31,46% dan nilai tertinggi didapatkan pada kelompok P5 47,40%.

Berdasarkan hasil dari bunting hari ke-8 dan bunting hari ke-16 dapat diketahui bahwa kelompok P2 (75% ekstrak tapak liman dan 25% ekstrak katuk) dan kelompok P1 (100% tapak liman) lebih



berperan dalam menurunkan nekrosis sel ginjal dibandingkan dengan kombinasi ekstrak lainnya. Hal tersebut menunjukkan bahwa daun tapak liman lebih berperan dalam menurunkan nekrosis sel ginjal. Menurut Hung dkk. (2013), selain mengandung senyawa antimikrobia tapak liman juga mengandung senyawa flavonoid yang cukup tinggi yang dapat berfungsi dalam memperbaiki kerusakan jaringan akibat infeksi.

Nilai sel nekrosis pada bunting hari ke-8 dan bunting hari ke-16 pada masing-masing perlakuan mengalami peningkatan yang signifikan. Hal ini menunjukkan bahwa semakin lama infeksi *E. coli* dapat meningkatkan jumlah sel nekrosis. Kemudian untuk pemberian ekstrak tidak menunjukkan peningkatan sel nekrosis jika dibandingkan dengan K+. Namun, pada kelompok P6 (pemberian kombinasi ekstrak tanpa infeksi *E. coli*) baik pada bunting hari ke-8 maupun bunting hari ke-16 mengalami peningkatan nekrosis yang signifikan jika dibandingkan K-. Sehingga hal ini menunjukkan bahwa pemberian kombinasi herbal juga dapat berdampak pada meningkatnya nilai sel nekrosis. Beberapa senyawa herbal selain memiliki senyawa-senyawa baik juga memiliki beberapa senyawa toksik yang dapat mengganggu proses fisiologis tubuh. Salah satunya berdampak pada terjadinya kerusakan sel (Erawati, 2011). Ginjal dapat menjadi sasaran senyawa toksik karena fungsi ginjal dalam proses sekresi zat-zat buangan tubuh sehingga apabila senyawa toksik masuk ke tubuh akan langsung menyerang ginjal dan mengakibatkan kerusakan jaringan ginjal (Mayo, 2017).

Daun katuk selain mengandung senyawa-senyawa baik juga mengandung beberapa senyawa toksik salah satunya adalah kalsium oksalat yang apabila dikonsumsi dalam dosis yang tidak tepat dapat berdampak pada kerusakan ginjal (Erawati, 2011). Menurut Puspitasari (2015), senyawa tanin yang terkandung dalam tapak liman juga dapat mengakibatkan efek negatif jika dikonsumsi dalam dosis yang tidak tepat. Senyawa tanin dapat mengakibatkan terjadinya defisiensi oksigen sehingga apabila terakumulasi dalam jumlah yang berlebih dalam ginjal dapat mengakibatkan terjadinya penyusutan dan kerusakan pada sel-sel ginjal.



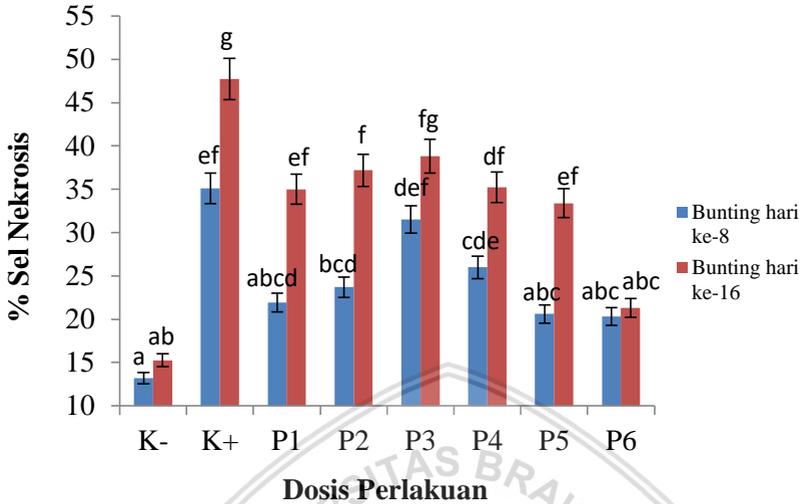
4.4 Pengaruh Kombinasi Ekstrak Etanol *S. androgynus* dan *E. scaber* terhadap Nekrosis Hepar

