

## Indeks Hepatosomatic *Rattus norvegicus* Hiperlipidemia Setelah Paparan Ekstrak Etanol Daun *Azadirachta indica*

### Hepatosomatic Index *Rattus norvegicus* Hyperlipidemia After Exposure to Ethanol Extract Leaf *Azadirachta indica*

Sri Isdadiyanto\*, Anggih Retno Pratiwi, Siti M Mardiaty

Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Matematika, Universitas Diponegoro

Jl. Prof. Soedarto, SH, Tembalang, Semarang 50275

\*Email :isdadiyanto@yahoo.com

Diterima 13 April 2022 / Disetujui 27 Oktober 2022

#### ABSTRAK

Pakan tinggi lemak terutama kolesterol dapat menyebabkan terjadinya hiperlipidemia, hal ini merupakan salah satu faktor pemicu terjadinya penyakit perlemakan hepar non alkoholik. *Azadirachta indica* A. Juss (Mimba) merupakan tanaman herbal yang mengandung antioksidan, antihiperlipidemia, dan memiliki aktivitas hepatoprotektor. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh paparan ekstrak etanol daun mimba (*Azadirachta indica* A. Juss) terhadap hepatosomatic index (HSI) tikus putih (*Rattus norvegicus* L.) yang diberi diet tinggi lemak. Dua puluh empat ekor tikus putih dibagi menjadi 6 kelompok perlakuan yaitu, P0 = kontrol normal, P1= kontrol negatif (diet tinggi lemak), P2 (diet tinggi lemak+simvastatin), P3 (diet tinggi lemak + dosis 75mg/ 200gBB), P4 (diet tinggi lemak+dosis 100mg/ 200gBB) dan P5 (diet tinggi lemak+ 125mg/200gBB). Penentuan HSI diperoleh dari bobot hepar dan bobot badan. Preparat dibuat dengan metode paraffin, tebal irisan 4µm dan pewarnaan HE. Data berat badan, berat hepar dan hepatosomatic index yang homogen dan berdistribusi normal dianalisis secara statistik menggunakan ANOVA dilanjutkan dengan uji Duncan dengan taraf signifikansi 5% menggunakan software SPSS 16.0. Hasil analisis hepatosomatic index pada kelompok perlakuan menunjukkan tidak berbeda nyata ( $p>0,05$ ), sehingga dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak etanol daun mimba tergolong aman untuk digunakan sebagai obat herbal.

*Kata kunci : hiperlipidemia; Indeks Hepatosomatic; obat herbal*

#### ABSTRACT

Diets high in fat, especially cholesterol, can cause hyperlipidemia, this is one of the triggering factors for non-alcoholic fatty liver disease. *Azadirachta indica* A. Juss (Neem) is an herbal plant that contains antioxidants, antihyperlipidemia, and has hepatoprotective activity. This study aims to determine the effect of exposure to ethanolic extract of neem leaves (*Azadirachta indica* A. Juss) on the hepatosomatic index (HSI) of white rats (*Rattus norvegicus* L.) fed a high-fat diet. Twenty-four white rats were divided into 6 treatment groups, namely, P0 = normal control, P1 = negative control (high fat diet), P2 (high fat diet + simvastatin), P3 (high fat diet + 75mg/200gBW dose), P4 (high-fat diet + dose of 100mg/200gBW) and P5 (high-fat diet+125mg/200gBW). Determination of HSI was obtained from liver weight and body weight. Histological preparations were made using paraffin method, 4µm thick slices and HE staining. Data on body weight, liver weight and hepatosomatic index which were homogeneous and normally distributed were statistically analyzed using ANOVA followed by Duncan's test with a significance level of 5% using SPSS 16.0 software. The results of the analysis of the hepatosomatic index in the treatment group showed no significant difference ( $p>0.05$ ), so it can be concluded that the administration of neem leaf ethanol extract is safe for use as herbal medicine.

*Keywords : Hepatosomatic Index; Herbal medicine; Hyperlipidemia*

## PENDAHULUAN

Hepar adalah organ yang mempunyai fungsi sangat penting dan kompleks terutama dalam metabolisme lemak, penyimpanan glikogen, pertahanan tubuh, perombakan sel darah merah tua, detoksifikasi zat sisa tubuh, hormon, obat dan senyawa asing lain (Sherwood, 2011). Hepar merupakan organ yang sangat rentan terhadap pengaruh senyawa-senyawa kimia. Hepar sering mengalami kerusakan akibat masuknya bahan toksik. Lu (2012) menyatakan bahwa sekitar 80% suplai darah ke hepar berasal dari saluran pencernaan, maka bahan-bahan toksik yang diabsorpsi usus akan dibawa ke hepar melalui vena porta. Bahan toksik dapat menyebabkan bermacam-macam jenis efek toksik seperti steatosis, nekrosis, kolestasis, dan sirosis.

Makanan dengan kadar tinggi lemak terutama kolesterol dapat menyebabkan terjadinya hiperlipidemia. Pernyataan tersebut sesuai dengan penelitian Hariaji (2019) bahwa kadar kolesterol total plasma darah tikus meningkat pada semua kelompok yang diberikan kuning telur ayam selama dua minggu. Peningkatan kadar kolesterol disebabkan karena satu kuning telur ayam mengandung 220-250 mg kolesterol dan lemak jenuh. Kadar kolesterol darah yang meningkat merupakan salah satu faktor pemicu terjadinya penyakit perlemakan hepar non alkoholik. Dowman et al. (2011) menyatakan bahwa perlemakan hepar dapat didiagnosis secara dini dengan pemeriksaan mikroskopis untuk mengetahui perubahan struktur histologinya. Spektrum kelainan hepar pada NAFLD (Nonalcoholic Fatty Liver Disease) adalah meliputi steatosis (perlemakan), steatohepatitis (perlemakan dan peradangan hepar, Non-alcoholic steatohepatitis / NASH), fibrosis hepar dan sirosis hepar. Schwimmer et al., (2006) menyatakan penyakit perlemakan hepar non alkoholik adalah diagnosis klinikopatologis yang ditandai secara histologis dengan adanya penumpukan lemak terutama trigliserida di hepatosit. Johnson & Olefsky (2013) menyatakan akumulasi lemak di hepar dihasilkan dari ketidakseimbangan asupan lemak, sintesis, degradasi dan sekresi. Akumulasi lemak hepar dari waktu ke waktu diinisiasi oleh hilangnya fungsi regulasi lemak di hepar, stres

oksidatif, dan sitokin pro-inflamasi yang berinteraksi secara sinergis.

