

Gambaran Histopatologi Otak Pada Tikus Hipertensi (DOCA-Garam) yang Dipapar Ekstrak Metanolik Kombinasi Benalu Teh dan Benalu Mangga Model Preventif

Histopathological Study of Brain in Hypertensive Rats (DOCA-Salt to Exposed Methanolic Extract Combination of Tea Mistletoe and Mango Mistletoe in Preventive Model.

Dyan Aprillia Susanti^{1*}, Nour Athiroh Abdoes Sjakoe^{2**}, Nurul Jadid Mubarakati³
^{1,2,3}Program Studi Biologi, Fakultas FMIPA, Universitas Islam Malang, Indonesia

ABSTRAK

Hipertensi merupakan bertambahnya tekanan darah melebihi batas normal. Pada penderita hipertensi, tekanan darah sistolik 140 mmHg dan tekanan darah diastolik 90 mmHg serta berasal dari lingkungan yang kompleks dan saling berhubungan. Hipertensi ialah penyakit tidak menular yang dapat mengakibatkan kematian pada manusia dan berkaitan erat dengan penyakit kardiovaskular. Hipertensi dianggap sebagai sebab utama 9,4 juta kematian yang terjadi pada penduduk dunia pada setiap tahunnya. Gangguan pembuluh darah di sekitar otak akibat hipertensi dapat menyebabkan kematian. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui efektivitas Ekstrak Metanolik Kombinasi Benalu Mangga dan Benalu Teh (EMKBTBM) yang diberikan pada tikus model hipertensi terhadap gambaran histopatologi otak pada tikus hipertensi (DOCA-garam) model preventif. Metode yang digunakan dalam penelitian ini menggunakan metode *true eksperimental* serta desain penelitian RAL pada 25 ekor tikus wistar jantan dengan 3 perlakuan (PI, PII, PIII), (K-) kelompok tanpa perlakuan apapun (tanpa pemberian DOCA Garam dan EMKBTBM) dan (K+) menggunakan induksi DOCA-Garam tanpa pemberian EMKBTBM, serta 5x ulangan. Pemberian EMKBTBM dengan perbandingan benalu mangga : benalu teh yaitu 3:1 kemudian diberikan dengan dosis 50, 100, 200 mg/KgBB pada perlakuan PI, PII, PIII. Analisis data dilakukan dengan uji statistic ANOVA menggunakan aplikasi JAMOV. Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan pemberian EMKBTBM pada tikus mempunyai efek yaitu dapat mengurangi jumlah kerusakan (nekrosis) di area *white matter* otak. Pemberian EMBTBM dengan dosis 50 mg/KgBB merupakan dosis paling optimum dalam menurunkan jumlah nekrosis sel *white matter* otak tikus wistar jantan.

Kata kunci: Benalu Teh, Benalu Mangga, Hipertensi, Nekrosis Otak

ABSTRACT

Hypertension is an increase in blood pressure that exceeds normal limits. In patients with hypertension, systolic blood pressure is 140 mmHg and diastolic blood pressure is 90 mmHg and comes from a complex and interconnected environment. Hypertension is a non-communicable disease that can cause death in humans and is closely related to cardiovascular disease. Hypertension is considered the main cause of 9.4 million deaths that occur in the world's population every year. Disorders of blood vessels around the brain due to hypertension can cause death. The purpose of this study was to determine the effectiveness of the methanolic extract of the combination of Mango Mistletoe and Mistletoe Tea (EMKBTBM) given to rats with hypertension model on the histopathological features of the brain in hypertensive rats (DOCA-salt) preventive model. The method used in this study was the true experimental method and the RAL research design on 25 male wistar rats with 3 treatments (PI, PII, PIII), (K-) group without any treatment (without administration of DOCA Salt and EMKBTBM) and (K+) using DOCA-Salt induction without giving EMKBTBM, and 5 times replication. The EMKBTBM was given with a ratio of mango mistletoe: tea mistletoe which was 3:1 and then given at a dose of 50, 100, and 200 mg/KgBB in the treatment of PI, PII, PIII. Data analysis was carried out by using ANOVA statistical test using the JAMOV application. Based on the results of the study, it was shown that giving EMKBTBM to rats had the effect of reducing the amount of damage (necrosis) in the white matter area of the brain. The administration of EMBTBM at a dose of 50 mg/KgBW was the most optimum dose in reducing the amount of white matter cell necrosis in the male wistar rat brain.

