

EFEK HEPATOPROTEKTOR EKSTRAK RAMBUT JAGUNG (*Zea mays* L.): GAMBARAN HISTOPATOLOGI HATI TIKUS TERHADAP INDUKSI KARBON TETRAKLORIDA (CCl₄)

Arba Pramundita Ramadani^{1*}, Jasno², Hady Anshory Tamhid³

^{1,2,3}Jurusan Farmasi, FMIPA, Universitas Islam Indonesia

Email: *arba.pramundita@uii.ac.id

ABSTRAK

Meningkatnya penggunaan tanaman sebagai bahan obat di masyarakat mendorong eksplorasi berbagai jenis tumbuhan berkhasiat obat. Rambut jagung yang secara empiris memiliki efek pengurang nyeri, terbukti memiliki aktivitas antioksidan karena kandungan fenoliknya. Pada penelitian terpisah, fenolik terbukti memberikan efek hepatoprotektor. Sehingga penelitian ini bertujuan untuk melihat aktivitas hepatoprotektor rambut jagung berdasar parameter gambaran histopatologis hepar. Menggunakan model induksi kerusakan hepar oleh CCL₄, sejumlah tikus jantan galur Wistar dibagi menjadi 6 kelompok (normal, negatif, positif, variasi dosis rambut jagung 50, 100, 150 mg/kgBB). Selain kelompok normal, seluruh hewan uji diinduksi 100 mg/kgBB CCl₄ pada hari ke-1. Untuk mengetahui kerusakan hati secara biokimiawi, kasar ALT darah ditetapkan pada hari ke-0, 2, dan 8. Preparat histopatologi hati dibuat pada hari ke-8 setelah hewan uji diterminasi. Hasil uji menunjukkan bahwa ekstrak rambut jagung dosis 150 mg/kg BB menurunkan kadar ALT kembali normal di akhir uji dan berdasar gambaran histopatologis hepar tidak adanya kerusan yang irreversible. Dapat disimpulkan bahwa ekstrak rambut jagung memiliki efek hepatoprotektor.

Kata kunci: hepatoprotektor, CCl₄, rambut jagung, histopatologis

ABSTRACT

The increasing use of plants as drug source in the community encourages the exploration of various types of medicinal plants. Corn silk, which empirically has a pain-reducing effect, has been shown to have antioxidant activity due to its phenolic content. In a separate study, phenolic were shown to provide hepatoprotection effects. So, this study aims to evaluate the hepatoprotective activity of corn silk based on the parameters of liver histopathological features. Using the CCL₄ liver damage model, several male Wistar strain mice were divided into 6 groups (normal, negative, positive, variations in corn silk dose of 50,100, 150 mg/kgBW). In addition to the normal group, all test animals induced by 100 mg/kgBB of CCl₄ on day 1. To determine the liver condition, blood ALT was evaluated on days 0, 2, and 8. The preparation of liver histopathology was made on the 8th day after the test animal was terminated. The results showed that corn silk extract of 150 mg / kg BW lowered ALT levels back to normal at the end of the study and based on liver histopathological images there were no irreversible damages. It can be concluded that corn silk extract possessed hepatoprotective effects on male Wistar rats.

Keywords: hepatoprotective, CCl₄, corn silk, histopathological

PENDAHULUAN

Kerusakan pada hepar tercatat menjadi salah satu penyebab kematian tertinggi di Asia Pasifik yang dapat disebabkan oleh alkohol maupun faktor lain (Sarin *et al.*, 2020). Berdasar data di WHO, konsumsi alkohol di Indonesia setiap tahunnya terus meningkat seiring bertambahnya angka kejadian penyakit hepar yang diinduksi oleh alkohol (WHO, 2018). Lebih lanjut, sebuah studi dengan subjek uji Wanita di Yogyakarta melaporkan bahwa selain alkohol, obesitas juga turut menjadi penyebab penurunan fungsi hepar karena penumpukan lemak di hati (Handayani *et al.*, 2017). Faktor penyebab tersebut dapat membuat hepar mengalami degenerasi yang di fase awal ditandai dengan pembengkakan hepatosit. Semakin parah kerusakan hepar, maka degenerasi yang terjadi menjadi *irreversible* (Hammer & McPhee, 2014).

