

Efektifitas Propolis Pada Perbaikan Histopatologi Hepar Mencit Betina yang Dipapar Logam Berat Pb Asetat

Effectivity of Propolis on The Improvement of Liver Histopathology of Female Mice Exposed by Heavy Metal Pb Acetate

Rachmani, S.D.¹, Hestianah, E.P.², Plumerastuti, H.³, Darsono, R.³
Safitri, E.^{4*}

¹Alumni Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga, Surabaya, Indonesia

²Departemen Anatomi Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga, Surabaya, Indonesia

³Departemen Patologi Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga, Surabaya, Indonesia

⁴Departemen Reproduksi Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga, Surabaya, Indonesia

*e-mail: rma_fispro@yahoo.com

ABSTRAK

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh propolis terhadap gambaran histopatologi hati pada mencit (*Mus musculus*) betina yang terpapar timbal asetat. Subjek penelitian adalah 25 ekor mencit galur BALB / C dengan berat rata-rata 25-35 gram berumur 8 minggu, dibagi menjadi 5 kelompok perlakuan dan terdiri dari 5 ekor per kelompok. Kelompok K diberi larutan Tween 80 dengan dosis 0,5 mg / kg BB selama 20 hari berturut-turut. Kelompok K + yang hanya diberi timbal asetat dengan dosis 10 mg / kg BB secara oral selama 10 hari. P1, P2, P3 diberikan larutan timbal asetat 10 mg / kg BB secara oral selama 10 hari. 10 hari berikutnya diberikan propolis dengan dosis P1 200 mf / kg BB, P2 400 mg / kg BB, P3 800 mg / kg BB. Pada hari ke 21 mencit dibedah untuk mengamati tingkat kerusakan yang terjadi. Semua data dilakukan menggunakan uji statistik dengan uji Kruskal Wallis dan jika terdapat perbedaan yang nyata antar kelompok perlakuan ($p < 0,05$) maka dilanjutkan uji Mann-Whitney. Hasil penelitian diperoleh bahwa propolis lebah dapat memperbaiki kerusakan sel hati mencit betina yang terpapar timbal asetat. Peningkatan dosis propolis tidak efektif dalam memperbaiki kerusakan sel hati mencit betina yang terpapar timbal asetat.

Kata kunci: Propolis, timbal asetat, histopathologi hati, mencit betina

ABSTRACT

The purpose of this study was to find out the effect of propolis on histopathology images of hepatic mice (*Mus musculus*) of female exposed by lead acetate. The subjects were 25 mice of BALB/C strain with average weight 25-35 gram and 8 weeks old, divided into 5 treatment groups and consist of 5 mice per group. The K- group was given Tween 80 solution at a doses of 0.5 mg/kg BW for 20 consecutive days. The K+ group, which was given only lead acetate at a doses of 10 mg/kg BW orally for 10 days. P1, P2, P3 were given 10 mg/kg BW lead acetate solution orally for 10 days. The following 10 days were given propolis with doses of P1 200 mf/kg BW, P2 400 mg/kg BW, P3 800 mg/kg BW. On the 21th days the mice were dissected to observe the extent of the damage. All data were performed using statistical test with Kruskal Wallis test and if there was a marked difference between treatment groups ($p < 0.05$), then the Mann-Whitney test was followed. The

results obtained that bee propolis can repair hepatic cell damage in mice of female exposed by lead acetate. Increased dose of propolis is ineffective in repairing hepatic cell damage in mice of female exposed by lead acetate.