Keywords: Brain Necrosis, Hypertension, Mango Mistletoe, Tea Mistletoe

Pendahuluan

Hipertensi ialah penyakit tidak menular yang dapat mengakibatkan kematian pada manusia dan berkaitan erat dengan penyakit kardiovaskular. Hipertensi dianggap sebagai penyebab utama 9,4 juta kematian yang terjadi pada penduduk dunia pada setiap tahunnya (IFPMA, 2016). Hingga saat ini, hipertensi tergolong dalam tantangan terbesar di Indonesia. Berdasarkan Laporan Hasil Riset Kesehatan Dasar tahun 2018 menunjukkan prevalensi hipertensi di negara Indonesia mencapai 34% dibandingkan prevalensi pada tahun 2013 yang hanya 25,8% (Kemenkes, 2018).

Tanaman benalu teh dan benalu mangga diketahui memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder (flavonoid, saponin, alkaloid, glikosida, dan tanin) yang berperan sebagai antioksidan alami dan dapat berfungsi sebagai pelindung sistem biologis serta dapat mencegah radikal bebas (Athiroh dkk, 2014). Antihipertensi yang berasal dari benalu mangga dan teh dapat bekerja dengan cara penurunan volume cairan tubuh atau dapat disebut juga dengan *diuresis* dan menurunkan tahanan perifer (*vasodilator*) sehingga dapat mempengaruhi kerja jantung (Kaszkin, 2002). Pada penggunaan formulasi herbal itu sendiri, perlu dilakukan pertimbangan untuk menurunkan efek toksik serta efek samping sehingga pengobatan dapat optimal (RA, 2005).

Otak merupakan organ yang turut serta berfungsi dalam regulasi tekanan darah. Disfungsi yang terjadi pada sel endotel dapat mengakibatkan penyumbatan pembuluh arteri otak (aterosklerosis) dan akan berdampak pada remodeling jaringan pembuluh darah. Otak merupakan pusat kendali aktivitas tubuh, sehingga jika aliran oksigen menuju ke otak terhambat, maka akan berpengaruh pada *white matter*. Rupturnya pembuluh darah dibagian otak dapat menyebabkan hipertensi dan kematian pada sebagian besar otak (Pusparani, 2009). Berdasarkan uraian di atas, perlu dilakukan penelitian mengenai efektivitas pemberian (EMKBTBM) terhadap gambaran histopatologi otak tikus hipertensi (DOCA) garam model preventif.

Material dan Metode

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus wistar jantan, daun kering benalu teh dan mangga, metanol 90%, susu pap, akuades, DOCA (*Deoxycorticosterone acetate*), NaCl 2%, minyak wijen, ketamin, formalin, sekam, masker, handscoon.

Alat digunakan sebagai berikut: kandang hewan uji ukuran 40x30 cm, penutup kandang, timbangan digital, sekam, dan botol minum tikus, corong, botol, gelas ukur, Erlenmeyer, blender, oven, freezer, vortex mixer, tensi tikus tail *cuff blood pressure* papan section, spluit one med, heating set, tabung, efendorf, pinset, pengait jaringan, gunting, mikrosentrifus.

Metode

Rancangan Penelitian

Penelitian ini dilakukan berdasarkan persetujuan Komisi Etika Penelitian Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang (*Ethical Clearance*) dengan nomor: No. 006/LE.001I/V/03/2020 dan metode penelitian menggunakan metode penelitian secara nyata, serta desain penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) pada 25 ekor tikus wistar jantan dengan 3 perlakuan dan 2 kontrol dengan 5 kali ulangan. Model Preventif Ekstrak Metanolik Benalu Mangga dan Benalu Teh yang diberikan pada tikus wistar jantan

(*Rattus novergicus*) selama 28 hari. Kemudian sebelum tindakan perlakuan, dilakukan pengukuran tekanan darah dengan menggunakan metode non-invasif yang dilakukan dengan menset ekor (*cuff*) serta *Volume Pressure Recorder* (VPR) *cuff* dan *occlusion cuff* dan alat yang digunakan adalah invasif CODA. Setiap Pengukuran tekanan darah pada tikus wistar dilakukan 15× pengulangan, kemudian diambil rata-ratanya setelah itu dilakukan pemberian DOCA-Garam+EMBM, dan dilakukan pemeriksaan histopatologi organ otak.