Pengamatan nekrosis sel hepatosit dibagi delapan kelompok perlakuan yaitu; kontrol sehat (K-), kontrol sakit (K+), perlakuan kombinasi ekstrak tapak liman dan katuk yaitu; P1, P2, P3, P4, P5, dan P6. Hasil perhitungan sel nekrosis antar kelompok perlakuan didapatkan nilai presentase yang berbeda nyata baik pada bunting hari ke-8 maupun bunting hari ke-16 (Gambar 19).

Bunting hari ke-8 didapatkan nilai nekrosis K-; 13,20%, K+; 35,10%, P1; 21,93%, P2; 23,70%, P3; 31,50%, P4; 26,00%, P5; 20,60%, P6; 20,33%. Berdasarkan hasil tersebut dapat diketahui nilai sel nekrosis tertinggi ada pada kelompok K+ 35,10% sedangkan nilai terendah pada kelompok K- 13,20%.

Perbandingan nilai sel nekrosis antar perlakuan memiliki perbedaan yang cukup signifikan dengan kelompok K+. Hal ini dikarenakan pada kelompok K+ mencit diinfeksi dengan *E. coli* 10⁷ CFU/ml tanpa *treatment* ekstrak. Bakteri *E. coli* merupakan bakteri Gram negatif yang dapat dengan mudah menginfeksi saluran pencernaan baik secara oral maupun melalui pembuluh darah. *E. coli* yang telah menginfeksi saluran pencernaan dapat menginfeksi organ hepar melalui vena porta hepatica yang berasal dari lambung dan usus, sehingga dapat berdampak pada kerusakan sel-sel hepar (Bruns dkk., 2014). Seperti yang telah dijelaskan sebelumnya bahwa protein α -hemolysin (HlyA) dan lipopolisakarida (LPS) yang terdapat pada dinding sel bakteri jika masuk ke dalam sel *host* akan mengaktifkan respon imun sel *host*. Sehingga akan terjadi peningkatan produksi sitokin yang diikuti peningkatan produksi interleukin (IL-6 dan IL-8) yang dapat memicu respon inflamasi. Hal tersebut dapat berdampak pada kerusakan sel, salah satunya adalah nekrosis pada sel hati (Jahnukainen dkk., 2005).

Sedangkan kelompok K- memiliki nilai nekrosis yang paling rendah karena K- merupakan kelompok mencit sehat tanpa *treatment*. Pada kelompok K- ini masih ditemui sel nekrosis namun dalam jumlah yang sedikit. Nekrosis dalam jumlah rendah tersebut bukan termasuk dalam proses patologi karena menurut Price & Wilson (2006), sel-sel tubuh makhluk hidup pada umumnya dalam keadaan normal juga dapat mengalami nekrosis yang terjadi akibat dari gangguan simultan tubuh yang berdampak pada kerusakan sel.



Gambar 19. Grafik rata-rata nekrosis sel hepatosit antar kelompok perlakuan; K- (kontrol negatif), K+ (kontrol positif) dan perlakuan kombinasi ekstrak (P1, P2, P3, P4, P5, P6) pada pembedahan 1 dan pembedahan 2