Keywords: Propolis, lead acetate, liver histopathology, female mice

PENDAHULUAN

Peningkatan proses industrialisasi berakibat pada peningkatan pencemaran berbagai logam berat. Hal ini dikarenakan pabrik industri yang dibangun dengan tidak mengikuti sistem instalasi pengolahan air dan limbah (IPAL) yang memadai, akan berakibat pada peningkatan limbah yang dibuang ke lingkungan. Salah satu limbah logam dari banyak jenis yang menjadi pencemar lingkungan adalah timbal (Pb asetat) (Wardhayani, 2006). Timbal dapat masuk dalam tubuh makhluk hidup melalui saluran pencernaan (gastrointestinal), saluran pernafasan (inhalasi), dan penetrasi melalui kulit (topikal), baik secara langsung maupun tidak langsung. Makanan dan minuman dapat terpapar timbal yang berasal dari kontaminasi pipa, solder, kran dan kontaminasi kaleng minuman dan makanan yang mengandung timbal (Dedy, 2008).

Toksisitas Pb terutama memberikan dampak yang berat pada organ-organ penting pada makhluk hidup misalnya pada hepar dan ginjal (Darmono, 2001). Hepar merupakan organ tubuh terbesar dan organ metabolisme yang paling kompleks di dalam tubuh. Organ ini terlibat dalam metabolisme zat makanan serta Sebagian besar obat toksikan. Menurut Santosa (2005) apabila senyawa racun yang masuk terlalu besar sehingga bersifat toksis pada hepar, maka akan menimbulkan degenerasi jaringan hepar, bahkan sampai terjadi nekrosis yang dapat merusak jaringan hepar, Hepar berperan dalam melakukan proses metabolisme dan detoksifikasi untuk menetralkan senyawa yang bersifat racun dalam tubuh, Adapun mekanisme kerusakan hepar oleh Pb dapat terjadi akibat meningkatnya radikal bebas dan penurunan kemampuan system antioksidan tubuh sehingga memicu stress oksidatif (Gurer and Ercal, 2000). Untuk melindungi hepar dari

kerusakan tersebut, maka diperlukan zat yang mampu melawan radikal bebas akibat paparan Pb, yaitu dengan antioksidan (Adams and Angulo, 2006).

Kandungan antioksidan yang tinggi terdapat pada propolis. Komponen utama dari propolis adalah flavonoid dan asam fenolat, termasuk *Caffeic Acid Phenetyl Ester* (CAPE). Penelitian di Jepang menunjukkan bahwa kandungan CAPE yang ada di dalam propolis mempunyai aktivitas antioksidan yang tinggi yang dapat meningkatkan ekspresi glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) yang didapat dari ekspresi gen antioksidan, lebih kuat dibandingkan vitamin E. CAPE mempunyai aktivitas antioksidan 4-6 kali lebih kuat terhadap oksidan seperti H₂O₂ dan radikal bebas dibandingkan vitamin C dan N-acetyl-cystein (NAC) (Nakajima, 2009).

Propolis terbukti memiliki efek hepatoprotektor yang baik, namun belum diketahui pengaruh pemberian propolis terhadap gambaran histopatologi hepar mencit (*Mus musculus*) betina yang dipapar logam berat Pb asetat.

MATERI DAN METODE

Penelitian ini menggunakan 25 ekor mencit (*Mus musculus*) betina strain BALB C dengan berat rata-rata 25-30 gram dan berumur 8 minggu yang diperoleh dari Pusat Veteriner Farma (Pusvetma), Surabaya, Jawa Timur. Kemudian dipelihara dalam kondisi yang sama, diberikan pakan harian berbentuk pellet serta air minum yang diberikan secara *ad libitum*.

Sebelum penelitian dilakukan, mencit betina diadaptasikan selama 7 hari dan diberikan pakan pellet serta air minum secara *ad libitum* setiap hari.

Persiapan bahan timbal asetat dan pembuatan propolis

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah timbal asetat [Pb(C₂H₃O₂)₂]. Tablet propolis lebah (CC Pollen Co, USA, PT. Harmoni Dinamik Indonesia Jakarta) dihaluskan sampai halus dan homogen menggunakan mortar dan stamper. Setelah itu ditambahkan dengan tween 80 sebanyak 1% sebagai suspensator.

