

## **PENGARUH PEMBERIAN BUTYLATED HYDROXYTOLUENE (2,6-DI-TERT-BUTYL-4-METHYLPHENOL) PER ORAL DOSIS BERTINGKAT TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGIS HEPAR TIKUS WISTAR**

Windi Novita Sari<sup>1</sup>, Saebani<sup>2</sup>, Tuntas Dhanardhono<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Mahasiswa Program S-1 Ilmu Kedokteran, Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro

<sup>2</sup> Staf Pengajar Ilmu Forensik, Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro  
JL. Prof. H. Soedarto, SH., Tembalang-Semarang 50275, Telp. 02476928010

### **ABSTRAK**

**Latar Belakang:** *Butylated Hydroxytoluene (2,6-Di-tert-butyl-4-methylphenol/BHT)* adalah antioksidan umum dan aman dalam makanan, obat-obatan, dll. BHT memiliki potensi sebagai salah satu alternatif antioksidan. Penggunaan BHT yang berlebihan dapat menyebabkan keracunan hepar. Hepar memiliki fungsi dan peran kompleks dan dapat rusak oleh senyawa kimia hepatotoksik. Konsumsi jangka panjang antioksidan BHT menjadi salah satu penyebab kerusakan hati manusia.

**Tujuan:** mengetahui pengaruh pemberian *Butylated Hydroxytoluene* per oral terhadap gambaran histopatologi hepar tikus *Wistar*.

**Metode:** Penelitian ini merupakan *post test only control group design* yang menggunakan tikus *Wistar* jantan, dibagi 1 kelompok kontrol & 3 kelompok perlakuan dengan randomisasi sederhana. Sampel 20 ekor tikus wistar jantan, diadaptasi 1 minggu, lalu kelompok tikus mendapat perlakuan berbeda selama 14 hari. Semua kelompok perlakuan diberi BHT secara sonde selama 14 hari oleh tenaga ahli setiap pagi dengan dosis 300 mg untuk kelompok 1, 600 mg untuk kelompok perlakuan 2, dan 1200 mg untuk kelompok perlakuan 3. Setelah diberi perlakuan, tikus dalam 14 hari dimatikan. Selanjutnya heparnya diambil, setiap tikus dibuat 5 preparat hepar dan 5 lapangan pandang dengan perbesaran 100x dan 400x. Setiap preparat dihitung nilai rerata degenerasi.

**Hasil:** Rerata degenerasi sel hepar tertinggi pada kelompok perlakuan 3. Pada degenerasi terdapat perbedaan gambaran histopatologi yang bermakna secara statistik ( $<0,05$ ) antara p1 terhadap p2 ( $p=0,008$ ), p1 terhadap p3 ( $p=0,008$ ), p1 terhadap K ( $p=0,008$ ), P2 terhadap P3 ( $p=0,008$ ), P2 terhadap K ( $p=0,008$ ), dan P3 terhadap K ( $p=0,007$ ).

**Simpulan:** Terdapat pengaruh pemberian *Butylated Hydroxytoluene* per oral terhadap gambaran histopatologi hepar tikus *Wistar*.

**Kata Kunci:** BHT, hati, hepar, degenerasi, hepatotoksik

### **ABSTRACT**

**PENGARUH PEMBERIAN BUTYLATED HYDROXYTOLUENE (2,6-DI-TERT-BUTYL-4-METHYLPHENOL) PER ORAL DOSIS BERTINGKAT TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGIS HEPAR TIKUS WISTAR**

**Background:** *Butylated Hydroxytoluene (2,6-Di-tert-butyl-4-methylphenol/BHT)* is a common and generally safe antioxidants in food, medications, etc. BHT has great potential as one of the alternatives for an antioxidant. Excessive use of BHT may lead to hepatic intoxication. The hepar has a complex role and function which can be damaged by

hepatotoxic chemicals. Long term consumption of BHT is one of the causes of liver breakdown.

**Objective:** To know what kind of effect Butylated Hydroxytoluene oral administration has on Wistars' liver histopathology.

**Method:** This study used post test only control group design by using male wistars, divided into 1 control group and 3 treatment groups with simple randomization. Samples of 20 male wistars were put to adapt for 1 week, then the mice group received different treatment for 14 days. All treatment groups were given BHT through nasogastric tube for 14 days by the experts in the morning with dosages of 300mg for group 1, 600mg for treatment group 2, and 1200mg for treatment group 3. After given the treatment, those wistars were put down. Furthermore, every hepar was extracted, from each wistar 5 hepatic preparations were set, and 5 fields of view with magnifications of 100x and 400x were also made. Every preparation's degeneration rate was subsequently calculated afterwards.