Kepercayaan di masyarakat terkait efek obat herbal yang dianggap lebih aman dan terjangkau (Cragg *et al.*, 1997), menyebabkan banyaknya pengobatan yang menggunakan bahan herbal termasuk untuk gangguan hati. Rambut jagung (*Zea mays* L.) adalah bagian dari tanaman jagung yang memiliki berbagai khasiat pengobatan diantaranya untuk mengurangi rasa sakit dengan cara merebus sejumlah rambut jagung. Penelitian terkait efek farmakologis rambut jagung juga telah dilakukan oleh beberapa peneliti yang membuktikan adanya efek mengurangi fatigue, aktivitas imunostimulan, antimikroba dan antioksidan (Lee *et al.*, 2014; Morshed & Islam, 2015; Zhao *et al.*, 2017; Zilic *et al.*, 2016). Komponen zat aktif dalam rambut jagung berupa senyawa fenolik seperti flavonoid dilaporkan memiliki efek hepatoprotektif pada model uji menggunakan induksi MDMA (Karami *et al.*, 2013). Untuk melihat efek hepatoprotektif, alanin aminotransferase (ALT) merupakan enzim yang banyak terdapat di hati dan dapat digunakan sebagai parameter fungsi hati (Lala *et al.*, 2021). Selain itu, untuk melihat gambaran kerusakan hepar hingga ke tingkat seluler, pemeriksaan histopatologis hati menjadi salah satu metode yang bisa dilakukan. Oleh karenanya, pada penelitian ini ditujukan untuk mengetahui efek hepatoprotektif ekstrak rambut jagung terhadap kadar ALT dan gambaran histopatologis hati menggunakan model induksi CCl₄.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Pada penelitian ini alat yang digunakan berupa alat-alat gelas, *rotary evaporator* (Heidolph), sonde oral, alat bedah, object glass, *cover slip*, dan mikroskop (Olympus). Adapun bahan yang

digunakan meliputi rambut jagung, akuades (PT. Brataco), CCl_4 (Sigma), minyak zaitun, formalin 10% (PT. Brataco), Etanol (teknis, PT. Brataco), HCL, H_2SO_4 , dan FeCl_3 1%.

Hewan Uji

Studi ini menggunakan hewan uji berupa tikus jantan galur Wistar sejumlah 36 ekor yang terbagi menjadi beberapa kelompok perlakuan. Kriteria inklusi yang ditetapkan yaitu tikus berjenis kelamin jantan, usia 2-3 bulan, berat badan 150-200 gram, dalam kondisi sehat dan tidak mengalami kerusakan hepar secara makroskopis saat pembedahan. Adapun kriteria eksklusinya adalah hewan yang sakit atau mati saat penelitian berlangsung dan terdapat abnormalitas secara makroskopik pada hepar saat dilakukan pembedahan di akhir penelitian.

Cara Penelitian

Koleksi tanaman dan pembuatan ekstrak

Rambut jagung diperoleh dari daerah Kalasan, Sleman, Yogyakarta yang dipanen di pagi hari pada usia tumbuhan 40-50 hari. Bagian yang dikoleksi adalah rambut jagung yang masih terbungkus kulit jagung. Selanjutnya, rambut jagung dicuci bersih, dikeringkan (di *cabinet dryer*, 30-60°C selama 18 jam), diserbuk dan diekstraksi menggunakan metode infundasi. Sebanyak 200 g serbuk rambut jagung dipanaskan dalam 2400 ml akuades selama 15 menit (dihitung setelah suhu mencapai 90°C). Hasil pemanasan selanjutnya disaring menggunakan kain *flannel* dan ditambahkan akuades secukupnya hingga didapat filtrat sejumlah 2000 ml. Filtrat lalu dikeringkan dengan *rotary evaporator* hingga didapatkan ekstrak kental dan ditentukan % rendemennya serta kadar airnya.