Berdasarkan Gambar 19 dapat dilihat bahwa perbandingan nilai sel nekrosis pada perlakuan ekstrak memiliki perbedaan yang signifikan dengan kelompok K+, kecuali pada perlakuan P3. Pada perlakuan P3 jika dibandingkan dengan K+ sel nekrosis mengalami penurunan, namun tidak menunjukkan perbedaan yang nyata. Hal ini berarti pemberian kombinasi ekstrak daun katuk dan tapak liman dapat berperan dalam menurunkan nekrosis sel hepar akibat infeksi *E. coli*. Seperti yang dijelaskan sebelumnya bahwa baik daun katuk (*S. androgynus*) maupun tapak liman (*E. scaber*) merupakan herbal yang mengandung berbagai senyawa baik yang berpotensi dalam memperbaiki kerusakan jaringan. Katuk dan tapak liman mengandung senyawa antiinflamasi dan antibakteria yang cukup tinggi yang dapat dimanfaatkan untuk mencegah maupun menanggulangi akibat dari infeksi bakteri *E. coli* (Wei dkk., 2011). Daun katuk mengandung senyawa flavonoid epigen dan flavonoid utelon yang telah terbukti mampu menghambat kerja protein

lipopolisakarida dari bakteri Gram negatif sehingga dapat menurunkan respon inflamasi (Bunawan dkk., 2014). Tapak liman (*E. scaber*) mengandung senyawa-senyawa baik, salah satunya adalah tanin yang bekerja sebagai antimikrobal dengan cara merusak membran sel bakteri (Akiyama dkk., 2001).

Nilai sel nekrosis antar dosis perlakuan terendah didapatkan pada kelompok P6 20,33% dan P5 20,60% sedangkan nilai tertinggi didapatkan pada kelompok P3 31,50%. Hal ini menunjukkan bahwa kelompok P5 (100% ekstrak katuk) lebih berperan dalam menurunkan nekrosis sel hati akibat infeksi *E. coli*.

Kemudian pada bunting hari ke-16 didapatkan nilai nekrosis K-; 15,27%, K+; 47,70%, P1; 35,00%, P2; 37,20%, P3; 38,80%, P4; 35,20%, P5; 33,40%, P6; 21,30%. Sama seperti bunting hari ke-8, pada bunting hari ke-16 nilai sel nekrosis tertinggi ada pada kelompok K+ 47,70% sedangkan nilai terendah pada kelompok K- 15,27%. Nilai sel nekrosis antar dosis perlakuan terendah juga didapatkan pada kelompok P6 21,30% diikuti dengan kelompok P5 33,40% dan nilai tertinggi didapatkan pada kelompok P3 38,80%.

Berdasarkan hasil dari bunting hari ke-8 dan bunting hari ke-16 dapat diketahui bahwa kelompok P5 (100% ekstrak katuk) lebih berperan dalam menurunkan nekrosis sel hepar dibandingkan dengan kombinasi ekstrak lainnya. Hal tersebut dapat menunjukkan bahwa daun katuk lebih berperan dalam menurunkan nekrosis sel hepar. Menurut Sinuraya (2011), tanaman katuk dapat berfungsi sebagai hematoprotektor yang dapat memperbaiki kerusakan jaringan pada hepar. Senyawa flavonoid dalam katuk dapat berperan sebagai antioksidan yang mampu menstabilkan radikal bebas yang terakumulasi dalam hati akibat dari paparan senyawa berbahaya. Senyawa flavonoid dapat menangkap radikal bebas dengan melepaskan atom hidrogen dari gugus hidroksilnya. Gugus hidroksil (OH) fenolik dari flavonoid berfungsi sebagai senyawa pereduksi yang dapat menampung radikal hidroksi dan superoksida sehingga melindungi lipid membran dari reaksi radikal bebas yang dapat merusak jaringan (Wei dkk., 2011).

Nilai sel nekrosis pada bunting hari ke-8 dan bunting hari ke-16 pada masing-masing perlakuan mengalami peningkatan yang signifikan kecuali pada perlakuan P6. Hal ini menunjukkan bahwa semakin lama infeksi *E. coli* dapat meningkatkan jumlah sel nekrosis. Namun hal ini tidak berlaku pada P6. Jumlah sel nekrosis

pada P6 baik pada bunting hari ke-8 maupun bunting hari ke-16 mengalami kenaikan yang tidak berbeda nyata. Hal ini menunjukkan bahwa lama pemberian ekstrak tidak berpengaruh terhadap peningkatan jumlah sel nekrosis pada perlakuan P6.