Prosedur Penelitian

Mencit diberikan perlakuan dengan propolis dan timbal asetat secara per oral menggunakan 1 ml tuberculin sekali pakai selama 20 hari. Perlakuan tersebut dijelaskan sebagai berikut:

K (-) : Kelompok kontrol, hanya hanya diberi Tween 80 sebanyak 0.5 ml/ekor/hari selama 20 hari

K (+) : Larutan Pb asetat 10 mg/kg/BB selama 10 hari

P (1) : Larutan Pb asetat 10 mg/kg/BB selama 10 hari + propolis 200 mg/kg BB selama 10 hari berikutnya

P (2) : Larutan Pb asetat 10 mg/kg/BB selama 10 hari + propolis 400 mg/kg BB selama 10 hari berikutnya

P (1) : Larutan Pb asetat 10 mg/kg/BB selama 10 hari + propolis 800 mg/kg BB selama 10 hari berikutnya

Setelah 24 jam dari pemberian propolis terakhir, mencit dikorbankan dengan metode

dislocation cervicalis, kemudian dilakukan pengambilan organ hepar mencit dan dimasukkan dalam Neutral Buffered Formalin 10%. Perubahan yang diamati adalah :

Degenerasi : kelainan yang menyebabkan perubahan pada sitoplasma sel berupa pembengkakan, akumulasi air dan kekeruhan sitoplasma.

Nekrosis : kematian sel dari jaringan tubuh yang masih hidup dan ditandai dengan Adanya perubahan pada inti sel berupa piknotis, karioreksis dan kariolisis.

Hal ini terjadi Ketika tidak ada cukup darah mengalir ke jaringan baik karena cedera, radiasi atau bahan kimia.

Pemeriksaan preparat histopatologi hepar dilakukan dengan mengamati lesi dengan vena sentralis berada ditengah-tengah

lapang pandang dan menggunakan mikroskop cahaya pembesaran 400x. Kemudian dilakukan pem\nilaian derajat kerusakan hepar. Penilaian derajat kerusakan hepar

menggunakan metode scoring berdasarkan persen terjadinya degenerasi dan nekrosis (Brunt *et al.*, 1999) (Tabel 1).

Tabel 3.1. Skor penilaian derajat histopathologi sel hepar

| Derajat | Degenerasi | Nekrosis |
|-----------------|------------|----------|
| Tidak ada | 0 | 0 |
| Minimal (0-25%) | 1 | 1 |
| Ringan (25-50%) | 2 | 2 |
| Sedang (50-75%) | 3 | 3 |
| Berat (75-100%) | 4 | 4 |

Pengamatan gambaran mikroskopik hepar

Pemeriksaan sediaan hepar yang sudah diwarnai dengan pewarnaan *Hematoxylin Eosin* (HE) menggunakan mikroskop cahaya Olympus dengan perbesaran 400x.

Analisis Data

Data yang diperoleh berupa skor nilai gambaran histopatologi yang meliputi degenerasi dan nekrosis hepatosit mencit yang disusun dalam bentuk table kemudian dilakukan analisis statistik. Analisis data dilakukan uji statistic dengan menggunakab

uji *Kruskal Wallis* dan bila terdapat perbedaan yang nyata diantara kelompok perlakuan ($p < 0.05$), maka dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney*. Seluruh analisis tersebut dikerjakan dengan program computer SPSS 18.00 *for Windows*.