Hepar merupakan organ yang terlibat dalam metabolisme zat makanan serta sebagian besar obat dan toksikan. Oleh karena itu hepar merupakan organ yang paling sering mengalami kerusakan karena salah satu fungsi hepar sebagai detoksifikasi. Kerusakan sel (degenerasi) akibat gangguan zat yang bersifat toksik dapat menyebabkan sel hepar mengalami pembengkakan, sehingga tampak rongga-rongga yang melebar. Degenerasi pada sel hepar ini disebabkan oleh gangguan pada membran sel akibat dari denaturasi protein yang terjadi karena sebagian besar komponen membran sel adalah protein (Susantoputro, 2011). Kerusakan sel hepar yang lebih parah dimungkinkan terjadi seperti fibrosis dan nekrosis. Nekrosis adalah kematian sel atau jaringan pada organisme hidup. Nekrosis ditandai dengan perubahan pada morfologi, inti sel yang mengecil, kromatin dan serabut retikuler menjadi berlipat-lipat. Inti sel dapat terlihat piknotik dan dapat hancur bersegmen-segmen. Sel hepar dapat mengalami nekrosis pada daerah yang luas maupun kecil (Cox, 2004). Fibrosis hepar merupakan hasil dari respon penyembuhan luka terhadap lesi berulang, setelah jejas hepar akut (contoh: hepatitis virus), sel parenkim beregenerasi untuk menggantikan sel nekrotik atau apoptotik. Proses ini berhubungan dengan respon inflamasi dan deposisi terbatas dari ECM atau Extracellular Matrix (Xu et al., 2012 ; Iredale, 2007).

Tatalaksana dalam menurunkan kadar lipid terutama kolesterol, digunakan obat penurun kolesterol atau antikolesterol yang sangat banyak beredar di pasaran, baik obat sintetik maupun obat tradisional, namun penggunaan obat sintetik dapat memberikan efek samping pada penggunaannya (Dwipayanti & Sutomo, 2019). Efek samping dari penggunaan obat sintetik dapat dikurangi dengan menggunakan obat alami atau obat tradisional dari tumbuhan. Salah satu tumbuhan yang dapat digunakan sebagai alternatif untuk menurunkan kadar kolesterol yaitu mimba. Mimba (*Azadirachta indica* A. Juss) termasuk dalam family meliaceae dan banyak ditemukan di negara-negara tropik, salah satunya di Indonesia. Pemanfaatan sebagai obat tradisional dikarenakan tanaman mimba mengandung senyawa bioaktif terutama pada

daunnya. Skrining fitokimia dari daun mimba dengan pelarut etanol menunjukkan bahwa daun mimba mengandung senyawa-senyawa bioaktif antara lain alkaloid dan saponin (Keta, et al. 2019; Aathira dan Suganthi, 2019 ; Sahrawat, et al. 2018). Hasil uji yang telah dilakukan oleh Rahmani et al. (2018) juga menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun mimba mengandung asam askorbat. Sejalan dengan itu, ditemukan juga beberapa senyawa lain seperti fenol, flavonoid, dan tanin dari ekstrak etanol daun mimba (Pandey et al., 2014; Prasanna, 2017). Dilaporkan bahwa daun mimba mengandung senyawa-senyawa bioaktif antara lain alkaloid, anthraquinone, saponin, glikosida jantung, quercetin 3-galaktosida, fenol, flavonoid, tanin, dan asam askorbat (Awotedu et al., 2019; Rao et al., 2019). Bisht & Sisodia (2010) dalam penelitiannya tentang potensi anti-hiperglikemik dan anti-dislipidemia ekstrak daun *Azadirachta indica* A. Juss pada STZ-Diabetes Mellitus yang diinduksi Streptozotocin, menunjukkan bahwa pemberian berulang ekstrak etanol *Azadirachta indica* A. Juss pada tikus diabetes dapat mencegah peningkatan kadar kolesterol TC, TG, LDL dan VLDL daripada tikus diabetes yang tidak diberikan ekstrak daun mimba, sedangkan kadar kolesterol HDL meningkat secara signifikan.

Penelitian sebelumnya terbatas hanya pada analisis kandungan fitokimia daun mimba dan manfaatnya dalam menurunkan kadar kolesterol. Penelitian yang kami lakukan ini bertujuan mengidentifikasi pengaruh diet tinggi lemak yaitu diberikan kuning telur bebek dan pakan yang ditambahkan minyak jelantah, terhadap histopatologi hepar tikus putih (*Rattus norvegicus* L.) dan menganalisis pengaruh ekstrak etanol daun mimba (*Azadirachta indica* A. Juss) dengan dosis yang berbeda terhadap hepatosomatic index tikus putih (*Rattus norvegicus* L.) yang diberi diet tinggi lemak. Sehingga diharapkan ditemukan tata laksana untuk mengatasi hiperkolesterolemia dan lebih lanjut pada organ hepar penderita hiperkolesterolemia dengan tepat dan tanpa efek samping.

## **METODE PENELITIAN**

### **Subjek Penelitian**

Subjek dalam penelitian yaitu tikus putih jantan (*Rattus norvegicus* L.) umur dua bulan sebanyak 24 ekor untuk 6 perlakuan dan masing-masing perlakuan terdiri dari 4 ulangan.