Nilai sel nekrosis P6 (pemberian kombinasi ekstrak tanpa infeksi) dibandingkan dengan kelompok kontrol sehat (K-) mengalami peningkatan yang berbeda nyata. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian kombinasi ekstrak pada keadaan normal dapat meningkatkan jumlah sel nekrosis namun dalam keadaan terinfeksi pemberian kombinasi ekstrak dapat menurunkan nilai sel nekrosis.

Daun katuk maupun tapak liman selain mengandung senyawa-senyawa baik juga mengandung beberapa senyawa toksik. Daun katuk mengandung senyawa alkaloid papaverin yang akan dioksidasi dalam hepar dan menghasilkan metabolit berbahaya yang berdampak pada kerusakan jaringan hepar. Senyawa tanin yang terkandung dalam tapak liman jika terakumulasi berlebihan di dalam hepar juga dapat berubah menjadi senyawa toksik dan merusak jaringan hepar (Suprayogi, 2000).

Nekrosis sel baik pada jaringan hati maupun ginjal juga berkaitan erat dengan kondisi kehamilan. Selama proses kehamilan hormon progesteron akan mengalami peningkatan. Peningkatan hormon progesteron dapat meningkatkan respon antiinflamasi dengan menekan sekresi TNF- α . Selain itu, produksi hormon progesteron juga menghambat produksi sitokin yang diinduksi oleh TLR (*Toll-like receptors*). Progesteron juga menekan respons imun bawaan, termasuk makrofag, sel NK (*Natural Killer*) serta transduksi sinyal NF- κ B. Sehingga mengakibatkan ibu hamil mudah terinfeksi paparan dari luar salah satunya infeksi bakteri *E. coli* (Robinson & Sabra, 2012).

BAB V KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Kesimpulan dari penelitian ini adalah, pemberian kombinasi ekstrak pada keadaan normal dapat meningkatkan jumlah sel nekrosis, seperti yang terjadi pada perlakuan P6 jumlah sel nekrosis mengalami peningkatan yang berbeda nyata dibandingkan dengan kontrol sakit (K-). Namun dalam keadaan terinfeksi pemberian kombinasi ekstrak dapat menurunkan nilai sel nekrosis. Bunting hari ke-8 nilai nekrosis ginjal terendah P1 (23,00%) sedangkan nilai nekrosis hepar terendah P5 (20,60%). Kemudian bunting hari ke-16 nilai nekrosis ginjal terendah P2 (28,73%) dan diikuti dengan P1 (31,46%) sedangkan nilai nekrosis hepar terendah P5 (33,40%) . Berdasarkan hasil tersebut dapat diketahui bahwa dosis P5 dan P1 merupakan dosis yang paling aman untuk dikonsumsi.

5.2 Saran

Saran untuk penelitian selanjutnya toksisitas ekstrak bisa dilihat dari organ lainnya selain ginjal dan hepar. Kemudian bisa dilakukan uji HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*) untuk memastikan senyawa yang terkandung dalam katuk maupun tapak liman.