HASIL

Hasil pemeriksaan histopatologi hepar mencit (*Mus musculus*) betina sebagai hewan coba dalam penelitian berdasarkan pengamatan degenerasi dan nekrosis hepar ini dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Nilai Rerata Tingkat Degenerasi dan Nekrosis Hepatosit

| Perlakuan | Reratan ± SD | Rerata ± SD |
|---|--------------------------|--------------------------|
| | Degenerasi | Nekrosis |
| K- = Kelompok kontrol, hanya hanya diberi Tween 80 sebanyak 0.5 ml/ekor/hari selama 20 hari | 3.00 ^a ± 1.32 | 6.00 ^a ± 0.43 |
| K+ = Larutan Pb asetat 10 mg/kg/BB selama 10 hari | 23.0 ^d ± 1.45 | 23.0 ^d ± 0.48 |
| P1 = Larutan Pb asetat 10 mg/kg/BB selama 10 hari + propolis 200 mg/kg BB selama 10 hari berikutnya | 15.7 ^c ± 1.22 | 17.6 ^c ± 0.52 |
| P2 = Larutan Pb asetat 10 mg/kg/BB selama 10 hari + propolis 400 mg/kg BB selama 10 hari berikutnya | 15.3 ^c ± 1.08 | 12.7 ^b ± 0.55 |
| P3 = Larutan Pb asetat 10 mg/kg/BB selama 10 hari + propolis 800 mg/kg BB selama 10 hari berikutnya | 8.00 ^b ± 1.47 | 6.00 ^a ± 0.48 |

Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama memperlihatkan perbedaan yang nyata (P<0,05)

DISKUSI

Berdasarkan hasil penelitian, pada kelompok K- yang tidak terpapar Pb asetat dan tanpa pemberian propolis, kondisi hepar normal karena sel hepatosit tidak mengalami jejas, inti sel Nampak berwarna biru dan sitoplasma Nampak berwarna keunguan karena bersifat eosinofilik. Kelompok perlakuan K+ yang tanpa diberikan propolis namun dipapar logam berat Pb asetat 10 mg/kgBB menunjukkan kelainan patologi

degenerasi tertinggi skor 4 artinya degenerasi dan nekrosis terjadi 75%-100% dari seluruh lapangan pandang dibandingkan dengan kelompok perlakuan lainnya. Timbal yang masuk ke dalam tubuh melalui saluran pencernaan akan diabsorpsi oleh usus untuk dimetabolisme di hepar. Vena porta membawa darah deoksigenasi dan zat toksik timbal yang diabsorpsi dari usus. Cabang dari vena porta membawa darah tersebut ke sinusoid yang kemudian diiterima oleh sel hepar. Timbal

dalam sel hepatosit dapat menginduksi pembentukan radikal bebas dan menurunkan kemampuan sistem antioksidan tubuh sehingga terjadi stress oksidatif. Menurut penelitian Jin *et al.* (2008) mencit yang diberi logam berat Pb asetat dosis 10 mg/kg BB secara oral dapat memicu timbulnya stress oksidatif. Stress oksidatif memicu pembentukan radikal bebas yaitu *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang dapat bereaksi dan menyebabkan kerusakan pada banyak molekul di dalam sel. Perusakan sel akibat ROS didahului oleh kerusakan membrane sel antara lain mengubah fluiditas, struktur dan fungsi membrane sel (Sipos *et al.*, 2003). Radikal bebas berikatan dengan lipid dari membrane sel hepatosit membentuk peroksidasi lipid. Konsekuensi penting dari peroksidasi lipid adalah meningkatnya permeabilitas membrane yang dapat mengganggu proses pompa ion Ca^{2+} dan hambatan terhadap proses pompa ion Na^{+} dan K^{+} di dalam sel sehingga terjadi degenerasi pada sel karena gangguan hemostasis. Keadaan sel yang mengalami gangguan

tersebut dapat menyebabkan keadaan di dalam sel lebih pekat dan bersifat hipotonis sedangkan keadaan ekstraseluler menjadi hipertonis sehingga cairan yang berada pada ekstraseluler akan masuk ke dalam intraseluler dan menyebabkan gangguan patologi yang biasa disebut degenerasi hidrofik. Secara umum degenerasi dikarenakan adanya penurunan kemampuan system pompa ion Na^{+} dalam sel yang menyebabkan pembengkakan sel dan degenerasi keruh (Kresnasari *dkk.*, 2014).

