

GANGGUAN FUNGSI HATI INDUK BUNTING AKIBAT PEMBERIAN KARBON TETRAKLORIDA

Liver Dysfunction on Pregnant Mice Induced by Carbon Tetrachloride

Ruqiah Ganda Putri Panjaitan¹ dan Masriani²

¹Program Studi Pendidikan Biologi Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Tanjungpura, Pontianak

²Program Studi Pendidikan Kimia Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Tanjungpura, Pontianak

E-mail: ruqiah.gpp@gmail.com

ABSTRAK

Tujuan penelitian ini adalah mengetahui gangguan fungsi hati yang terjadi akibat pemberian karbon tetraklorida (CCl₄) pada berbagai tingkatan dosis terhadap induk bunting. Karbon tetraklorida dosis tunggal 0,014 dan 0,14 ml/20 g bobot badan mencit diberikan secara intraperitoneum pada mencit bunting, lalu diamati kerusakan yang terjadi pada hati. Kerusakan hati ditandai dengan peningkatan kadar enzim alanin transaminase (ALT), aspartat transaminase (AST) dalam serum, dan gambaran histopatologi hati. Dibandingkan dengan kontrol, pemberian CCl₄ dosis 0,014 ml/20 g bobot badan mengakibatkan peningkatan ALT dan AST, bahkan pada dosis 0,14 ml/20 g bobot badan mengakibatkan induk mati dalam waktu kurang dari 24 jam setelah perlakuan. Gambaran histopatologis sel-sel hati pada kelompok mencit bunting yang mendapatkan CCl₄ 0,014 ml/20 g bobot badan menunjukkan terjadinya steatosis. Dapat disimpulkan bahwa pemberian karbon tetraklorida pada induk bunting menimbulkan kerusakan seiring peningkatan dosis yang diinduksikan, bahkan berakibat kematian.

Kata kunci: CCl₄, ALT, AST, histopatologis hati

ABSTRACT

This study was aim to find out liver dysfunction on pregnant mice induced by carbon tetrachloride (CCl₄) in various doses. Carbon tetrachloride at a single dose of 0.014 and 0.14 ml/20 g body weight was administered intraperitoneally on pregnant mice, then liver damage was observed. Liver damage was indicated by the increased of alanine transaminase (ALT), aspartate transaminase (AST), and histopathological studies. Compared with control, induction of 0.014 ml CCl₄/20 g body weight increased ALT and AST, and at the dose of 0.14 ml/20 g body weight mice was death less than 24 hours after injection. Histopathological studies confirmed the presence of steatosis in hepatic cells at single dose of 0.014 ml CCl₄/20 g body weight. It is concluded that the administration of single dose of CCl₄ on pregnant mice induce liver damage depend on the dosage of CCl₄ received, even lead to death.

Key words: CCl₄, ALT, AST, liver histopathological

PENDAHULUAN

Karbon tetraklorida (CCl₄) merupakan xenobiotik yang lazim digunakan untuk menginduksi peroksidasi lipid dan keracunan. Dalam retikulum endoplasma hati, CCl₄ dimetabolisme oleh sitokrom P450 2E1 (CYP 2E1) menjadi triklorometil (*CCl₃) (Lin *et al.*, 1998; Jeon, 2003). Triklorometil dengan oksigen akan membentuk triklorometil peroksil (*CCl₃O₂) yang dapat menyerang lipid membran retikulum endoplasmik dengan kecepatan yang melebihi radikal bebas triklorometil. Selanjutnya, triklorometil peroksil menyebabkan peroksidasi lipid sehingga mengganggu homeostasis Ca²⁺, dan akhirnya dapat menyebabkan kematian sel (Shanmugasundaram dan Venkataraman, 2006).

Sebelum terjadinya kematian sel, terlebih dahulu diawali dengan terjadinya kerusakan sel. Kerusakan sel hati antara lain akan memengaruhi kadar enzim-enzim hati dalam serum. Dari penelitian-penelitian sebelumnya dilaporkan bahwa pemberian CCl₄ antara lain akan meningkatkan kadar bilirubin total, enzim alanin transaminase (ALT), aspartat transaminase (AST), dan alkaline fosfatase (ALP), sebaliknya menurunkan kadar protein total dalam serum (Rao *et al.*, 2006; Shanmugasundaram dan Venkataraman, 2006). Dengan demikian, daya proteksi suatu senyawa terhadap CCl₄ dinilai dari kemampuannya dalam menghambat peroksidasi lipid (Teselkin *et al.*, 2000), menekan aktivitas enzim ALT dan AST (Lin dan Huang, 2000)

dan meningkatkan aktivitas enzim anti-oksidan (Jeon *et al.*, 2003).