Daftar Pustaka

- Adigun, R. & Steve S. B. 2017. Necrosis, cell (liquefactive, coagulative, caseous, fat, fibrinoid, and gangrenous). <https://www.ncbi.nlm.nih.gov>. Diakses tanggal 03 Juni 2018.
- Akiyama, H., Yamasaki, O., Oono, T., Iwatsuki, T. 2001. Antibacterial action of several tannins against *Staphylococcus aureus*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 48(4): 487-491.
- Austin. 2017. Digestive system. <http://www.austincc.edu>. Diakses tanggal 17 November 2017.
- Bien, J., Olga S., Przemyslaw B. 2012. Role of uropathogenic *Escherichia coli* virulence factors in development of urinary tract infection and kidney damage. *International Journal of Nephrology*. 12(10): 1-15.
- Bruns, T., Henning W. Z., Andreas S. 2014. Risk factors and outcome of bacterial infections in cirrhosis. *World Journal of Gastroenterology*. 20(10): 2542-2554.
- Bunawan, H., Noriha M. A., Siti N. B., Syarul N. B., Normah M. N. 2014. *Ficus deltoidea* Jack., a review on its phytochemical and pharmacological importance. *Journal of Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 9(2): 1-8.
- Cohen, G. N. 2011. **Microbial Biochemistry**. Springer Science & Business Media. New York.
- Cormack, D. H. 2001. **Essential Histology**. Lippincott Williams & Wilkins. Baltimore.
- David. 2015. Hepatic histology: The lobule. <http://www.vivo.colostate.edu>. Diakses tanggal 24 Mei 2017.
- Djati, M. S., Y. A. Rahma, D.R. Dwijayanti, M. Rifa'i, S. Rahayu. 2017. Synergistic effect of *Elephantopus scaber* L and *Sauropus androgynus* L merr extracts in modulating prolactin hormone and erythropoiesis in pregnant typhoid mice. *Tropical Journal Pharm Res*. 16(8): 1789.
- Ernst, L. M., Eduardo D. R., Dale S. H. 2011. **Color Atlas of Fetal and Neonatal Histology**. Springer Science & Business Media. Chicago.
- Erawati, A. M. 2011. **Gambaran Histopatologi Hepar dan Ginjal Tikus Laktasi Setelah Mengkonsumsi Ekstrak dan Fraksi *Sauropus Androgynus* (L.) Merr Sejak Bunting Sampai 10**

- Hari Postpartus.** Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian. Bogor. Skripsi.
- Fern. 2004. *Elephantopus scaber*. <http://tropical.theferns.info>. Diakses tanggal 26 Mei 2017.
- Florafauna. 2013. *Sauropus androgynus* Merr. <https://florafaunaweb.nparks.gov.sg>. Diakses tanggal 26 Mei 2017.
- Ganzle M. & Yang L. 2015. Mechanisms of pressure mediated cell death and injury in *Escherichia coli*: From fundamentals to food applications. *Journal of Microbiology*. 15(6): 1-10.
- Grimaldi, D., Stephane B., Helene R., Benjamin Z., Helene P., Jean D. C., Claire P., Jean P. M. 2010. Unusual “Flesh-Eating” strain of *Escherichia coli*. *Journal of Clinical Microbiology*. 48(10): 3794–3796.
- Ho, W. Y., Swee K. Y., Chai L. H., Raha A. R., Noorjahan B. A. 2012. Hepatoprotective activity of *Elephantopus scaber* on alcohol-induced liver damage in mice. *Journal of Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 12(4): 1-8.
- Hung, H. F., Chien W. H., Yi-Ling C., Chih C. L., Hua W. F., Jen S. W., Kee C. J. 2011. *Elephantopus scaber* inhibits lipopolysaccharide-induced liver injury by suppression of signaling pathways in rats. *The American Journal of Chinese Medicine*. 39(4): 705–717.
- Jahnukainen T., Ming C., Giani C. 2005. Mechanisms of renal damage owing to infection. *Journal of Pediatric Nephrology*. 20(5): 1043-1053.
- Janker, M. H. & A. A. E., Nouri. 2009. Histological study of the liver and kidney of albino mice *Mus musculus* expected to lead. *Journal of Raf Sci*. 20(2): 42-51.
- Jones R. E. & Kristin H. L. 2013. **Human Reproductive Biology**. Academic Press. London.
- MacLachlan, N. & J., Cullen J. M., 1995. Liver, Biliary System and Exocrine Pancreas. *Journal of Pathology*. 8(2). 81–115.
- Mayo. 2017. Kidney disease. <https://www.mayoclinic.org>. Diakses tanggal 13 November 2017.
- Mohan, S. K. 2009. **Gram Stain: Looking Beyond Bacteria to Find Fungi in Gram Stained Smear.** a Laboratory Guide for Medical Microbiology. Indiana.