Pada kelompok P1 yang diberi propolis 200 mg/kgBB tampak histopatologi hepar berupa degenerasi hidrofik, yang merupakan jejas yang reversible. Peran propolis pada P1 telah menunjukkan perbaikan jejas sel, namun masih belum mencapai keadaan normal. Perubahan yang terjadi adalah sel hepatosit tampak membengkak berisi cairan, inti sel masih terlihat jelas dan jaringan hepar masih dapat dikenali. Sel hepatosit masih tampak membesar dan mendesak sinusoid. Sitoplasma sel tampak keruh dan pucat. Hal tersebut terjadi karena jumlah zat aktif yang berperan

sebagai antioksidan dalam propolis pada dosis tersebut masih belum cukup efektif untuk melawan radikal bebas.

Pada kelompok perlakuan P2 yang diberikan propolis 400 mg/kg BB juga masih terlihat adanya degenerasi hidrofilik disebabkan terganggunya metabolisme energi dalam sel atau karena cedera pada membran sel sehingga sel tidak mampu memompa ion Na⁺ yang cukup (Resang, 1994) tetapi jumlahnya tidak sebanyak kelompok perlakuan sebelumnya. Kelompok perlakuan P3 yang diberikan propolis 800 mg/kg BB terjadi degenerasi ringan. Peran propolis pada konsentrasi ini telah dapat memperbaiki jejas sel yang reversibel, dikarenakan keadaannya hampir mencapai normal. Propolis mengandung flavonoid. Senyawa flavonoid berperan dalam aktivitas antioksidan, yaitu dengan menghambat dihasilkan agen oksidatif seperti ROS oleh sel darah perifer, atau dengan menghambat paparan oksidatif dalam tubuh yang melindungi lipid protein agar tidak berubah menjadi lipid peroksida. Kedua mekanisme ini membuat flavonoid

memiliki beberapa efek, diantaranya menghambat peroksidase lipid, menahan kerusakan jaringan oleh radikal bebas (Krisnatuti dan Yenrina, 2005).

Pada kelompok K⁺ yang hanya dipaparkan berat Pb asetat 10 mg/kg BB mengalami nekrosis paling parah dengan nilai skor 4, artinya nekrosis terjadi pada 75%-100% dari seluruh lapangan pandang, terjadi kematian sel yang bersifat irreversibel yaitu kariolisis. Inti sel menjadi hilang sehingga pada gambar tampak sebagai sel yang kosong (Wulandari, 2006). Apabila darah dari vena porta banyak membawa racun atau toksin, maka zona pertama paling dekat dengan sumber pasokan darah yang pertama kali terkena zat toksik tersebut sehingga kerusakan sel paling banyak ditemukan pada sekitar portalis (Arimbi dkk., 2013).

Pada kelompok perlakuan K⁻ yang tanpa dipaparkan logam berat Pb asetat dan propolis, P1 yang diberi propolis 200 mg/kg BB dan P2 yang diberi propolis 400 mg/kg BB masih terlihat adanya nekrosis, tetapi dalam jumlah yang sedikit, tidak merata, bahkan di beberapa

tempat nekrosis tidak terjadi sehingga skor yang di dapat adalah 0. Pada kelompok perlakuan P3 yang diberi propolis 800 g/kg BB telah dapat memperbaiki jejas sel sama halnya dengan antibiotik sehingga kematian sel yang bersifat irreversible dapat dicegah.