Preparasi Sampel

Daun benalu mangga dan benalu teh yang dipakai adalah daun yang telah dikeringkan dengan suhu oven 50-60°C hingga kadar air berkurang, setelah itu dihaluskan menggunakan blender dan dilanjutkan dengan proses maserasi. Simplisia ditimbang 100 gram kemudian dituangkan kedalam botol plastik 1,5 liter dan ditambahkan larutan metanol 90% lalu dicampurkan selama 1 jam hingga larutan homogen. Kemudian di diamkan selama 24 jam yang akan menghasilkan larutan 2 lapisan yaitu lapisan atas disebut natan dan lapisan bawah supernatant. Selanjutnya supernatant yang dihasilkan kemudian di evaporasi untuk dijadikan pasta.

Pemeliharaan dan Perlakuan Hewan Uji

Tikus wistar jantan diberi DOCA Garam (Diinjeksi secara sub cutan) 2x seminggu setelah pemberian EMKBTBM selama 14 hari. Dilakukan pemberian NaCl setiap hari sebagai air minum dan secara sonde (oral) pada tikus yang terpapar DOCA atau tikus hipertensi. Tikus diberi pakan dan minum, ditimbang BB setiap akan melakukan pengukuran darah. Setelah itu, dilakukan pengukuran tensi pada tikus dilakukan sebelum dan sesudah perlakuan DOCA, setelah pemberian DOCA-Garam dan pemberian DOCA-Garam + EMBTBM. Kemudian tikus dibius dengan ketamine, lalu tikus dibedah untuk diambil organ otak dan ditimbang berat basah kemudian dimasukkan kedalam wadah organ yang berisi formalin 10% untuk kemudian dilakukan proses pengamatan sel nekrosis (histopatologi) pada area *white matter* otak.

Pembuatan Sediaan Mikroskopis dan Pemeriksaan Histopatologi

Pembuatan sediaan mikroskopis dilakukan dengan pembedahan organ otak pada tikus kemudian di cuci secara bertingkat menggunakan xylol, alkohol 70%, alkohol 80%, dan alkohol 95%. Setelah itu dibuat padatan dengan menggunakan paraffin serta penyayatan dilakukan dengan microtome. Kemudian, bagian organ otak yang telah disayat ditempelkan di kaca preparat histopatologi dengan pewarnaan HE (Hematoxylin-Eosin) (Setiawan, 2016). Pemeriksaan histopatologi dilakukan dengan menggunakan mikroskop cahaya (Trinokuler Olympus U-TV0.5XC-3. T7 Tokyo dan perbesarannya ialah 400x.

Analisis data

Data patologi sel otak yang berasal dari Laboratorium Patologi Anatomi Universitas Brawijaya Malang serta data dari hasil perhitungan nekrosis kerusakan sel pada area *white matter* diuji statistis menggunakan aplikasi JAMOWI versi 1.1.9.0. Berdasarkan analisis tersebut didapatkan hasil nilai rata-rata (mean) dan *Standart Deviasi* (SD). Kemudian dilakukan analisis menggunakan metode statistik uji *one-way analysis of variance* (ANOVA).

Perbedaan yang terdapat pada hasil data dapat dilakukan dengan uji lanjutan Post Hoc Test yang berfungsi untuk mengetahui hasil data perlakuan mana yang terdapat perbedaan

signifikan, diharapkan hasil yang didapatkan dari uji ini yaitu perbedaan signifikan dari histopatologi (nekrosis) sel otak tikus jantan wistar dengan perlakuan kontrol negatif (K-), kontrol positif (+), perlakuan (P1), (P2), (P3).