**Result:** Highest rate of hepatic cell degeneration occurred in treatment group 3. There were statistically substantial differences in histopathology in the degeneration ( $<0.05$ ) between p1 and p2 ( $p=0.008$ ), p1 and p3 ( $p=0.008$ ), p1 and K ( $p=0.008$ ), p2 and p3 ( $0.008$ ), p2 and K ( $p=0.008$ ), and P3 and K ( $p=0.007$ ).

**Conclusion:** There were effects of Butylated Hydroxytoluene oral administration on Wistars' liver histopathology.

**Keywords:** BHT, liver, hepar, degeneration, hepatotoxic.

## PENDAHULUAN

*Butylated Hydroxytoluene* (2,6-*Di-tert-butyl-4-methylphenol*) atau yang disingkat dengan BHT adalah antioksidan yang paling umum digunakan dan diakui aman untuk digunakan dalam makanan yang mengandung lemak, obat-obatan, produk minyak bumi, karet dan industri minyak. BHT (*Butylated Hydroxytoluene*), memiliki potensi yang sangat besar sebagai salah satu alternatif antioksidan yang digunakan untuk proses pengolahan bahan pangan. Akan tetapi, penggunaan BHT yang berlebihan akan menyebabkan keracunan pada dosis tertentu.<sup>1,2,3</sup> Jumlah BHT yang dapat digunakan tiap hari per kg bobot badan (*acceptable daily intake*, ADI) adalah 0 sampai 0,3 mg/kg berat badan.<sup>4</sup>

Sebuah percobaan yang dilakukan oleh Elgazar yang menggunakan tikus dewasa menunjukkan bahwa BHT memiliki efek yang signifikan dalam menurunkan SGOT dan SGPT sehingga BHT memberikan efek protektif pada hepar.<sup>5</sup> Selain itu, penggunaan BHT paling efektif untuk antioksidan dengan dosis rendah, yaitu penambahan BHT 0,01%.<sup>6</sup>

Penelitian mengenai efek toksikologi dari BHT pada manusia dan binatang, ada yang menghasilkan efek toksik secara signifikan dan ada yang tidak, tergantung dari dosis yang digunakan. BHT dosis tinggi (40 dan 80 gram tanpa resep medis) yang diingesti secara oral telah dilaporkan dapat

menyebabkan neurotoksisitas akut dan gastritis.<sup>5,7</sup> Penelitian jangka pendek mengenai BHT menunjukkan peningkatan insidensi nekrosis toksik, nefrotoksisitas, pneumotoksikitas, toksisitas hepar dan ginjal, pembesaran difus dan ruptur pada hepar dengan perdarahan. Pada penelitian lain, setelah 10 bulan pemberian tikus dengan diet yang mengandung BHT, terdapat peningkatan insidensi tumor liver pada laki-laki. Studi juga dilakukan pada tikus mengenai kejadian adenoma hepatoselular dan karsinoma terkait dengan dosis BHT, dan mendapatkan hasil yang signifikan.<sup>7</sup>

Berdasarkan penelitian sebelumnya, BHT menunjukkan efek protektif dan juga bisa menjadi efek toksik pada dosis tertentu. Namun, BHT termasuk dalam jenis Bahan Tambahan Pangan. Bahan Tambahan Pangan, selanjutnya disingkat BTP, adalah bahan yang ditambahkan ke dalam pangan untuk mempengaruhi sifat atau bentuk pangan. BTP tidak dimaksudkan untuk dikonsumsi secara langsung dan/atau tidak diperlakukan sebagai bahan baku pangan. Namun dewasa ini, BTP sering digunakan dalam frekuensi dan jumlah besar. BHT sebagai Bahan Tambahan Pangan yang sering digunakan sebagai antioksidan dapat dianggap sebagai masalah kesehatan

masyarakat, karena efek toksisitasnya. Pangan jajanan anak sekolah yang tidak memenuhi syarat terus mengalami peningkatan menjadi 80,79% pada tahun 2013 dan Jawa Tengah mengalami paparan tertinggi angka kesakitan dan kematian pada kejadian luar biasa keracunan pangan yaitu 4.935 kasus<sup>7,8</sup>