### **Desain Percobaan**

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL), dibagi menjadi 6 kelompok perlakuan dengan 4 pengulangan. Perlakuan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut, yaitu: P0 = kontrol normal, P1 = kontrol positif, diberi pakan tinggi lemak dan kuning telur bebek per oral 2,5 ml/200 gBB, P2 : Diberi pakan tinggi lemak dan kuning telur bebek per oral 2,5 ml/200gBB + 8 mg/200 gBB simvastatin dalam 1 ml aquades, P3 = Diberi pakan tinggi lemak dan kuning telur bebek per oral 2,5 ml/200gBB + 75 mg/200 gBB ekstrak etanol daun *A. indica* dalam 1 ml aquades, P4 = Diberi pakan tinggi lemak dan kuning telur bebek per oral 2,5 ml/200gBB + 100 mg/200 gBB ekstrak etanol daun *A. indica* dalam 1 ml aquades, P5 = Diberi pakan tinggi lemak dan kuning telur bebek per oral 2,5 ml/200gBB + 125 mg/200 gBB ekstrak etanol daun *A. indica* dalam 1 ml aquades. Tikus diaklimasi dikandang kolektif selama  $\pm 1$  minggu. Selama masa aklimasi, hewan uji diberi pakan standar dan air minum secara ad libitum. Kandang dibersihkan dengan cara mengganti sekam setiap tiga hari sekali dengan sekam padi yang baru. Setiap minggu tikus ditimbang untuk mengetahui perkembangan bobot badan. Pakan tinggi lemak diberikan setiap pagi sebanyak  $\pm 30$  g. Pemberian air minum setiap hari bersamaan dengan pemberian pakan sebanyak 75 ml. Pemberian kuning telur bebek diberikan setiap dua hari sekali (pagi), sedangkan simvastatin dan ekstrak etanol daun mimba diberikan setiap sore hari secara oral selama 44 hari.

### **Pembuatan Pakan Tinggi Lemak**

Pembuatan pakan tinggi lemak dilakukan dengan mencampur pakan komersial dan minyak jelantah (Reused cooking oil) yang diperoleh dari minyak goreng kemasan satu liter yang digunakan untuk menggoreng tahu seberat 450 g selama 10

menit pada suhu 150-165°C dengan teknik deep fat frying (Muhartono dkk., 2018) sebanyak 9 kali penggorengan, serta asupan lemak tambahan dari kuning telur bebek.

**Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Mimba**

Ekstrak etanol daun mimba dibuat dengan daun dikeringkan dalam oven suhu 45-50°C, dibalik posisinya setiap hari supaya keringnya merata. Daun yang sudah kering kemudian dihancurkan secara mekanik untuk kemudian diekstraksi menggunakan metode maserasi menggunakan etanol 70 % dan dievaporasi sampai ekstrak berbentuk serbuk (Hasana et al., 2019).

**Pengambilan Variable**

Berat badan dan hepar diukur menggunakan neraca dalam satuan gram (Yuniarti et al., 2016). Berat badan dan hepar kemudian digunakan untuk analisis nilai *Hepatosomatic Index* (HSI) dihitung

berdasarkan bobot hepar (g) / bobot badan (g) x 100 (Dewi dkk., 2014).

**Analisis dan Interpretasi Data**

Data berat hepar, berat badan dan hepatosomatic index dianalisis dengan menggunakan uji ANOVA dengan taraf signifikansi 5%. Jika hasil menunjukkan beda nyata dilanjutkan *Duncan Multiple Range Test* (DMRT). Analisis data menggunakan program SPSS versi 16.0.

**HASIL DAN PEMBAHASAN**

Hasil analisis pengaruh paparan ekstrak etanol daun mimba (*Azadirachta indica* A.juss) terhadap hepatosomatic index tikus putih (*Rattus norvegicus* L.) yang diberi diet tinggi lemak dengan menggunakan uji *Analysis of Variance* (ANOVA) one way dan dilanjutkan uji *Duncan Multiple Range Test* dengan taraf kepercayaan 95%, disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Rata-rata berat hepar, berat badan dan hepatosomatic index

Perlakuan	Variabel		
	Rata-rata berat hepar (g) ± SD	Rata-rata berat badan (g) ± SD	Rata-rata hepatosomatic index (%) ± SD
P0	9.41 <sup>ab</sup> ±1.1	245.00 <sup>a</sup> ±19.15	3.84 <sup>a</sup> ±0.36
P1	11.28 <sup>b</sup> ±1.36	267.50 <sup>a</sup> ±15	4.23 <sup>a</sup> ±0.64
P2	7.99 <sup>a</sup> ±1.35	222.50 <sup>a</sup> ±45	3.63 <sup>a</sup> ±0.32
P3	8.01 <sup>a</sup> ±0.53	220.00 <sup>a</sup> ±18.26	3.65 <sup>a</sup> ±0.18
P4	9.31 <sup>ab</sup> ±1.30	247.50 <sup>a</sup> ±9.57	3.75 <sup>a</sup> ±0.39
P5	8.71 <sup>a</sup> ±2.09	235.00 <sup>a</sup> ±43.59	3.68 <sup>a</sup> ±0.27

Keterangan: Angka dengan superskrip yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata (P>0,05). Kelompok kontrol diberi diet standar (P0); Diberikan diet tinggi lemak dan kuning telur bebek 2,5 ml/200gBB (P1); P1 + simvastatin 8 mg/200gBB dalam 1 ml aquades (P2); P1 + 75 mg/200gBB ekstrak etanol daun mimba dalam 1 ml air suling (P3); P1 + 100 mg/200gBB ekstrak etanol daun mimba dalam 1 ml air suling (P4); dan P1+ 125 mg/200gBB ekstrak etanol daun mimba dalam 1 ml aquades (P5).