Hasil dan Diskusi

Hasil Penelitian

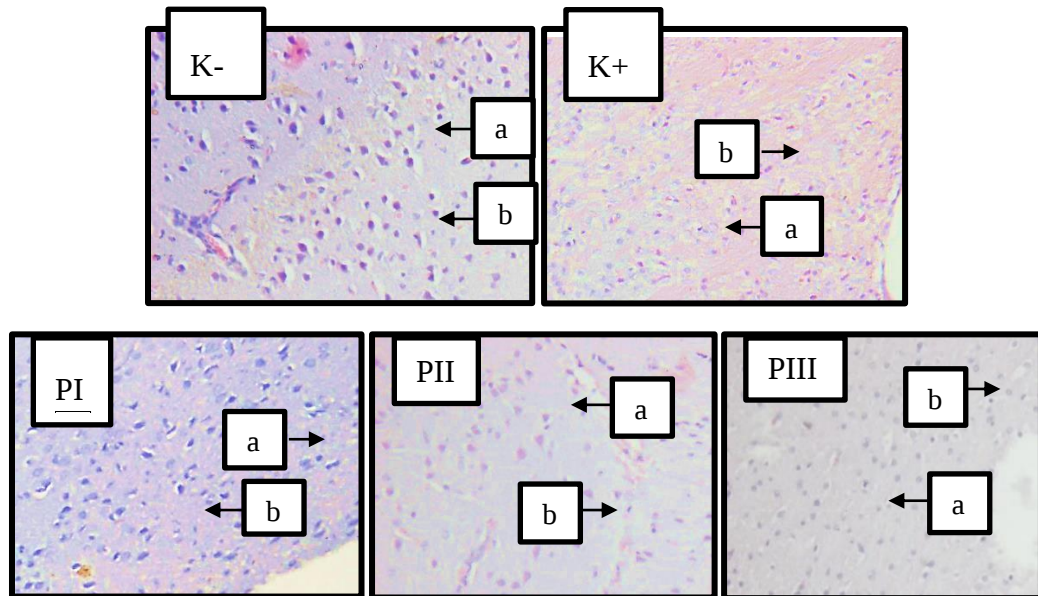
Rerata kerusakan sel nekrosis berdasarkan pengamatan mikroskop dengan pewarnaan HE (Hematoxylin dan Eosin) pada tikus wistar jantan yang diinduksi DOCA-Garam setelah pemberian ekstrak metanolik benalu teh dan benalu mangga selama 28 hari didapatkan hasil ditabulasikan berdasarkan perlakuan dan disajikan dalam Tabel 1. Pada Tabel 1. memperlihatkan rerata kerusakan sel (nekrosis) pada area otak dibagian *white matter* dengan kelompok perlakuan (K+) pada tikus wistar jantan yang diinduksi DOCA-garam tanpa ekstrak metanolik benalu teh dan benalu mangga mempunyai nilai rerata tertinggi dibandingkan dengan kelompok perlakuan kontrol negatif (K-) tanpa induksi DOCA-garam, hal ini menunjukkan bahwa DOCA-garam dapat meningkatkan jumlah kerusakan sel pada area *white matter*. Pada (P1) kelompok tikus wistar jantan perlakuan DOCA-garam yang diberi kombinasi EMBTBM dengan dosis 50 mg/KgBB selama 2 minggu mengalami penurunan jumlah rerata sel nekrosis sebanyak 13.7 dan pada perlakuan P2 dan P3 yang menunjukkan hasil rerata penurunan *white matter* sebanyak 18.7 dan 20.3, hal ini menunjukkan jika EMBTBM mampu menurunkan jumlah nekrosis sel pada otak dibagian *white matter*. Pada dosis 100 dan 200 mg/KgBB memiliki khasiat atau efek yang sama yaitu penurunan jumlah nekrosis dibagian area *white matter*.

Tabel 1. Rerata kerusakan sel nekrosis otak tikus wistar jantan hipertensi (DOCA-Garam) model preventif setelah pemberian EMKBTBM selama 28 hari. Perbedaan notasi menunjukkan perlakuan beda nyata ($p < 0,05$) dan pada persamaan notasi menunjukkan kelompok perlakuan tidak beda nyata ($p > 0,05$).

Perlakuan	Rerata $\pm$ SD	Notasi
Kontrol Negatif	17.3 $\pm$ 7.57	a
Kontrol Positif (DOCA-Garam)	32.8 $\pm$ 3.30	b
P1 (DOCA-Garam + EMBTBM Dosis 50 mg/KgBB)	13.7 $\pm$ 1.53	a
P2 (DOCA-Garam + EMBTBM Dosis 100 mg/KgBB)	18.7 $\pm$ 3.06	a
P3 (DOCA-Garam + EMBTBM Dosis 200 mg/KgBB)	20.3 $\pm$ 6.11	a

Pada Gambar 1. Pengamatan di area *white matter* otak tikus wistar jantan menggunakan perlakuan kontrol, yaitu (K-) dengan kelompok tanpa perlakuan apapun (tanpa pemberian DOCA Garam dan EMKBTBM) dan (K+) menggunakan induksi DOCA-Garam tanpa pemberian EMKBTBM, sedangkan untuk perlakuan (P1) dosis 50 mg/KgBB. (P2) dosis 100 mg/KgBB, dan P3 dosis 200 mg/KgBB, untuk perlakuan P1, P2, dan P3 menggunakan induksi DOCA-Garam dan dengan paparan EMKBTBM. Pada Gambar 1. menunjukkan bahwa hasil kelompok kontrol positif (K+) dengan pewarnaan Hematoxylin dan Eosin memperlihatkan peningkatan jumlah sel nekrosis yang sangat signifikan dan pada

perlakuan PI, PII dan PIII jumlah kerusakan sel nekrosis tidak signifikan dan mendekati perlakuan negatif (K-).