Identifikasi senyawa aktif

Karakterisasi senyawa aktif yang terkandung dalam rambut jagung dilakukan dengan metode uji tabung secara kualitatif. Identifikasi positif fenolat (tannin) menggunakan FeCl_3 1% menghasilkan warna hijau kehitaman, flavonoid dengan HCL pekat menghasilkan warna merah, kuning atau jingga, saponin menghasilkan buih dengan penggojokan, dan sterol serta steroid menggunakan uji Salkowski menghasilkan warna merah pada lapisan bawah saat ditambah H_2SO_4 pekat.

Uji hepatoprotektor dengan induksi CCl_4

Seluruh tahapan penelitian ini yang melibatkan hewan uji telah mendapatkan ijin kelayakan etik dari Komite Etik Fakultas Kedokteran, UII, Yogyakarta. Sebelum dilakukan uji, tikus diaklimatisasi selama 7 hari. Secara acak, tikus dibagi menjadi 6 kelompok yaitu: kontrol normal

(makan dan minum ad libitum), kontrol negatif (akuades, p.o), kontrol positif (kurkumin 100 mg/kgBB, p.o), 3 kelompok perlakuan ekstrak rambut jagung (dosis 50, 100, 150 mg/kgBB, p.o). Pada H0 sebelum pengujian, seluruh hewan uji diambil darah nya untuk penetapan kadar ALT (Alanin aminotransferase) untuk mengetahui kondisi *baseline* fungsi hati tikus. Selain kelompok normal, tikus diinduksi dengan 1ml/kgBB CCL₄ secara intraperitoneal di hari ke-1 pengujian. Selanjutnya, tikus diberikan perlakuan sesuai pembagian kelompoknya dan pada hari ke-2 dan ke-8 dilakukan pengambilan darah lagi untuk penetapan kadar ALT. Pada hari ke-8, 4 jam setelah pengambilan darah untuk penentuan ALT, seluruh hewan uji diterminasi, dibedah dan diisolasi organ heparnya untuk pembuatan preparat histopatologis.

Pembuatan preparat histopatologis organ hepar

Organ hati yang telah diambil, dicuci dengan larutan fisiologis NaCl dan difiksasi menggunakan buffer formalin 10%. Langkah selanjutnya, dilakukan dehidrasi organ menggunakan alkohol dengan konsentrasi bertahap mulai dari 70 hingga 95%, masing-masing selama 24 jam dan dilanjutkan dengan alkohol 100% selama 1 jam, diulang sebanyak 3x. Penjernihan organ hati dilakukan dengan menggunakan xilol sebanyak 3x selama 1 jam yang diikuti dengan tahapan infiltrasi paraffin. Jaringan yang diproses selanjutnya ditanam di media paraffin untuk dilakukan pemotongan dengan ketebalan 4-5 mikron. Hasil potongan selanjutnya diletakkan pada *object glass* untuk diwarnai dengan cat hematoksilin-eosin (HE). Preparat yang telah selesai dicat dapat diamati dengan mikroskop.

Analisis hasil

Hasil yang didapatkan pada penelitian ini berupa kadar ALT yang dibandingkan antara hari ke-0, 2, dan 8 untuk melihat perbedaan sebelum dan sesudah perlakuan. Gambaran histopatologis didapat dengan pengamatan secara kualitatif adanya abnormalitas pada hepar dan pemberian skoring kerusakan hepar (SKH) berdasar kategori penilaian Manja Roenigk.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini ditujukan untuk mengetahui efek perbaikan kondisi hepar dengan pemberian ekstrak rambut jagung pada tikus jantan galur Wistar. Dari 200 g serbuk rambut jagung didapatkan ekstrak kental dengan randemen sebesar 27% dan pengujian kadar air sebesar 10,95%. Dengan nilai tersebut, ekstrak telah memenuhi ketentuan kadar air yang terkandung dalam ekstrak kental yaitu antar 5 hingga 10% (Depkes, 2000; Saifuddin & Rahayu, 2011). Ekstrak yang dihasilkan

berwarna hitam kehijauan dengan aroma yang harum dan manis. Adapun hasil identifikasi kandungan senyawa pada ekstrak rambut jagung dipaparkan pada tabel 1.