- NCT. 2017. Changes in hormones during pregnancy <https://www.nct.org.uk>. Diakses tanggal 24 Oktober 2017.
- Nicole. 2014. *Escherichia coli*. <https://microbewiki.kenyon.edu>. Diakses tanggal 21 Oktober 2017.
- Paul A. N. & Rick G. 2003. Mechanism of renal cell repair and regeneration after acute renal failure. <http://jpet.aspetjournal.org>. Diakses tanggal 7 Juni 2018.
- Pearce, E. C. 2009. **Anatomi dan Fisiologi untuk Paramedis**. PT Gramedia Pustaka Umum. Jakarta.
- Pollak, M. R., Susan E. Qu., Melanie P. H., Lance D. D. 2014. The glomerulus: The sphere of influence. *Clin Journal of Am Soc Nephrol*. 9(8): 1461–1469.
- Price SA & Wilson LM. 2006. **Patofisiologi Konsep Klinis Proses-Proses Penyakit, Edisi ke- 6**. EGC. Jakarta.
- Puspitasari T. 2015. Study of metal ions removal from aqueous solution by using radiation crosslinked chitosan-co-poly (acrylamide)-based adsorbent. *MS Journal*. 10(2): 168-177.
- Robinson, D. P. & Sabra L. K. 2012. Pregnancy and pregnancy associated hormones alter immune responses and disease pathogenesis. *Journal of Horm Behav*. 62(3): 263–271.
- Rogers. 2005. Liver anatomy and histology. <https://ocw.mit.edu>. Diakses tanggal 24 Mei 2017.
- Rowińska, J. M., Jolanta M., Monika W. 2013. Urinary tract infections in pregnancy: Old and new unresolved diagnostic and therapeutic problems. *Journal of Nephrology*. 11(01): 67-77.
- Rubin, R., David S. R., Emanuel R. 2011. **Rubin's Pathology: Clinicopathologic Foundations of Medicine**. Lippincott Williams & Wilkins. New York.
- Setyari, W. & Sri A. S. 2008. Potensi analgesik dan antiinflamasi dari ekstrak tapak liman (*Elephantopus Scaber*). *Jurnal Penelitian Medika Eksakta*. 7 (1): 16-22.
- Shi, S., Marce E. K., Kristen L. K. 2001. Antigen retrieval in formalin-fixed, paraffin-embedded tissues: An enhancement method for histological staining. *Journal of Histology and Cytology*. 39(6): 741-748.
- Sinuraya, A. K. 2011. **Pengaruh Ekstrak Daun Katuk (*Sauropus androgynus*) Sebagai Hepatoprotektor terhadap Kerusakan Histologi Hepar Tikus Putih yang Dipapar Paracetamol**.

- Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret. Surakarta. Skripsi.
- Stanford. 2017. Anatomy and function of the liver. <http://www.stanfordchildrens.org>. Diakses tanggal 13 November 2017.
- Subramanya, A. R. & David H. E. 2014. Distal convoluted tubule. *Clin Journal Am Soc Nephrol*. 9(12): 2147–2163.
- Suprayogi, A. 2000. Studies of the biological effect of *Sauropus androgynus* (L.)Merr: Effect of milk production and the possibilities of induced pulmonary disorder in lactating sheep. *Journal of Pharmacology*. 40(8): 931-941.
- Wayan, N., Setyawati I., Made N., Ariani D. 2011. Penurunan fungsi hepar tikus betina (*Rattus norvegicus* L.) yang diinjeksi white vitamin C dosis tinggi dalam jangka waktu lama ditinjau dari kadar SPGT, SGOT serta gambaran histologi hepar. *Jurnal Biological Sciences*. 3(1): 1-7.
- Wei, L. S., Wendy W., Julius Y. F. S., Desy F. S. 2011. Characterization of antimicrobial, antioxidant, anticancer properties and chemical composition of *Sauropus androgynus* stem extract. *Jurnal of Botani*. 12(1): 12-16.
- Yin, L. K. 2007. Urinary tract infections in pregnancy. *Journal of Malaysian Family Physician*. 02(02): 54-57.
- Yunita, O., Mochammad Y., Fedik A, R. 2014. in vitro cytotoxicity assay of *Sauropus androgynus* on human mesenchymal stem cells. *Journal of Toxicological and Environmental Chemistry*. 94(4): 679–686.