Hasil analisis berat hepar yang diperoleh pada Tabel 1. menunjukkan berat hepar kelompok perlakuan P1 berbeda nyata terhadap kelompok perlakuan P2, P3 dan P5, kelompok perlakuan P0 tidak berbeda nyata dengan P4, P0 dan P4 tidak berbeda nyata terhadap P1 dan terhadap P2, P3 serta P5. Hal ini dikarenakan pemberian diet tinggi lemak (pakan tinggi lemak dan kuning telur bebek per oral 2,5 ml/200gBB) pada tikus putih (*Rattus norvegicus* L.) membuat berat hepar kelompok perlakuan P1

mengalami peningkatan dari berat hepar kelompok kontrol (P0) tetapi tidak menunjukkan perbedaan hasil yang nyata. Isdadiyanto (2009) menyatakan perbedaan berat hepar dapat disebabkan oleh penimbunan lemak dalam hepar. Hepar berlemak (fatty liver) yang ditandai dengan membesarnya vakuola dan bertambahnya berat hepar disebabkan abnormalitas metabolisme lipid. Penelitian Sukarsa (2004) diperoleh informasi bahwa diet tinggi lemak yaitu pemberian minyak kelapa sawit yang

dikonsumsi sebagai minyak goreng dengan penggorengan berulang berpengaruh terhadap organ jantung, hati dan ginjal, yang memperlihatkan adanya hipertropi yang teramati secara makroskopis. Pakan tinggi lemak yang diberikan pada tikus juga diberikan asupan lemak tambahan yaitu dengan pemberian kuning telur bebek 2,5 ml/200 gBB setiap 2 hari sekali yang menurut penelitian Wikanta (2003), menyatakan bahwa kondisi hiperlipidemia pada hewan kelompok perlakuan dilakukan dengan pemberian pakan hiperkolesterol dari kuning telur bebek sebanyak 2,5 ml setiap dua hari sekali melalui sonde serta diberi pakan tinggi lemak pada pakan standar, kondisi ini menunjukkan adanya penambahan bobot organ yang cukup berarti. Anggraini (2008) pada penelitiannya menyatakan bahwa pada hati terjadi degenerasi lemak maka akan berakibat pada penambahan bobot organ hati. Isdadiyanto et al. (2020) menyatakan kadar kolesterol total, kolesterol LDL dan trigliserida tikus yang diberi diet tinggi lemak dan simvastatin lebih rendah daripada tikus yang hanya diberi diet tinggi lemak saja, kadar kolesterol HDL tikus yang diberi simvastatin lebih tinggi dari tikus yang hanya diberi diet tinggi lemak saja.

Hasil analisis berat badan tikus setelah penelitian yang diperoleh (Tabel 1.) berat badan tikus dari semua kelompok perlakuan memiliki nilai berbeda tidak nyata ( $p > 0.05$ ). Hasil menunjukkan bahwa berat badan paling tinggi yaitu pada kelompok perlakuan P1 yang disebabkan pemberian diet tinggi lemak yaitu pakan komersial yang ditambah dengan minyak jelantah dengan asupan lemak tambahan kuning telur bebek setiap 2 hari sekali sehingga mengakibatkan penambahan berat badan yang cukup banyak. Hal ini sesuai dengan penelitian Sastri (2010) bahwa penambahan minyak jelantah pada pakan komersial menyebabkan penambahan berat badan pada tikus putih (*Rattus norvegicus* L.) yang cukup signifikan daripada tikus kelompok kontrol yang hanya diberi pakan komersial saja. Hal ini diduga diakibatkan peningkatan kadar TG (trigliserida) dalam darah, yang didukung oleh Milanski et al. (2009) bahwa penyimpanan TG (trigliserida) yang berlebihan menyebabkan sel adiposit hypertrophy dan hiperplasi atau menimbulkan obesitas. Berat badan

kelompok perlakuan P2 dengan pemberian simvastatin, P3, P4 dan P5 mendekati berat badan tikus kontrol dikarenakan pemberian ekstrak etanol daun mimba mengandung nimbodin yang menyebabkan penurunan ketersediaan energi untuk metabolisme. Widyarningsih & Yuliani (2010) menyatakan bahwa degenerasi lemak dapat terjadi karena adanya akumulasi trigliserida dalam sel hepar. Beberapa penyebab akumulasi trigliserida yaitu, adanya masukan asam lemak yang berlebih ke dalam hepar, peningkatan sintesis asam lemak, penurunan oksidasi asam lemak sebagai akibat esterifikasi asam lemak menjadi trigliserida, penurunan sintesis apoprotein dan gangguan sekresi lipoprotein dari hepar.

Simvastatin adalah obat yang sudah terbukti mampu menurunkan kadar kolesterol sehingga mampu mencegah kenaikan berat badan. Hal ini sesuai penelitian Rusdi dkk. (2018) simvastatin merupakan obat yang biasa dikonsumsi untuk terapi hiperlipidemia digunakan sebagai kontrol positif karena obat ini sangat efektif dalam menurunkan kolesterol total dan LDL, dibuktikan dengan adanya penghambatan penambahan berat badan tikus hasil penelitiannya. Penghambatan penambahan berat badan tikus oleh ekstrak etanol daun mimba sesuai dengan Pankaj et al. (2011) yang menyatakan bahwa Nimbodin, bahan aktif yang dapat terisolasi dengan ekstraksi ethanol, berfungsi sebagai hypoglycaemic agent sehingga diduga menyebabkan penurunan ketersediaan energi untuk metabolisme hewan uji. Colville and Bassert (2008) menyatakan bahwa penurunan ketersediaan energi dalam tubuh akan menyebabkan penurunan bobot badan karena hewan tidak dapat mensintesis komponen penyusun tubuh dengan sempurna. Berat badan tikus kelompok perlakuan P2 dengan pemberian simvastatin dan perlakuan P3, P4 serta P5 dengan pemberian ekstrak etanol daun mimba menunjukkan hasil tidak berbeda nyata ( $P < 0.05$ ) terhadap tikus kontrol karena pemberian dosis simvastatin dan ekstrak etanol daun mimba dalam dosis normal atau aman. Hasil penelitian ini sesuai dengan Kusuma dkk. (2019) yang menyatakan bahwa pemberian ekstrak etanol daun mimba yang masih pada dosis normal tidak memperlihatkan adanya penambahan berat badan yang signifikan.