Tabel 1. Identifikasi kandungan senyawa ekstrak rambut jagung

Ekstrak	Flavonoid	Polifenol	Saponin	Steroid
Rambut jagung	+	+	+	+

Hasil uji pada tabel 1 menunjukkan bahwa studi ini sejalan dengan penelitian sebelumnya yang melaporkan hasil kandungan senyawa aktif yang sama (Chang *et al.*, 2016; Ebrahimzadeh *et al.*, 2014; Hasanudin *et al.*, 2012; Tian *et al.*, 2013; Zhang *et al.*, 2016). Studi yang pernah dilakukan memaparkan kandungan antioksidan pada rambut jagung berkorelasi dengan aktivitas peredaman radikal bebas dan penghambatan peroksidase lipid (Rahman & Rosli, 2014). Hasil penelitian lebih lanjut juga menunjukkan bahwa senyawa flavonoid yang terdapat dalam rambut jagung memberikan aktifitas hepatoprotektif dikarenakan memiliki aktivitas antioksidan yang kuat (Sarepoua *et al.*, 2015). Senyawa yang lain, polifenol, saponin dan steroid juga terbukti memiliki aktivitas antioksidan (Hasanudin *et al.*, 2012; Rahman & Rosli, 2014; Tian *et al.*, 2013) yang diduga berkaitan dengan efek hepatoprotektif.

Sebelum melihat gambaran histopatologis organ hati, parameter ALT digunakan untuk melihat fungsi hati secara biokimiawi. Alanin aminotransferase (ALT) adalah enzim yang ada di hepar yang berfungsi mengkatalisis perpindahan gugus amino, banyak terdapat di hepatosit dan relatif rendah di jaringan lain sehingga dapat digunakan sebagai parameter fungsi hati. Kadar normal ALT di dalam darah adalah 5-35 IU/liter dan kadar yang tinggi menunjukkan adanya gangguan fungsi pada hati. Pada penelitian ini, kadar ALT ditetapkan pada hari ke-0, 2, dan 8 seperti yang terlihat di tabel 2.

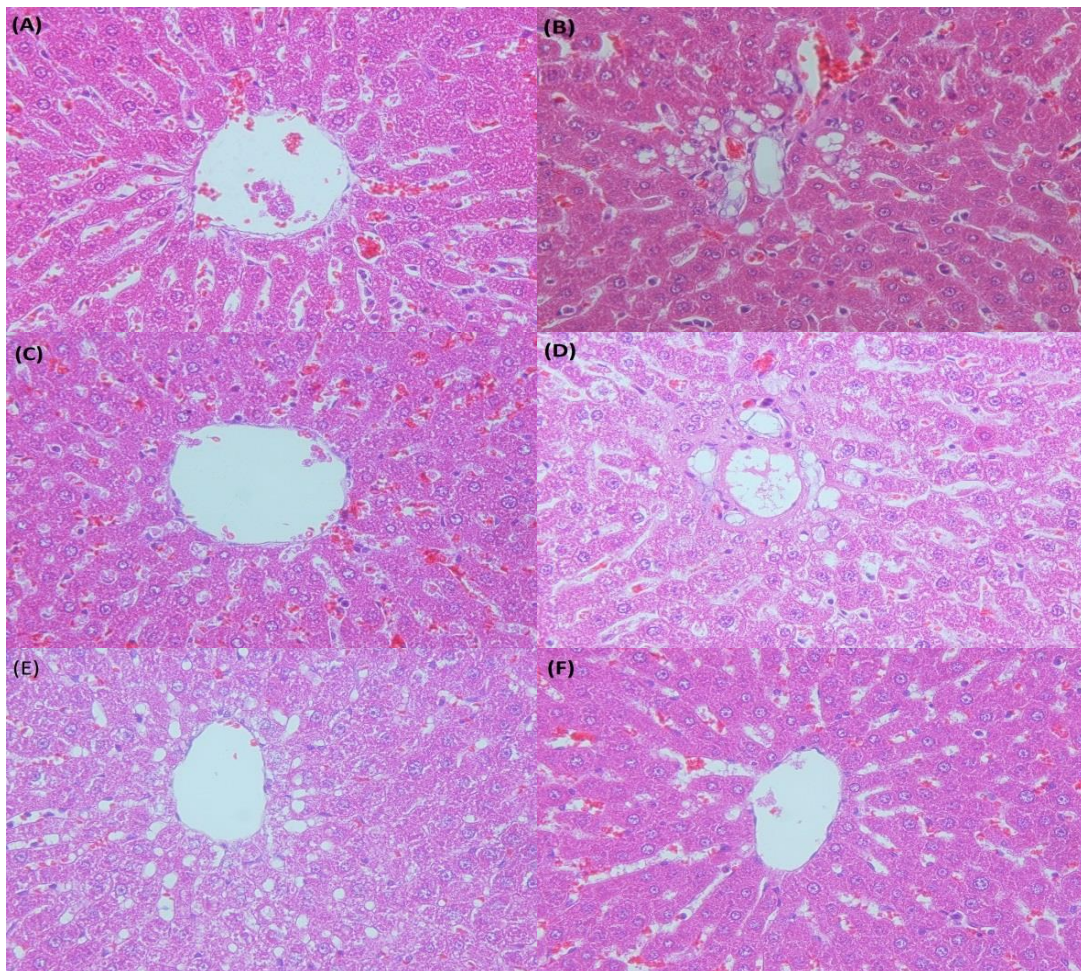
Tabel 2. Rerata kadar ALT sebelum dan setelah pemberian ekstrak rambut jagung