Hati merupakan organ tubuh manusia yang berperan penting dalam proses metabolisme obat serta sebagai pusat disposisi metabolik dari semua obat dan bahan-bahan asing yang masuk ke tubuh.<sup>9</sup> Hati memiliki fungsi dan peran yang kompleks yaitu sebagai organ pencernaan, organ metabolisme, dan organ detoksifikasi berbagai zat yang masuk ke dalam tubuh. Hati dapat rusak oleh berbagai hal, seperti obat, mikroba dan berbagai senyawa kimia lain yang bersifat hepatotoksik.<sup>10</sup> Sehingga konsumsi jangka panjang antioksidan BHT dikhawatirkan mampu menjadi salah satu penyebab kerusakan hati manusia.

Berdasarkan dari penelitian terdahulu di katakan bahwa BHT memiliki efek toksik, oleh karena itu diperlukan penelitian untuk mengetahui pengaruh dari pemberian BHT terhadap gambaran hepar tikus *Wistar* yang diberikan secara oral dosis bertingkat.

## METODE PENELITIAN

Penelitian ini berkaitan dengan Ilmu Kedokteran Forensik, Ilmu Patologi Anatomi, dan toksikologi. Pemeliharaan hewan coba dilakukan di *Animal Care* Universitas Negeri Semarang. Pemeriksaan histopatologi dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro / Rumah Sakit Nasional Diponegoro, Semarang. Penelitian ini dilakukan pada April 2017 – Juni 2017.

Penelitian ini merupakan jenis penelitian eksperimental dengan rancangan *post test only control group design* yang menggunakan tikus *Wistar* jantan sebagai objek penelitian, dengan 1 kelompok kontrol dan 3 kelompok perlakuan dengan randomisasi sederhana.

Keempat kelompok tikus tersebut adalah :

Kontrol (K) : diberi pakan standar

Perlakuan 1 (P1) : diberi *Butylated Hydroxytoluene* 300 mg (1/2 LD<sub>50</sub>)

Perlakuan 2 (P2) : diberi *Butylated Hydroxytoluene* 600 mg (LD<sub>50</sub>)

Perlakuan 3 (P3) : diberi *Butylated Hydroxytoluene* 1200 mg (2x LD<sub>50</sub>)

Populasi target adalah tikus *Wistar* yang diperoleh dari *Animal Care* Universitas Negeri Semarang. Populasi terjangkau adalah tikus *Wistar* yang memenuhi kriteria inklusi dan kriteria

eksklusi. Kriteria Inklusi penelitian ini adalah tikus *Wistar* jantan, 2-3 bulan, berat badan 150-250 gram, dan dalam keadaan sehat dan tidak ada kelainan anatomi. Sedangkan kriteria eksklusinya adalah tidak bisa makan dan minum secara alamiah dan sakit atau mati sebelum penelitian.

Pengambilan sampel dilakukan dengan *simple random sampling*. Randomisasi langsung dapat dilakukan karena sampel diambil dari tikus *Wistar* yang sudah memenuhi kriteria inklusi sehingga dianggap cukup homogen. Penentuan besar sampel berdasarkan ketentuan WHO dengan jumlah sampel minimal 5 ekor per kelompok. Pada penelitian ini terdiri dari 4 kelompok perlakuan, sehingga jumlah sampel yang dibutuhkan 20 ekor tikus.

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah pemberian *Butylated Hydroxytoluene* per oral dengan berbagai dosis. Variabel terikat dalam penelitian ini adalah gambaran histopatologis hepar tikus *Wistar*.

Data yang dikumpulkan dalam penelitian ini adalah data primer yang diperoleh dari gambaran histopatologi hepar tikus *Wistar*, dan dinilai berdasarkan kerusakan hepar tikus *Wistar* dari