Alanin transaminase merupakan enzim sitosol dan terlibat dalam glukoneogenesis. Peningkatan kadar ALT dalam darah terutama disebabkan oleh kerusakan sel hati dan sel otot rangka. Kerusakan hepatosit diawali dengan perubahan permeabilitas membran yang diikuti dengan kematian sel. Aspartat transaminase juga merupakan enzim yang terlibat dalam glukoneogenesis, terdapat di dalam sitosol serta mitokondria sel hati, otot rangka, otot jantung, dan eritrosit. Peningkatan AST dalam darah disebabkan oleh kerusakan hati yang parah dan disertai nekrosis, sehingga enzim dari mitokondria juga ikut keluar sel. Waktu paruh enzim ALT lebih lama dibanding AST (Stockham dan Scott, 2002).

Penelitian ini merupakan langkah awal dalam pengujian aktivitas hepatoprotektor *Eurycoma longifolia* Jack. pada induk bunting. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui gangguan fungsi hati yang terjadi akibat pemberian CCl₄ pada berbagai tingkatan dosis terhadap induk bunting.

MATERI DAN METODE

Hewan coba yang digunakan mencit bunting galur Balb/c umur 2-3 bulan dengan bobot badan berkisar antara 27-33 g. Selama masa aklimatisasi hewan coba diberi makan dengan pakan standar dan minum *ad libitum* serta diamati kesehatannya dengan cara

penimbangan bobot badan. Induk bunting diperoleh dengan cara mengawinkan induk betina dengan induk jantan dengan perbandingan 1:4. Terjadinya kebuntingan ditandai dengan adanya sumbat vagina.

Penentuan Daya Hepatotoksik CCl₄

Hewan coba dibagi ke dalam tiga kelompok, tiap kelompok terdiri atas tiga ekor. Kelompok pertama merupakan kontrol (tanpa CCl₄), kelompok selanjutnya dibedakan pada dosis pemberian CCl₄ berturut-turut 0,014 dan 0,14 ml/20 g bobot badan. Pemberian CCl₄ dilakukan dengan penyuntikan secara intraperitoneum, masing-masing diberikan satu kali selama percobaan. Pengamatan dilakukan sampai dengan 24 jam setelah penyuntikan.

Evaluasi Biokimiawi

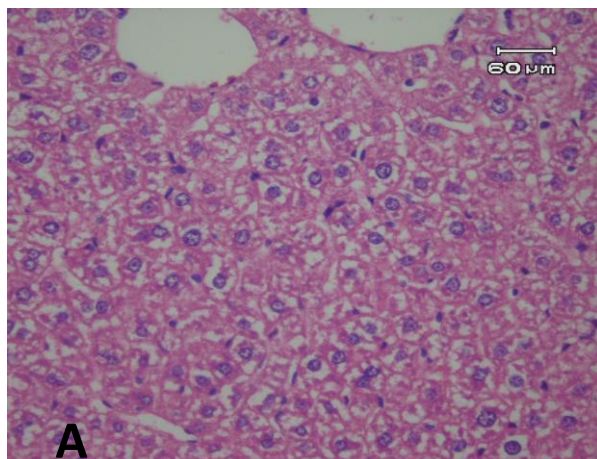
Setelah 24 jam pengamatan, dilakukan pengambilan sampel darah dari sinus orbitalis. Untuk mendapatkan serum darah, sampel darah yang diperoleh kemudian disentrifus dengan kecepatan 3000 rpm selama 10-15 menit. Kemudian serum dipisahkan ke dalam tabung eppendorf. Selanjutnya dilakukan pengukuran terhadap kadar enzim ALT dan AST dengan menggunakan kit (Diagnostic Systems).

Histopatologis

Organ hati diambil dan diproses secara histopatologis, kemudian diwarnai dengan hematoxilin-eosin (HE) (Kiernan, 1990). Hasil pewarnaan histopatologis diamati di bawah mikroskop cahaya, selanjutnya berdasarkan perubahan yang muncul dilakukan pemberian skor (Tabel 1).