Gambar 1. Hasil pengamatan di area white matter pada otak tikus wistar jantan hipertensi (DOCA-Garam) model preventif setelah pemberian EMKBTBM selama 28 hari pada mikroskop cahaya trinokuler olympus U-TV0.5XC-3, T7 Tokyo, Japan) dengan perbesaran 400x Keterangan: a. Sel normal, b. Sel nekrosis

Pembahasan

Pada perlakuan PI, PII, dan PIII memiliki nilai rerata ysng medekati nilai perlakuan kelompok negatif atau normal (K-). Rerata pada perlakuan PI yaitu 13.7, PII yaitu 18.7 dan PIII yaitu 20.3 serta pada perlakuan kelompok negatif (K-) yaitu 17.3. Hal ini dapat diartikan bahwa pemberian kombinasi EMKBTBM pada tikus hipertensi dapat mengurangi kerusakan sel nekrosis otak. Nekrosis otak adalah kerusakan sel yang terjadi di bagian otak. Senyawa metabolit sekunder seperti yang terdapat pada kombinasi benalu teh dan benalu mangga (BTBM) dapat mencegah kerusakan nekrosis pada otak (Mihmidati dan Athiroh, 2017).

Parameter pada penelitian ini yaitu histopatologi otak pada area *white matter*. Pemilihan parameter ini dikarenakan otak merupakan organ penting yang memiliki fungsi untuk mengontrol aktivitas makhluk hidup serta berperan dalam sistem regulasi tekanan darah (Purwanti, 2013). Otak menerima $\pm 20\%$ pasokan darah yang berasal dari total cardiac output yaitu 750 ml darah per menit (Kuma dkk., 2005). Hal tersebut dapat mengakibatkan otak menerima paparan senyawa yang masuk kedalam tubuh melalui aliran darah (Pusparani, 2009). Otak memiliki 2 jenis sel yang terdiri atas sel neuron dan neuroglia. Sel neuron sebagai pengantar impuls apabila sel yang terdapat pada organ otak mengalami kerusakan sel atau nekrosis dan sel neuroglia akan mengaktifasi dengan melakukan fagositosis sehingga jumlah sel neuroglia akan mengalami peningkatan (Amir, 2010).

Kandungan senyawa pada benalu teh dan benalu mangga seperti flavonoid, tanin, alkaloid, quersetin glikosida, inulin, dan saponin. Senyawa flavonoid berperan sebagai antioksidan yang berfungsi untuk melindungi sistem biologis serta berguna untuk menghambat oksidasi sel (Mahyan, 2016). Kandungan senyawa flavonoid, saponin, dan polifenol juga berguna dalam pencegahan penyakit kanker (Kurniasih dkk., 2015).

Nilai rerata pada kelompok PI, PII, dan PIII lebih kecil dibandingkan dengan kelompok positif (K+) yang di induksi DOCA-Garam. Pada penelitian ini, pemberian EMBTBM tidak mempunyai perbedaan yang signifikan sehingga variasi dosis yang diberikan yaitu pada dosis 50 dan 100 mg/KgBB, dan pada dosis 200 mg/KgBB memiliki potensi untuk meminimalisir (menurunkan) jumlah nekrosis pada sel otak di area *white matter*, dosis optimum pemberian EMBTBM yaitu dosis 50 mg/KgBB, dikarenakan dosis tersebut mampu menurunkan jumlah nekrosis sel. Pada sel otak yang mengalami nekrosis akan difagositosis oleh makrofag yang kemudian akan digantikan oleh sel – sel yang baru sehingga dapat memperbaiki gambaran pada histopatologi otak agar mendekati gambaran yang normal, dari hasil penelitian yang sudah didapatkan yaitu pemberian EMKB TBM selama 28 hari mampu menurunkan jumlah nekrosis sel pada otak tikus hipertensi di area *white matter*.