kelompok perlakuan yang dibandingkan dengan kelompok kontrol

Cara kerja penelitian ini dari sampel berjumlah 20 ekor tikus, dibuat menjadi 4 kelompok masing-masing terdiri dari 5 ekor tikus yang dibagi secara acak. Kelompok pertama adalah kelompok kontrol yang diberi pakan standar dan minyak jagung. Sedangkan kelompok lainnya merupakan kelompok perlakuan yang mendapat *Butylated Hydroxytoluene* dengan dosis bertingkat yang dilarutkan dalam minyak jagung. Tikus diadaptasikan selama 1 minggu sebelum diberi perlakuan dengan dikandangkan per kelompok dan diberi pakan standar dan minum yang sama selama 1 minggu secara ad libitum. Setelah itu masing-masing kelompok tikus mendapat perlakuan berbeda selama 14 hari. Tikus diperlakukan seperti di atas, dimana *Butylated Hidroxytoluene* yang sudah dilarutkan dalam minyak jagung diberikan secara sonde selama 14 hari oleh tenaga ahli setiap pagi pada jam yang sama. Setelah diberi perlakuan, tikus yang belum mati dalam 14 hari dimatikan dengan cara inhalasi dimana sebelumnya tikus sudah di anastesi terlebih dahulu. Selanjutnya heparnya diambil, difiksasi dengan buffer formalin, kemudian dibuat preparat menggunakan metode baku histologi pemeriksaan jaringan. Setelah itu

dilakukan pemeriksaan mikroskopis terhadap jaringan hepar tersebut. Dari setiap tikus dibuat 5 preparat hepar dan tiap preparat diamati pada 5 lapangan pandang yaitu pada keempat sudut dan bagian tengah preparat dengan perbesaran 100x dan 400x. Lalu pada setiap preparat dihitung nilai rerata degenerasi-nya dengan cara mengalikan jumlah sel sesuai kategori-nya dengan nilai yang ada pada tabel. Kelainan dilihat berdasarkan persentase jumlah sel yang ada di lapangan pandang baik dari kelainan yang tampak ataupun kelainan yang terbanyak pada lapangan pandang tersebut. Sasaran yang dibaca adalah perubahan struktur histologis hepar tikus. Untuk mengukur perubahan mikroskopis sel hepar, maka digunakan system skoring yang mengacu pada sistem skoring Manja Roenigk.

Data yang diperoleh diolah dengan program komputer dan dilakukan uji normalitas untuk mengetahui persebaran datanya normal menggunakan uji *Saphiro-Wilk*. Ternyata distribusi datanya tidak normal, atau varians data tidak sama, maka data ditransformasi. Setelah ditransformasi tetap didapatkan distribusi data yang tidak normal atau tidak sama, maka dilakukan uji beda menggunakan statistik non parametrik yaitu *Kruskal-Wallis*, jika

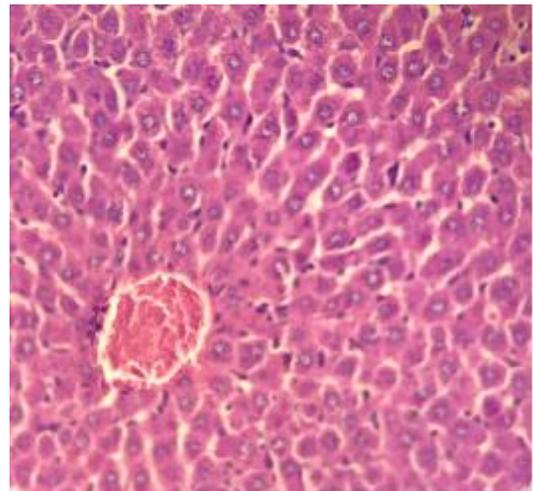
didapat  $p \leq 0,05$  dilanjutkan dengan uji *Post Hoc (Mann Whitney test)*.

## HASIL PENELITIAN

Pada penelitian ini, sampel dibagi secara acak ke dalam 4 kelompok, yaitu kelompok kontrol, kelompok perlakuan 1 dosis 300mg (P1), kelompok perlakuan 2 dosis 600mg (P2) dan kelompok perlakuan 3 dosis 1200mg (P3). Jumlah sampel pada masing-masing kelompok berjumlah 5 ekor tikus. Pada kelompok P3 semua tikus mati pada hari ke 2-3, sehingga langsung dilakukan preparasi pada organ hepar tersebut. Dikarenakan P3 mati pada hari ketiga, selanjutnya P1 dan P2 juga langsung dilakukan terminasi agar tidak terjadi bias dalam percobaan. Setelah dilakukan terminasi organ hepar diambil untuk dibuat preparat histopatologi yang akan diamati derajat kerusakannya menggunakan mikroskop cahaya.