Kelompok	Kadar ALT		
	(X±SD)		
	Hari ke-0 (X±SD)	Hari ke-2 (X±SD)	Hari ke-8 (X±SD)
Kontrol Normal	41,97±10,88	31,63±12,64	33,50±8,73
Kontrol Negatif	33,26±9,76	62,66±62,14	45,17±9,18
Kontrol Positif	33,65±10,01	80,31±45,72	29,42±8,21

Rambut Jagung dosis 50 mg/kgBB	34,93±3,88	31,89±17,22	37,46±18,90
Rambut Jagung dosis 100 mg/kgBB	40,68±17,08	70,04±59,62	37,43±15,37
Rambut Jagung dosis 200 mg/kgBB	29,85±9,76	63,64±26,05	28,63±5,05

Penentuan ALT pada hari ke-0 sebagai *baseline*, hari ke-2 sebagai gambaran ALT setelah diinduksi CCl₄ dan hari ke-8 untuk melihat efek dari masing-masing perlakuan. Rerata kadar ALT pada hari ke-2 selain kelompok kontrol normal menunjukkan peningkatan yang signifikan dibandingkan hari ke-0 ($p < 0,05$) dan masuk kategori ALT tinggi diatas batas normal. Hal ini menunjukkan bahwa induksi CCl₄ berhasil merusak hepar dan meningkatkan salah satu enzim hati sebagai parameter yang sensitif menggambarkan fungsi hati. Terkait kadar ALT hari ke-8, didapatkan bahwa terjadi penurunan kadar ALT kecuali kelompok control negatif. Namun demikian, untuk ekstrak rambut jagung dosis 200 mg/kgBB yang memberikan penurunan hingga ke batas normal ALT menyerupai kontrol positif kurkumin. Hal ini menunjukkan bahwa adanya perbaikan fungsi hati dengan adanya pemberian ekstrak rambut jagung.

Untuk melihat lebih detail terkait gambaran kerusakan hepar akibat induksi CCl₄ dan perbaikannya setelah pemberian ekstrak rambut jagung, gambaran histopatologis di hari ke-8, dipaparkan pada gambar 1.



Gambar 1. Gambaran histopatologis hepar terhadap pemberian ekstrak rambut jagung di hari ke-8
 Keterangan: (A) kontrol normal (akuades); (B) kontrol negatif (CCl₄); kontrol positif (CCL₄+kurkumn 100 mg/kgBB); (D) CCl₄+ekstrak rambut jagung dosis 50 mg/kgBB; (E) CCl₄+ekstrak rambut jagung dosis 100 mg/kgBB; (F) CCl₄+ekstrak rambut jagung dosis 150 mg/kgBB.