Kesimpulan

Pengaruh pemberian ekstrak metanol EMKB TBM terhadap gambaran histopatologi otak tikus hipertensi (DOCA-garam) yang dilakukan selama 28 hari dengan dosis 50, 100 dan 200 mg/KgBB dapat menurunkan jumlah sel nekrosis pada otak. Ketiga dosis tersebut memiliki perbedaan yang nyata. Adapun dosis optimum pemberian ekstrak metanol benalu teh dan benalu mangga dalam menurunkan jumlah sel nekrosis pada bagian otak area *white matter* tikus wistar jantan adalah 50 mg/KgBB.

Ucapan Terima Kasih

Ucapan terimakasih diberikan kepada LLDIKTI 7 – RISBANG 187/ SP2H/ LT/ DRPM/ 2020 Tanggal 09 Maret 2020. PT – LLDIKTI 7 017/ SP2H/ LT – MULTI/ LL7/ 2020 Tanggal 17 Maret 2020. Peneliti – LPPM 199/ G 164/ U.LPPM/ K/ B.07/ VIII/ 2020 Tanggal 07 Agustus 2020. Ketua Peneliti Dr. Nour Athiroh A.S., S.Si., M.Kes.

Daftar Pustaka

- [1] IFPMA. 2016. Hypertension: Putting The Pressure on The Silent Killer. Swiss.
- [2] Potter, P. A. 2010. Fundamental of Nursing 7th edition Vol. 3. Singapore: Elsevier.
- [3] Pusparani, S. 2009. Hubungan Antara Hipertensi dan Stroke Hemoragik pada Pemeriksaan CT-Scan Kepala di Instalasi Radiologi RSUD dr. Moewardi Surakarta. Skripsi. Surakarta. Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta.
- [4] Setiawan, B. 2016. Optimalisasi metode automatic slide stainer untuk pewarnaan jaringan menggunakan hematoxililn-eosin. Skripsi. Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.
- [5] Kementrian Kesehatan RI. 2018. *Riset Kesehatan Dasar*. Jakarta: Kemenkes RI.
- [6] Purwanti, K. L. 2013. Perbedaan Gender Terhadap Kemampuan Berhitung matematika Menggunakan Otak Kanan Pada Siswa Kelas I. SAWWA. Volume 9 (1) : 107-122.
- [7] Amir, D. 2010. Gangguan fungsi Motor Pada Penderita Hipertensi (Kajian Biomolekuler). *Neurona*. Vol. 28 (1).

- [8] Athiroh, N., Permatasari, N., Sargowo, D., and Widodo, M.A. 2014. Antioxidative and Blood Pressure-Lowering Effects from *Scurrulaatropurpurea* on DOCA-salt Hypertensive Rats. *Biomarkers and Genomic Medicine*. 6 (1) : 32-36
- [9] Azizatunnisa, N. d. 2012. Pengetahuan dan Keterampilan Perawat dalam Pelayanan Keperawatan Holistik di Indonesian Holistic Tourist Hospital. *Jurnal Nursing Studies*. Vol. 1. No. 1.
- [10] Kurniasih, N. Mimin, K, Riska P. S, Riza W .2015. Potensi Daun Sirsak (*Annona Muricata Linn*), Daun Binahong (*Anredera Cordifolia (Ten) Steenis*), Dan Daun Benalu Mangga (*Dendrophthoe Pentandra*) Sebagai Antioksidan Pencegah Kanker. ISSN 1979-8911. Volume IX No. 1.
- [11] Mahyan, A., Athiroh., Santoso. 2016. Paparan 28 Hari Ekstrak Metanolik *Scurrula atropurpurea (Bl.) Dans* terhadap Kadar SGPT Tikus Betina. *E-Jurnal Ilmiah BIOSANTROPIS (BIOSCIENCE-TROPIC)*., 2(1): 53-58., ISSN: 2460-9455(e)-2338-2805(p).
- [12] Mihmidati, L dan Athiroh, N. 2017. Pengaruh Ekstrak Metanolik (*Scurrula atropurpurea (Bl.) Dans*) yang Diberikan Secara Subkronik 90 Hari Pada Tikus Betina (*Rattus novergicus*) Terhadap Necrosis Otak. *Jurnal Ilmiah BIOSAIN TROPIS*. ISSN: 2460-9455. Volume 3. Nomer 2. Halaman : 16-23.