Infiltrasi sel radang berkurang menunjukkan berkurangnya zat toksik dan radikal bebas yang masuk kedalam sel hepar. Hal ini sesuai dengan Baratawijaya (2002) inflamasi atau reaksi peradangan merupakan mekanisme penting yang diperlukan tubuh untuk mempertahankan diri dari berbagai bahaya yang mengganggu keseimbangan juga memperbaiki struktur serta gangguan fungsi jaringan yang ditimbulkan bahaya tersebut, sehingga apabila sel radang yang dijumpai berkurang, dapat diketahui bahwa senyawa toksik yang berpotensi merusak sel dapat ditekan. Hal ini diduga karena ekstrak daun Mimba mengandung senyawa antioksidan, dugaan ini didukung hasil penelitian Hartono & Prabowo (2019) yang menyatakan bahwa berbagai senyawa fitokimia antioksidan ekstrak daun mimba berfungsi sebagai hepatoprotektor karena mampu meredam pembentukan radikal bebas dengan cara direct scavenging yaitu menurunkan pembentukan ROS yang mempunyai efek toksik pada membran fosfolipid dan menyebabkan spektrum luas dari kerusakan sel sehingga akan mengurangi terjadinya stress oksidatif.

Alkaloid yang juga terkandung dalam ekstrak etanol daun mimba dapat mencegah kelebihan penyerapan kolesterol di hepar. Penelitian Wahyudi (2009) menunjukkan alkaloid bekerja sebagai antioksidan dengan mendonorkan ion hidrogen seperti pada flavonoid. Mekanisme donor hidrogen ini lebih lanjut dijelaskan oleh Brunetti et al. (2013) yang menyatakan bahwa aktivitas antioksidan kandungan flavonoid terutama kuersetin memiliki struktur yang memungkinkan aktivitas penangkapan radikal dari flavonoid adalah adanya 3,4-dihidroksil misalnya dihidroksil (struktur katekol) pada cincin B, berperan sebagai donor elektron dan menjadi target radikal. Struktur 3-OH dari cincin C juga menguntungkan untuk aktivitas antioksidan flavonoid. Konjugasi ikatan rangkap pada C2-C3 dengan gugus 4-keto, berperan untuk delokalisasi elektron dari cincin B sehingga meningkatkan kapasitas penangkapan radikal. Adanya gugus 3-OH dan 5-OH dalam kombinasi dengan fungsi 4-karbonil dan ikatan rangkap C2-C3 menaikkan aktivitas radikal. Tidak adanya struktur o-dihidroksi pada cincin B, substituen hidroksil pada cincin A dapat dikompensasi dan menaikkan

kemampuan aktivitas antiradikal dari flavonoid. Kemampuan ini diduga mampu mengikat radikal bebas dari minyak jelantah yang memicu gagalnya pengeluaran trigliserida.

Minyak jelantah menurut Rukmini (2007) mengandung radikal bebas dengan indikator peroksida ( $\text{COO}^*$ ) masuknya zat kimia ke dalam hepar membentuk radikal (molekul dengan elektron yang tidak berpasangan sehingga reaktif), radikal bebas ini berikatan dengan  $\text{O}_2$  di dalam tubuh membentuk peroksil (peroksi radikal), peroksil mengabsorpsi atom hidrogen dari molekul lipid tak jenuh, sehingga terjadi reaksi berkepanjangan yang menghasilkan peroksida-peroksida yang lain yaitu peroksinitrit, peroksil. Peroksinitrit ini bersifat lipofilik yang menyebabkan peroksida lipid dalam membran dan di dalam sel ini yang terserang adalah mitokondria, kemudian melepaskan ribosa dan retikulum endoplasmik, sehingga suplai energi yang diperlukan untuk memelihara fungsi dan struktur retikulum endoplasmik terhambat dan sintesis protein menurun drastis sehingga sel kehilangan daya untuk mengeluarkan trigliserida sehingga terjadi penumpukan trigliserida di hepar dan terjadilah kerusakan sel hepar, yang menyebabkan nekrosis sel hepar. Hal ini sesuai dengan Basaranoglu & Ormeci (2014) yang menyatakan bahwa konsumsi lemak berlebih dan gangguan pada beta-oksidasi asam lemak di dalam sel hepatosit dapat menyebabkan akumulasi trigliserida di dalam sel hepatosit sehingga terjadi pembengkakan. Dewi dan Saraswati (2009) menyatakan bahwa pembengkakan sel hepatosit yang sering dijumpai juga terjadi karena adanya penimbunan cairan yang ada di dalam sitoplasma sel, hal tersebut dapat disebabkan karena gangguan pada pengaturan cairan sel, yang antara lain disebabkan karena adanya kerusakan pada membran sel akibat zat toksik. Gangguan pengaturan cairan dalam sel mengakibatkan adanya influks air ke dalam sel, akibatnya sebagian organela seperti retikulum endoplasma, mitokondria berubah menjadi kantong-kantong yang berisi air, sehingga pada pengamatan di bawah mikroskop terlihat sel membesar dengan gambaran vakuola pada sitoplasma sel.