Gambar 1 menunjukkan adanya perbedaan gambaran histopatologis antar kelompok. Pada gambar 1B terlihat adanya kerusakan cukup parah karena induksi CCL₄ yang menyebabkan degenerasi melebak sentralobular hingga adanya nekrosis. Perlemakan terlihat dengan adanya droplet lipid pada sitoplasma dan nekrosis ditandai dengan adanya perubahan mikroanatomi seperti terjadinya piknotik (inti sel memadat), karioreksis (hancur bersegmen-segmen), dan menjadi esinofilik. Karbon tetraklorida (CCl₄) diketahui memiliki aksi sebagai radikal bebas saat berada di reticulum endoplasma (RE) di hati dalam bentuk CCl₃ yang selanjutnya akan berikatan dengan

oksigen membentuk radikal bebas triklorometil-peroxi (CCl_3O_2). Rusaknya RE di hati akan menyebabkan gangguan pada metabolisme lipid di hepatosit sehingga terjadi perlemakan sel hati atau steatosis. Pada kontrol positif, perubahan anatomi berupa degenerasi melembak sentralobular yang ireversibel dan terlihat adanya perbaikan pada organ hati. Pada kelompok perlakuan yang mendapatkan ekstrak rambut jagung, perubahan anatomi juga sebatas pada degenerasi melembak, namun prosentase perbaikan yang membedakan pada tiap dosisnya. Serupa dengan hasil kadar ALT, kelompok yang mendapatkan ekstrak rambut jagung dengan dosis 150 mg/kgBB memberikan gambaran perbaikan hati yang lebih baik dibanding dosis yang lain. Meskipun demikian hasil skoring pada tiap dosis ekstrak rambut jagung memberikan hal yang serupa seperti pada tabel 2 dibawah.

Tabel 2. Rerata skoring histopatologis hati

Kelompok	Skor
Kontrol normal	0
Kontrol negatif	3
Kontrol positif	1
Ekstrak rambut jagung 50 mg/kgBB	1
Ekstrak rambut jagung 100 mg/kgBB	1
Ekstrak rambut jagung 150 mg/kgBB	1

Efek hepatoprotektor dari pemberian rambut jagung dipengaruhi oleh kandungan senyawa aktif didalamnya. Selain mencegah kerusakan hepar, rambut jagung juga mampu menstimulus perbaikan fungsi hepar dilihat dari kadar ALT maupun gambaran histopatologisnya.

KESIMPULAN

Ekstrak rambut jagung memiliki efek hepatoprotektor berdasar parameter ALT dan gambaran histopatologis hepar pada tikus jantan galur Wistar yang diinduksi CCl_4 .

DAFTAR PUSTAKA

Chang, C. C., Yuan, W., Roan, H. Y., Chang, J. L., Huang, H. C., Lee, Y. C., Tsay, H. J., & Liu, H. K. (2016). The ethyl acetate fraction of corn silk exhibits dual antioxidant and anti-