Propolis dapat berfungsi memperbaiki kondisi patologi dari bagian tubuh yang sakit, bekerja sebagai antioksidan dan antibiotik serta meningkatkan sistem kekebalan tubuh baik humoral maupun seluler karena mengandung flavonoid sekitar 15% (Krell, 1996). Flavonoid merupakan antioksidan dan antibiotik yang berfungsi menguatkan Dan mengantisipasi kerusakan pada pembuluh darah serta bahan aktif yang berfungsi sebagai anti radang dan antivirus. Daya antioksidan menggambarkan besarnya potensi propolis untuk berperan sebagai antioksidan. Anti oksidan yang ada dapat meredam dampak negative dari oksidan dengan cara memberikan elektronnya pada oksidan, antioksidan tersebut mampu mencegah dan meregenerasi kerusakan sel akibat radikal bebas (Widjaja, 1997).

KESIMPULAN

Disimpulkan bahwa pemberian propolis memberikan pengaruh yang dapat memperbaiki sel hepatosit dari kerusakan akibat paparan logam berat Pb asetat. Pemberian propolis dengan dosis 800 mg/kg BB paling baik memperbaiki sel hepatosit dari kerusakan akibat logam berat Pb asetat.

DAFTAR PUSTAKA

- Adams L.A and P. Angulo. 2006. Treatment of non alcoholic fatty liver disease. *Postgrad Med.* 82: 315-22.
- Arimbi, A. Azmijah, R. Darsono, H. Plumerastuti, T.V. Widiyatno, D. Legowo .2013. *Buku Ajar Patologi Umum Veteriner*. Airlangga University Press. Surabaya. 9-10.
- Darmono. 2001. *Lingkungan Hidup dan Pencemaran. Hubungan dengan Toksikologi Senyawa Logam*. Penerbit Universitas Indonesia (UI Press). 109, 112, 140.
- Dedy, S. 2008. Pengaruh Proteksi Vitamin C terhadap enzim Transaminase dan gambaran histopatologi hepar mencit

- yang dipapar plumbum (Tesis) Sumatra Utara. Universitas Sumatra Utara.
- Jin X, L. Ling-Jun, W. Chen, W. Xiao-Feng, F. Wen-Yu and X. Li-Hong. 2008. Lead induces oxidative oxidative strass, DNA damage and alteration of p53, Bax and Bcl-2 expression in mice. *Food and Chem Tox.* 46: 1488-1494.
- Krell, R. 1996. *Value added product from beekeeping*.
<http://www.fao.org/docrep/w0076e>
- Krisnasari, D, K. Diah, S. Hidayat, R.B.A Viva .2014. Efek propolis terhadap fungsi dan perlemakan hati tikus putih (*Rattus norvegicus*) model Hiperkolesterolemia. Jurusan Kedokteran.FKIK. Universitas Jendral Soedirman. Purwokerto.
- Krisnatuti, D dan S. Yenrina .2005. Menyiapkan makanan pendamping ASI. Pustaka Swara. Jakarta.
- Lu, F.C. 1995. Toksikologi dasar, azas, orga sasaran dan penilaian resiko. Edisi Kedua. Jakarta. Penerbit UI. Hal. 224-235.
- Nakajima, Y .2009. Comparison of bee products based on assays of antioksidant capacities. *BMC Complementary and Alternative Medicine*.
- Ressang, M.D. 1984. Patologi khusus veteriner. Edisi kedua. Team Leader IFAD Project : Bali cattle disease investigation unit. Denpasar. Bali 45-46.
- Sipos, P, K. Szentmihalyi, E. Feher, M. Abaza, M. Szilsgyl and A. Blazovics .2003. Some effects of lead contamination on liver and gallbladder bile. *Acta Biol Szegediensia.* 47(1-4): 139-142.
- Wardhayani, S. 2006. Analisis resiko pencemaran bahan toksik timbal (Pb) pada sapi potong di tempat pembuangan akhir (TPA) sampah jatibarang (Tesis). Fakultas Kesehatan Lingkungan Universitas Diponegoro.
- Widjaya, S. 1997. Antioksidan pertahanan tubuh terhadap efek oksidan dan radikal bebas. *Maj. Ilm Fak Kedok. Usakti.* 16(1): 162.