Tanin dapat menghambat penyerapan lemak di usus dengan cara mengikat protein mukosa dan

sel epitel usus. Penelitian Arief dkk. (2012) menjelaskan bahwa tanin di dalam tubuh akan berikatan dengan protein tubuh dan akan melapisi dinding usus, sehingga penyerapan lemak terhambat. Hal ini menyebabkan pembentukan kolesterol di dalam hati terhambat dan penyerapan kolesterol di usus terhambat, sehingga menyebabkan penurunan kadar kolesterol total dan trigliserida di dalam darah. Tanin juga bersifat mengikat dan meningkatkan pengeluaran asam empedu yang kemudian akan terbuang bersama-sama feces. Pengikatan asam empedu oleh tanin menyebabkan asam empedu keluar dari siklus enterohepatik. Penurunan jumlah asam empedu menyebabkan hepar menggunakan kolesterol dalam darah sebagai bahan untuk membentuk asam empedu baru. Peningkatan asam empedu feces atau kolesterol yang hilang dapat menyebabkan penurunan kolesterol plasma, dan meningkatkan biosintesis turnover kolesterol pada hewan uji.

Hepatosomatic index (HSI) antar perlakuan baik P0, P1, P2, P3, P4 maupun P5 tidak menunjukkan nilai yang berbeda nyata ( $P>0.05$ ). Hal ini diduga pemberian pakan dan bahan uji dengan dosis yang telah diberikan tidak memiliki pengaruh berarti terhadap nilai HSI, menurut penelitian Wahyuningtyas dkk. (2018) nilai HSI yang tidak berbeda nyata antar kelompok perlakuan diduga karena pemberian pakan dan bahan uji yang digunakan dengan dosis yang diberikan tidak cukup memberi pengaruh terhadap nilai HSI dan diduga bahan yang diberikan memiliki daya toksisitas rendah. Hasil penelitian (Tabel 1.), nilai HSI kelompok perlakuan P1 paling tinggi diduga karena adanya konsumsi lemak berlebih dari minyak jelantah yang bertindak sebagai radikal bebas sehingga menyebabkan nilai HSI meningkat akibat penambahan bobot badan dan bobot hepar yang cukup tinggi pada tikus kelompok perlakuan P1. Nunes et al. (2011) menyatakan bahwa nilai HSI dipengaruhi oleh bobot badan dan bobot hepar hewan uji. Nilai HSI perlu diketahui, apabila nilai HSI tidak normal bisa dijadikan salah satu indikasi adanya kerusakan akibat zat toksik.

Nilai HSI dari kelompok perlakuan P2, P3, P4 dan P5 mendekati nilai HSI tikus kelompok perlakuan kontrol (P0) dikarenakan adanya zat yang dapat menetralkan toksisitas dari minyak jelantah

yang tercampur dalam pakan serta lemak tambahan induksi dari kuning telur bebek yang dicekokkan untuk membuat tikus tersebut hiperkolesterol. Lajuck (2012) yang menyatakan bahwa simvastatin merupakan salah satu obat hiperkolesterolemia yang paling umum dikonsumsi. Cara kerja simvastatin adalah menghambat kerja enzim HMG-CoA reduktase yang merupakan prekursor sintesis kolesterol. Hambatan pada langkah pertama di jalur mevalonat pada sintesis kolesterol, meningkatkan afinitas reseptor LDL dan kecepatan katabolisme LDL serta ekstraksi prekursor LDL hati sehingga kadar LDL plasma menurun. Ekstrak etanol daun mimba yang diberikan pada tikus kelompok perlakuan P3, P4, dan P5, menurut Chattopadhyay dan Bandyopadhyay (2005) dalam penelitiannya menunjukkan bahwa ekstrak daun mimba dengan dosis 500 mg/kgBB dapat menurunkan kadar kolesterol serum total, trigliserida, lipid total, VLDL dan kolesterol LDL pada tikus hiperglikemik.

## KESIMPULAN

Paparan ekstrak etanol daun mimba hingga dosis 125 mg/200mgBB selama 44 hari menunjukkan hasil berbeda tidak bermakna terhadap nilai hepatosomatic index (HSI) pada semua kelompok perlakuan, sehingga dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak etanol daun mimba tergolong aman digunakan sebagai obat herbal.

## DAFTAR PUSTAKA

- Aathira, E. P., & Suganthi, A. (2019). Phytochemical analysis and anti-head lice activity of *Azadirachta indica* (A. Juss) and *Aegle marmelos* (Corr.) leaves. *World Journal of Pharmaceutical Research*, 8 (5), 1370-1380.
- Anggraini, D.R. (2008). Gambaran makroskopis dan mikroskopis hati dan ginjal mencit akibat pemberian plumbum aetat. (Thesis). Fakultas Kedokteran Universitas Sumatra Utara. <https://digilib.usu.ac.id/detail.php?ib=86847&i=>
- Arief, I., Riky, N., Indra, T. B., & Muhammad, B. H. (2012). Potensi Bunga Karamunting (*Melastoma malabathricum* L.) terhadap