Tabel 1. Skoring lesi organ hati

Skor	Keterangan
0	Tidak ditemukan perubahan spesifik
1	Sel-sel hati mengalami degenerasi hidropis dan degenerasi lemak derajat ringan, secara merata
2	Sel-sel hati mengalami degenerasi lemak dan steatosis derajat sedang, bersifat <i>multifocal</i>
3	Sel-sel hati mengalami degenerasi lemak, steatosis, dan distrofi derajat parah, bersifat <i>multifocal</i>



HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengujian menunjukkan bahwa dengan pemberian CCl₄ dosis 0,014 dan 0,14 ml/20 g bobot badan mencit telah memperlihatkan perubahan pada 30 menit pertama setelah perlakuan, yang ditandai dengan kelesuan. Selanjutnya, pada menit ke-30 hewan sudah berkurang nafsu makannya, cenderung diam, dan lemas terutama pada perlakuan 0,14 ml/20 g bobot badan. Pada 19 jam pengamatan seluruh hewan dengan perlakuan 0,14 ml/20 g bobot badan telah mengalami kematian. Dari kondisi tubuh saat ditemukan sudah dingin dan kaku diduga hewan telah mati beberapa jam sebelumnya. Sebaliknya, pada perlakuan 0 dan 0,014 ml/20 g bobot badan setelah 24 jam seluruh hewan percobaan masih hidup.

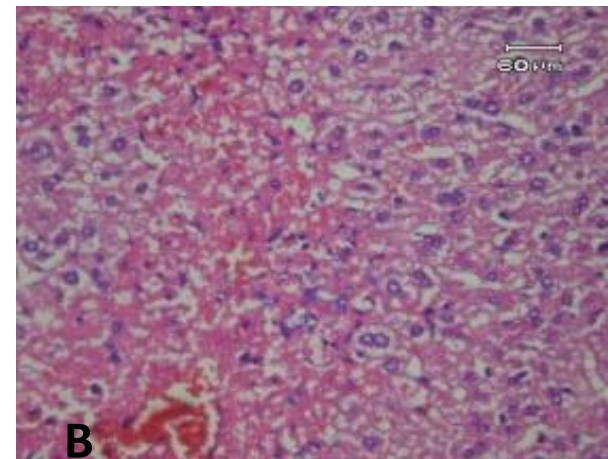
Hasil pengukuran sampel darah menunjukkan terjadinya peningkatan kadar enzim ALT dan AST setelah pemberian CCl₄ dosis 0,014 ml/20 g bobot badan. Bahkan pada dosis 0,14 ml/20 g bobot badan mengakibatkan kematian sehingga kadar enzim ALT dan AST pada kelompok ini tidak dapat diukur (Tabel 2). Gambaran histopatologis hati hewan coba masing-masing pada perlakuan 0 ml/g bobot badan tidak menunjukkan adanya perubahan. Sebaliknya, pada perlakuan 0,14 ml/20 g bobot badan secara keseluruhan organ hati hewan mengalami hemoragi/perdarahan serta adanya infiltrasi sel-sel radang seperti yang disajikan pada Gambar 1.

Tabel 2. Rata-rata kadar ALT dan AST serta bobot hati pada mencit bunting dengan pemberian CCl₄ (n= 3)

Perlakuan	ALT (U/L)	AST (U/L)
0 ml/kg BB	17,90±0,53	21,60±0,16
0,014 ml/20 g BB	20,66±0,41	25,51±0,29
0,14 ml/20 g BB	0	0

ALT= alanin transaminase; AST= aspartat transaminase

Hasil pengukuran kadar enzim ALT dan AST dalam serum tikus jantan dari pengujian menunjukkan bahwa dengan pemberian CCl₄ dosis 0,1 ml/kg bobot badan mengakibatkan terjadinya peningkatan kadar enzim ALT dibandingkan kontrol (Panjaitan *et al.*, 2007). Pemberian 1 ml CCl₄/kg bobot badan bahkan



Gambar 1. Mikroanatomi hati mencit bunting dengan pemberian 0 (A) dan 0,14 ml/20 g bobot badan (B) CCl₄ dengan pembesaran 40 X

mengakibatkan peningkatan kadar enzim ALT dalam serum hingga dua kali lebih tinggi dibanding kontrol, sebaliknya kadar enzim AST terlihat mengalami penurunan dibanding kontrol. Bahkan pemberian CCl_4 10 ml/kg bobot badan terlihat sangat merusak sel hati yang ditandai dengan penurunan kadar enzim ALT dan AST yang sangat drastis.

Menurut Venukumar dan Latha (2002) CCl_4 merupakan penyebab kerusakan hati sebagaimana yang ditimbulkan virus hepatitis akut, yang ditandai dengan nekrosis serta steatosis pada bagian sentral lobus. Lebih lanjut Stockham dan Scott (2002) menyatakan bahwa peningkatan kadar enzim ALT dalam darah terutama disebabkan oleh kerusakan sel hati dan sel otot rangka. Kerusakan sel hati diawali dengan perubahan permeabilitas membran yang diikuti dengan kematian sel. Aspartat transaminase juga terlibat dalam glukoneogenesis, dan terdapat di dalam sitosol serta mitokondria sel hati, otot rangka, otot jantung, dan eritrosit. Peningkatan kadar enzim AST terjadi akibat kerusakan hati yang parah yang disertai nekrosis sehingga enzim dari mitokondria juga ikut keluar sel. Kadar enzim AST dikatakan juga sebagai indikator terbaik dalam melihat kerusakan hati.