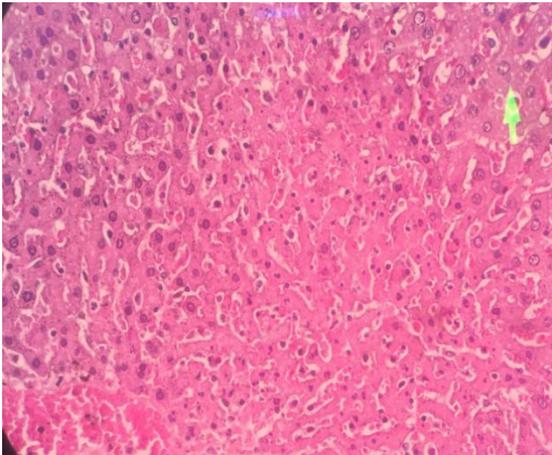
Organ hepar tikus *Wistar* yang telah dibuat preparat histopatologi dengan pengecatan Hematoxylin-Eosin (HE) dan dilakukan pengamatan terhadap sel hepar yang mengalami perubahan mikroskopis berupa degenerasi dan nekrosis dengan menggunakan mikroskop cahaya pada pembesaran 400x. Untuk menilai derajat kerusakan sel-sel hepar dari setiap masing-masing preparat dibaca dengan

menggunakan mikroskop dalam 5 lapangan pandang. Pengamatan preparat histopatologi dan penilaian derajat kerusakan dilakukan oleh seorang spesialis Patologi Anatomi. Hasil pengamatan preparat dapat dilihat pada gambar berikut.



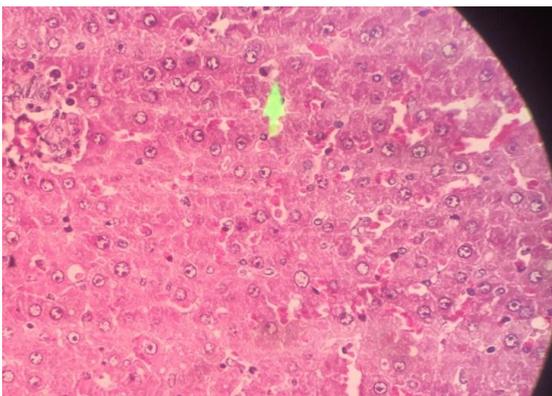
**Gambar 1.** Kontrol negatif (400x, HE), terdapat sel-sel hepar normal

Kelompok kontrol negatif terlihat gambaran mikroskopik sel-sel hepar tidak mengalami kerusakan. Sel berbentuk bulat, mempunyai sitoplasma utuh dan berwarna ungu, membran sel tidak rusak, dan inti sel bulat tidak padat. Namun ternyata ada sedikit terlihat kelainan pada kelompok kontrol yaitu terjadi degenerasi parenkimatosia. Dimana sel-sel terlihat membesar.



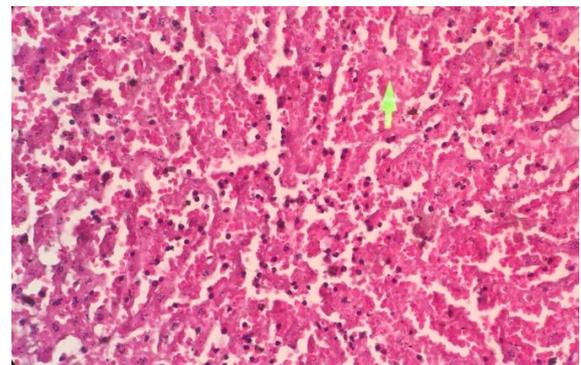
**Gambar 2.** Terdapat degenerasi parenkimatososa (panah kuning) (400x, HE),

Kelompok perlakuan 1 didapatkan degenerasi Parenkimatososa, dimana terjadi pembengkakan sel dan kekeruhan sitoplasma. Namun dibebberapa bagian juga terdapat kelainan berupa degenasi hidropik tetapi tidak banyak. Pada degenerasi hidropik terlihat dimana sel tampak membesar, sitoplasma pucat dan sitoplasma mengalami vakuolisasi.



**Gambar 3.** Terdapat degenerasi hidrofik , sel terlihat vakuolisasi (panah kuning) (400x, HE),

Kelompok perlakuan 2 didapatkan degenerasi hidropik. Degenerasi hidropik merupakan tingkat kerusakan struktur ke-2 yang ditandai ciri-ciri: sitoplasma mengalami vakuolisasi, vakuola-vakuola nampak jernih dan terjadi karena peningkatan pemasukan air ke dalam sel dan kemudian air memasuki vakuola-vakuola tersebut, sitoplasma pucat, sel tampak membesar karena akumulasi air dalam sitoplasma namun inti berada di tengah. Namun dibebberapa bagian ternyata terlihat pada kelompok perlakuan 2 sel mengalami nekrosis.