- Kadar Kolesterol Total dan Trigliserida pada Tikus Putih Jantan yang diinduksi Propiltiourasil. *Prestasi*, 1(2), 118-126
- Awotedu, O., Ogunbamowo, P., Emmanuel, I., & Lawal, I. (2019). Phytominerals and phytochemical studies of *Azadirachta indica* A. Juss, *Leea guineensis*, and *Parkia biglobosa* Leaves. *International Annals of Science*, 6 (1), 28-34. <https://www.researchgate.net/publication/331340038>
- Baratawidjaya, K.G. (2002). *Imunologi Dasar*. Jakarta: Balai Penerbit Fakultas Kedokteran UI.
- Basaranoglu, M., & Ormeci, N. (2014). Nonalcoholic fatty liver disease: diagnosis, pathogenesis, and management. *Turkish Journal Gastroenterol*, 25(25), 127-32. doi:10.5152/tjg.2014.7675.
- Bisht, S., & Sisodia, S.S., (2010). Anti-hyperglycemic and antidyslipidemic potential of *Azadirachta indica* A. Juss leaf extract in STZ-induced diabetes mellitus. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 2 (10), 622-627. <https://www.researchgate.net/publication/279574760>
- Brunetti C., Di Ferdinando M. , Fini A., Pollastri S. & Tattini M. (2013) Flavonoids as antioxidants and developmental regulators: relative significance in plants and humans. *International Journal of Molecular Sciences*, 14(2), 3540-3555
- Chattopadhyay, R. R., & Bandyopadhyay, M. (2005). Effect of *Azadirachta indica* leaf extract on serum lipid profile changes in normal and streptozotocin induced diabetic rats. *African Journal of Biomedical Research*, 8, 101-104. <https://www.researchgate.net/publication/272458624>
- Colville, T., and Bassert, J.M. (2008). *Clinical anatomy and physiology for veterinary technicians*. 2nd edition. Mosby Elsevier. United Kingdom.
- Cox, C., (2004). Pesticide factsheet, boric acid and borates, *Journal of Pesticide Reform*, 24(2), 10-15.
- Dewi, M. Lantika, K., U., & Ahmad, S. (2014). Efek ekstrak air daun Sirsak (*Annona muricata* L.) terhadap distribusi lemak tubuh pada tikus jantan galur wistar model obesitas. *Prosiding Seminar Nasional Penelitian Sains, Teknologi dan Kesehatan*, 4(1), 81-88.
- [http://proceeding.unisba.ac.id/index.php/sains\\_teknologi/article/view/544](http://proceeding.unisba.ac.id/index.php/sains_teknologi/article/view/544)
- Dewi, U.K., & Saraswati, T.R. (2009). Efek rebusan daun tapak dara pada dosis dan frekuensi yang berbeda terhadap kerusakan dan akumulasi glikogen pada hepar mencit (*Mus musculus*). *Jurnal Bioma*, 1(11), 1-5.
- Dowman, J. K., Tomlinson, J. W., & Newsome, P. N., (2011). Systematic review: the diagnosis and staging of non-alcoholic fatty liver disease and non-alcoholic steatohepatitis. *Aliment Pharmacol Ther.*, 33(5), 525-40. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3080668/>
- Dwipayanti, P. I., & Sutomo. (2019). pengaruh pemberian intervensi reimplanting pada perubahan kadar kolesterol. *Jurnal Keperawatan*, 12 (1), 1-15. <https://ejournal.lppmdianhusada.ac.id/index.php/jk/article/view/4/1>
- Hariaji, I. (2019). Khasiat jus buah pepaya terhadap kadar kolesterol total dan malondialdehid pada tikus hiperkolesterolemia. *Buletin Farmatera*, 4 (1), 29-41. [http://jurnal.umsu.ac.id/index.php/buletin\\_farmatera/article/view/2101](http://jurnal.umsu.ac.id/index.php/buletin_farmatera/article/view/2101)
- Hartono, E. & Prabowo, S. (2019). The Hepaprotector Effect Of Neem Leaf Extract Using Sgpt Activity Test On Male Wistar Rats Induced With High Dose Paracetamol. *Nusantara Medical Science Journal*, 4(2), 1-6.
- Hasana, A.N., Sitaswi, A.J., & Isdadiyanto, S. (2019). Hepatosomatik indeks dan diameter hepatosit mencit (*Mus musculus* L.) betina setelah paparan ekstrak etanol daun mimba (*Azadirachta indica* Juss.). *Jurnal Pro-Life*, 6(1), 1-12. DOI: <https://doi.org/10.33541/jpvol6Iss2pp102>
- Iredale, J. P. (2007). Models of liver fibrosis: exploring the dynamic nature of inflammation and repair in a solid organ. *J Clin Invest*, 117(3), 539-48. doi: 10.1172/JCI30542
- Isdadiyanto, S. (2009). Mikroanatomi Hepar Mencit (*Mus musculus*) Setelah pemberian kitin per-oral. *Jurnal Sains & Matematika*, 17(2), 97-99. <https://www.neliti.com/publications/128553/>
- Isdadiyanto, S., Sitaswi, A. J., & Mardiyati, S. M. (2020). The lipid profile of rats (*Rattus norvegicus* L.) induced by high fat ration after exposed to ethanolic neem (*Azadirachta indica*) Leaf Extract. *Journal of Physics : Conference Science*. 1524.