Menurut Lin *et al.* (1998), Jeon *et al.* (2003), dan Shanmugasundaram dan Venkataraman (2006) kerusakan yang relatif kecil pada sel hati akan meningkatkan kadar enzim ALT dan AST di dalam darah. Namun, pada tingkat kerusakan yang luas dan parah, ketersediaan enzim ALT dan AST di dalam sel hati sudah sangat rendah akibat kemampuan sel hati mensintesis enzim tersebut sudah berkurang atau hilang sama sekali.

Secara keseluruhan hasil percobaan ini sejalan dengan hasil-hasil penelitian lainnya yang menyatakan bahwa pemberian CCl_4 akan meningkatkan kadar enzim ALT dan AST (Rao *et al.*, 2006; Shanmugasundaram dan Venkataraman, 2006). Dengan demikian, daya proteksi suatu senyawa terhadap CCl_4 dapat dinilai dari kemampuannya dalam menghambat peroksidasi lipid (Teselkin *et al.*, 2000), menekan aktivitas enzim ALT dan AST (Lin dan Huang, 2000), dan meningkatkan aktivitas anti-oksidan enzim dan

anti-oksidan nonenzim (Sanmugapriya dan Venkataraman, 2006).

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa semakin tinggi jumlah CCl_4 yang diinduksikan, kerusakan yang terjadi pada sel-sel hati semakin berat dan luas, bahkan dapat mengakibatkan kematian.

DAFTAR PUSTAKA

- Jeon, T.I., S.G. Hwang, N.G. Park, S.I. Shin, S.D. Choi, and D.K. Park. 2003. Antioxidative effect of chitosan on chronic carbon tetrachloride induced hepatic injury in rat. *Toxicol.* 187:67-73
- Kiernan, J.A. 1990. **Histological and Histochemical Methods.Theory and Practice.** 2nd ed. Pergamon Press, Canada.
- Lin, C.C. and P.C. Huang. 2000. Antioxidant and hepatoprotective effects of *Acanthopanax senticosus*. *Phytotherapy Research.*14:489-494.
- Lin, C.C., M.H. Yen, T.S. Lo, and J.M. Lin. 1998. Evaluation of hepatoprotective and antioxidant activity of *Boehmeria nivea* var. *nivea* and *B. nivea* var. *tenacissima*. *J. Ethnopharmacol.* 60:9-17.
- Panjaitan, R.G.P., E. Handharyani, Chairul, Masriani, Z. Zakiah, dan W. Manalu. 2007. Pengaruh pemberian karbon tetraklorida terhadap fungsi hati dan ginjal tikus. *Makara Seri Kesehatan.* 11:11-16.
- Rao, G.M.M., C.V. Rao, P. Pushpangadan, and A. Shirwaikar. 2006. Hepatoprotective effects of rubiadin, a major constituent of *Rubia cordifolia* Linn. *J. Ethnopharmacol.* 103:484-490.
- Sanmugapriya, E. and S. Venkataraman. 2006. Studies on hepatoprotective and antioxidant actions of *Strychnos potatorum* Linn. seeds on CCl_4 -induced acute hepatic injury in experimental rats. *J. Ethnopharmacol.* 105(1-2):154-160.
- Shanmugasundaram, P. and S. Venkataraman. 2006. Hepatoprotective and antioxidant effects of *Hygrophila auriculata* (K. Schum) Heine Acanthaceae root extract. *J. Ethnopharmacol.* 104:124-128.
- Stockham, S.L. and M.A. Scott MA. 2002. **Fundamentals of Veterinary Clinical Pathology.** 1st ed. Iowa State Pr. Blackwell Publishing Co., London.
- Teselkin, Y.O., I.V. Babenkova, V.K. Kolhir, A.I. Baginskaya, N.A. Tjukavkina, Yu.A. Kolesnik, I.A. Selivanova, and A.A. Eichholz. 2000. Dihydroquercetin as a means of antioxidative defence in rats with tetrachloromethane hepatitis. *Phytotherapy Research.* 14(3):160-162.
- Venukumar, M.R. and M.S. Latha. 2002. Hepatoprotective effect of the methanol extract of *Curligo orchioides* in CCl_4 treated male rats. *Indian J. Pharmacol.* 34:269-275.