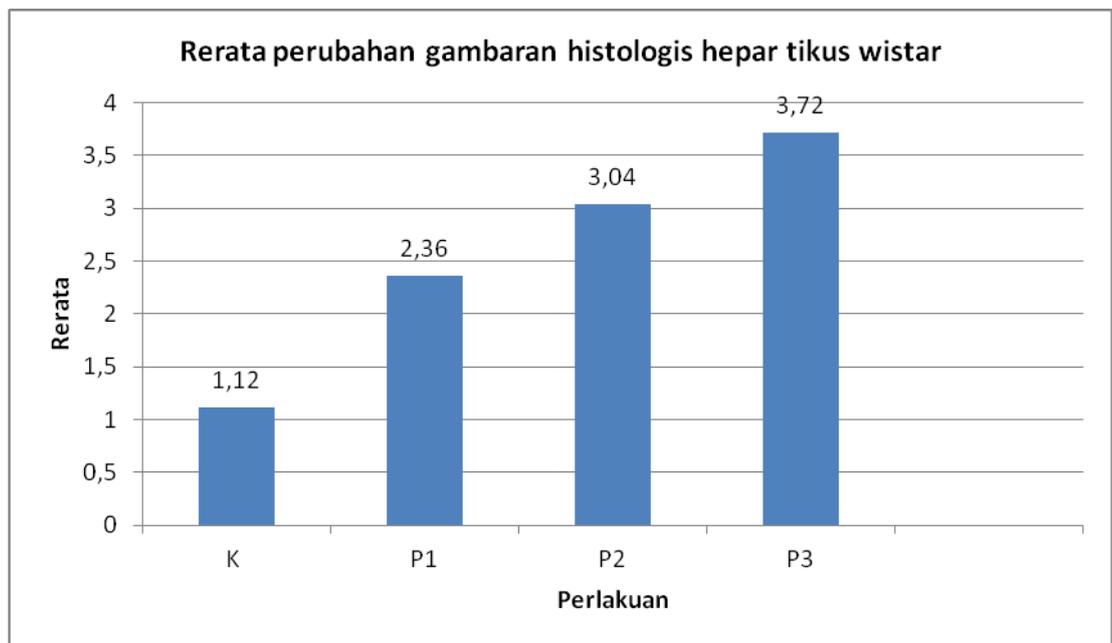
**Gambar 4.** Terjadi nekrosis pada sel (panah kuning) (400x, HE),

Kelompok perlakuan 3 didapatkan nekrosis pada sel. Dimana nekrosis ditandai dengan nukleus mengkerut (pyknosis), nukleus pecah menjadi fragmen-fragmen (kariokinesis), nukleus lisis (kariolisis), membran sel mengalami lisis sehingga batas antar sel tidak nampak jelas.

**Tabel 1.** Analisis Deskriptif Gambaran Mikroskopis Derajat Kerusakan Hepar Tikus Wistar

Kelompok	Gambaran Mikroskopis			
	Mean	Standar deviasi	Mini mum	Maksi mum
K	1.12	0.17	1.00	1.40
P1	2.36	0.16	2.20	2.60
P2	3.04	0.26	2.80	3.40
P3	3.72	0.10	3.60	3.80

Tabel diatas menunjukkan hasil rerata perubahan gambaran mikroskopis hepar tikus wistar. Berdasarkan tabel di atas, rerata perubahan K, P1, P2, P3 adalah 1.12 , 2.36 ,3.04 ,3.72. rerata tertinggi perubahan gambaran mikroskopis hepar untuk degenerasi dan nekrosis terdapat pada kelompok P3 dengan rerata 3.72 sedangkan perubahan terkecil terdapat pada kelompok kontrol dengan rerata 1,1.



**Gambar 5.** Grafik rerata perubahan gambaran histologis hepar tikus wistar

Data hasil skoring perubahan mikroskopis hepar tikus *Wistar* diuji normalitasnya menggunakan *Saphiro-Wilk* dan didapatkan distribusi data pada setiap kelompok perlakuan tidak normal ( $p < 0,05$ ). Distribusi data yang tidak normal menyebabkan data harus ditransformasi.