- <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/1742-6596/1524/1/012126/pdf>
- Johnson, A. M & Olefsky, J. M. (2013). The origins and drivers of insulin resistance. *Cell*, 152(4), 673-84
- Keta J. N., Suberu, H. A., Shehu, K., Yahayya, U., Mohammad, N. K., & Gudu, G. B. (2019). Effect of neem (*Azadirachta indica* A. Juss) leaf extract on the growth of aspergillus species isolated from foliar diseases of rice (*Oryza sativa*). *Science World Journal*, 14 (1), 98-102.
- Kusuma, A. B., Saraswati, T. R., & Sitaswi, A. J. (2019). Efek pemberian daun mimba (*Azadirachta indica*) terhadap diameter hepatitis tikus (*Rattus norvegicus*). *Bioma*, 21 (2), 106-113. <https://ejournal.undip.ac.id/index.php/bioma/article/view/27453>
- Lajuck, P. (2012). Ekstrak daun salam (*eugenia poliantha*) lebih efektif menurunkan kadar kolesterol total dan ldl dibandingkan statin pada penderita dislipidemia. Tesis. Universitas Udayana, Denpasar.
- Milanski M., Degasperi, G., Coope, A., Morari, J., Denis, R., Cintra, D.E., Tsukumo, D.M.L. (2009). Saturated fatty acids produce an inflammatory response predominantly through the activation of tlr4 signaling in hypothalamus: implications for the pathogenesis of obesity. *J. Neurosci*, 29, 359-70. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19144836/>
- Muhartono, P. M. A. Y., Putri, N. T., Sari, T. N., & Oktafany (2018). Minyak jelantah menyebabkan kerusakan pada arteri koronaria, miokardium, dan hepar tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur sprague dawley. *Jurnal Kedokteran Universitas Lampung*, 2(2), 129-135. <http://juke.kedokteran.unila.ac.id/index.php/JK/article/view/1949>
- Nunes, C., Silva, A., Soares, E., and Ganas K. 2011. The use of hepatic and Somatic indices and histological information to characterize the reproductive dynamics of atlantic *Sardina pilchardus* from the Portuguese Coast. *Marine and Coastal Fisheries: Dynamics, Management, and Ecosystem Science*, 3, 127-144. <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/19425120.2011.556911>
- Pandey, G., Verma, K. K., & Singh, M. (2014). Evaluation of phytochemical, antibacterial and free radical scavenging properties of *Azadirachta indica* (neem) leaves. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Science*, 6(2), 444-447. <https://www.researchgate.net/publication/286690118>
- Pankaj, S., Lokeswar, T., Mukesh, B., and Vishnu B. (2011). Review on neem (*Azadirachta indica*): A thousand problem one solution. *International Research Journal of Pharmacy*, 2(12), 97-102. <https://www.researchgate.net/publication/28971662>
- Rahmani, A. H., Almatroni, A., Alrumaihi, F., & Khan, A. A. 2018. Pharmacological and therapeutic potential of neem (*Azadirachta indica*). *Pharmacognosy Review*, 12 (24), 250-255.
- Rao, P. S., Subramanayam, G., & Sridhar, P. R. (2019). Quercetin 3-galactoside from *Azadirachta indica*. *Journal of Advances in Molecular Biology*, 3 (1), 1-8. <https://www.researchgate.net/publication/331464878>
- Rukmini, A. (2007). Komparasi efektivitas adsorben komersial dan non komersial dalam proses regenerasi minyak jelantah. Prosiding Seminar Nasional Teknologi Pangan. Semarang, 455-459.
- Rusdi, M., Mukhriani & Paramitha, A. T. (2018). Uji penurunan kolesterol pada mencit (*Mus Musculus*) secara in-vivo menggunakan ekstrak etanol akar parang romang (*Boehmeria Virgata* (Forst.) Guill). *Jurnal Farmasi UIN Alauddin Makassar*, 6 (1). <https://studylibid.com/doc/856721/84-jf-fik-uinam-vol.5-no.2-2017->
- Sahrawat, A., Sharma, J., Rahul, S. N., Tiwari, S., Joshi, M. D., Pundhir, A., Kumar, R., Akansha., Radhika., Bhavya., Shivani., Sharib., Nilesh., Govind., & Akash. (2018). Phytochemical analysis and antibacterial properties of *Azadirachta indica* (neem) leaves extract against *E.coli*. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 7 (4), 1368-1371.
- Sastri, S. (2010). Perbedaan pengaruh diet tinggi minyak sawit segar dengan minyak jelantah terhadap lemak dan tnf- $\alpha$  darah tikus. *Majalah Kedokteran Andalas*, 1(34). <http://jurnalmka.fk.unand.ac.id/index.php/art/article/view/70>
- Sherwood, L. (2011). *Human physiology: from cells to systems*. 7th Ed. Canada: Yolanda Cossio

- Sukarsa. (2004). Studi aktivitas asam lemak omega-3 ikan laut pada mencit sebagai model hewan percobaan. Buletin Teknologi Hasil Perikanan, 7(1).<https://repository.ipb.ac.id/handle/123456789/29542>
- Susantoputro, S.H. (2011). Potensi supplement potasium klorida dan sodium bikarbonat sebagai thermoregulator agent pada hepar broiler yang terpapar heat stress kronis. Undergraduate thesis. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga.
- Schwimmer, J. B., Deutsch, R., Kahen, T., Lavine, J. E., Stanley, C. & Behling, C. (2006). Prevalence of fatty liver in children and adolescents. Pediatrics, 118(13), 88-93.
- Wahyudi A. (2009). Metabolisme kolesterol hati: khasiat ramuan jati belanda (*G. ulmifolia*) dalam mengatur konsentrasi kolesterol selular. Tesis. [Diakses 23 Agustus 2020]. Diunduh dari <http://repository.ipb.ac.id/jspui/pdf>.
- Wahyuningtyas, P., Sitaswi, A. J., & Mardiaty, S. M. (2018). Hepatosomatic index (hsi) dan diameter hepatosit mencit (*Mus Musculus L.*) setelah paparan ekstrak air biji pepaya (*Carica Papaya L.*). Jurnal Biologi, 7 (1), 8-17. <https://ejournal3.undip.ac.id/index.php/biologi/article/view/19618>
- Widyaningsih, W & Yuliani, S. 2010. Gambaran histopatologik hepar pada tikus sprague dawley yang diberi perasan wortel (*Daucus carota L.*) dan diet lemak tinggi. Prosiding Seminar Nasional. Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan. Yogyakarta.
- Wikanta, T., Nasution, R. R., & Rahayu, L. (2003). Pengaruh pemberian alginat terhadap penurunan kadar kolesterol darah dan bobot badan tikus. Jurnal penelitian Perikanan Indonesia, 9(5). <http://ejournal-balitbang.kkp.go.id/index.php/jppi/article/view/4658>
- Xu, M. J., Reticker-Flynn, N. E., Malta, D. F., Winslow, M. M., Lamar, J.M., Underhill, G.H., Hynes, R.O., Jacks, T.E. & Bhatia, S.N. (2012). A combinatorial extracellular matrix platform identifies cell-extracellular matrix interactions that correlate with metastasis. Nat Commun, 3, 1122.
- Yuniarti, L., Dewi, M. K., Lantika, U. A., & Bhatara, T. (2016). Potensi ekstrak daun sirsak sebagai penurunan kolesterol dan pengendali bobot badan. Acta Veterinaria Indonesiana, 4 (2), 82-87. DOI: <https://doi.org/10.29244/avi.4.2.82-87>