- glycation activities and protects insulin-secreting cells from glucotoxicity. *BMC Complement Altern Med*, 16(1), 432. doi:10.1186/s12906-016-1382-8
- Cragg, G. M., Newman, D. J., & Snader, K. M. (1997). Natural products in drug discovery and development. *J Nat Prod*, 60(1), 52-60. doi:10.1021/np9604893
- Depkes. (2000). *Parameter standarisasi umum ekstrak tumbuhan obat*. Jakarta: Depkes RI.
- Ebrahimzadeh, M. A., Enayatifard, R., Khalili, M., Ghaffarloo, M., Saeedi, M., & Yazdani Charati, J. (2014). Correlation between Sun Protection Factor and Antioxidant Activity, Phenol and Flavonoid Contents of some Medicinal Plants. *Iran J Pharm Res*, 13(3), 1041-1047.
- Hammer, G. D., & McPhee, S. J. (2014). *Pathophysiology of disease: an introduction to clinical medicine* (7 ed.). USA: McGraw Hill.
- Handayani, R., Purnamaningsih, S. M., & Sukorini, U. (2017). Prevalence ratio of free fatty acid in obese group with non-alcoholic fatty liver disease. 2017, 51(2), 7. doi:10.19106/JMedSci005102201906
- Hasanudin, K., Hashim, P., & Mustafa, S. (2012). Corn silk (*Stigma maydis*) in healthcare: a phytochemical and pharmacological review. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 17(8), 9697-9715. doi:10.3390/molecules17089697
- Karami, M., Saeidnia, S., & Nosrati, A. (2013). Study of the Hepatoprotective Activity of Methanolic Extract of Feijoa sellowiana Fruits Against MDMA using the Isolated Rat Liver Perfusion System. *Iran J Pharm Res*, 12(1), 85-91.
- Lala, V., Goyal, A., Bansal, P., & Minter, D. A. (2021). Liver function test. In StatPearls. Treasure Island: StatPearls. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK482489/>.
- Lee, J., Kim, S. L., Lee, S., Chung, M. J., & Park, Y. I. (2014). Immunostimulating activity of maysin isolated from corn silk in murine RAW 264.7 macrophages. *BMB Rep*, 47(7), 382-387.
- Morshed, S., & Islam, S. M. S. (2015). Antimicrobial activity and phytochemical properties of corn (*Zea mays* L.) silk. *SKUAST J of Res*, 17(1).
- Rahman, N. A., & Rosli, W. I. W. (2014). Nutritional compositions and antioxidative capacity of the silk obtained from immature and mature corn. *Journal of King Saud University*, 26(2).
- Saifuddin, A., & Rahayu, V. T. H. (2011). *Standarisasi bahan obat alam*. Yogyakarta: Graha Ilmu.

- Sarepoua, E., Tangwongchai, R., Suriharn, B., & Lertrat, K. (2015). Influence of variety and harvest maturity on phytochemical content in corn silk. *Food Chem*, 169, 424-429. doi:10.1016/j.foodchem.2014.07.136
- Sarin, S. K., Kumar, M., Eslam, M., George, J., Al Mahtab, M., Akbar, S. M. F., Jia, J., Tian, Q., Aggarwal, R., Muljono, D. H., Omata, M., Ooka, Y., Han, K.-H., Lee, H. W., Jafri, W., Butt, A. S., Chong, C. H., Lim, S. G., Pwu, R.-F., & Chen, D.-S. (2020). Liver diseases in the Asia-Pacific region: a Lancet Gastroenterology & Hepatology Commission. *The lancet. Gastroenterology & hepatology*, 5(2), 167-228. doi:10.1016/S2468-1253(19)30342-5
- Tian, J., Chen, H., Chen, S., Xing, L., Wang, Y., & Wang, J. (2013). Comparative studies on the constituents, antioxidant and anticancer activities of extracts from different varieties of corn silk. *Food Funct*, 4(10), 1526-1534. doi:10.1039/c3fo60171d
- WHO. (2018). *Alcohol consumption: levels and patterns*. Retrieved from Geneva:
- Zhang, Z. H., Chen, C., Wu, Q. Y., Zheng, R., Liu, Q., Ni, J. Z., Hoffmann, P. R., & Song, G. L. (2016). Selenomethionine reduces the deposition of beta-amyloid plaques by modulating beta-secretase and enhancing selenoenzymatic activity in a mouse model of Alzheimer's disease. *Metallomics*, 8(8), 782-789. doi:10.1039/c6mt00117c
- Zhao, H. P., Zhang, Y., Liu, Z., Chen, J. Y., Zhang, S. Y., Yang, X. D., & Zhou, H. L. (2017). Acute toxicity and anti-fatigue activity of polysaccharide-rich extract from corn silk. *Biomed Pharmacother*, 90, 686-693. doi:10.1016/j.biopha.2017.04.045
- Zilic, S., Jankovic, M., Basic, Z., Vancetovic, J., & Maksimovic, V. (2016). Antioxidant activity, phenolic profile, chlorophyll and mineral matter content of corn silk (*Zea mays* L.): Comparison with medicinal herbs. *J Cereal Sci*, 69.