Namun setelah ditransformasi tetap didapatkan distribusi data yang tidak normal atau tidak sama, maka dilakukan uji beda menggunakan statistik non parametrik *Kruskal-Wallis* dan didapatkan  $P = 0,001$  ( $p \leq 0,05$ ) maka dilanjutkan dengan uji *Post Hoc (Mann Whitney test)*.

**Tabel 2.** Uji *Kruskal-Wallis* Degenerasi dan Nekrosis Hepar Tikus Wistar

Kelompok	Median (Range)	P
P1	2,4 (2,2 – 2,6)	<0,001* <sup>§</sup>
P2	3,0 (2,8 – 3,4)	
P3	3,8 (3,6 – 3,8)	
K	1,0 (1,0 – 1,4)	

Keterangan : \* Signifikan; <sup>§</sup> Uji *Kruskal Wallis*  
\* Signifikan p < 0,05

Hasil Uji *Kruskal-Wallis* didapatkan p<0,05, maka ada pengaruh metode pemberian *Butylated Hydroxytoluene* terhadap gambaran mikroskopis hepar tiga kelompok. Untuk mengetahui antara kelompok mana terdapat perbedaan yang bermakna maka dilanjutkan dengan uji analisis *Post Hoc*.

**Tabel 3.** Hasil uji *Mann-Whitney*

Konsentrasi	P2	P3	K
P1	0,008* <sup>‡</sup>	0,008* <sup>‡</sup>	0,008* <sup>‡</sup>
P2	–	0,008* <sup>‡</sup>	0,008* <sup>‡</sup>
P3		–	0,007* <sup>‡</sup>

Keterangan : \* Signifikan; <sup>‡</sup> Uji *Mann Whitney*  
\* Signifikan p < 0,05

Dari tabel dapat dilihat adanya perbedaan gambaran histopatologi yang bermakna secara statistik (<0,05) antara p1 terhadap p2 (p=0,008), p1 terhadap p3 (p=0,008), p1 terhadap K (p=0,008), P2 terhadap P3 (p=0,008), P2 terhadap K (p=0,008), dan P3 terhadap K (p=0,007). Sehingga terdapat perbedaan gambaran

histopatologi yang signifikan secara statistik karena p<0,05.

## PEMBAHASAN

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa kelompok yang diberi perlakuan pemberian *Butylated Hydroxytoluene* secara per oral ditemukan adanya perubahan histopatologi hepar. Sedangkan pada kelompok kontrol negatif yang hanya diberi makan dan minum biasa tidak ditemukan adanya perubahan histopatologi pada hepar.

Hepar merupakan organ tubuh manusia yang berperan penting dalam proses metabolisme obat serta sebagai pusat disposisi metabolik dari semua obat dan bahan-bahan asing yang masuk ke tubuh.<sup>9</sup> Hepar juga merupakan organ yang berkontak langsung dengan bahan yang bersifat merusak atau toksik yang masuk ke dalam tubuh melalui saluran pencernaan, sehingga hepar berpotensi mengalami kerusakan apabila mendapatkan paparan zat yang berbahaya.<sup>10</sup>

Pada hasil didapatkan kelompok kontrol negatif memiliki gambaran mikroskopik sel-sel hepar tidak mengalami kerusakan. Sel berbentuk bulat, mempunyai sitoplasma utuh dan berwarna ungu, membran sel tidak rusak, dan inti sel

bulat tidak padat. Namun ternyata ada sedikit terlihat kelainan pada kelompok kontrol yaitu terjadi degenerasi parenkimatososa. Dimana sel-sel terlihat membesar. Hal ini berbeda dengan gambaran kelompok dengan perlakuan. Gambaran kelompok perlakuan 1 didapatkan degenerasi parenkimatososa, dimana terjadi pembengkakan sel dan kekeruhan sitoplasma. Namun di beberapa bagian juga terdapat kelainan berupa degenerasi hidropik tetapi tidak banyak. Pada degenerasi hidropik terlihat dimana sel tampak membesar, sitoplasma pucat dan sitoplasma mengalami vakuolisasi. Kelompok perlakuan 2 didapatkan degenerasi hidropik yang ditandai ciri-ciri sitoplasma mengalami vakuolisasi, vakuola-vakuola nampak jernih dan terjadi karena peningkatan pemasukan air ke dalam sel dan kemudian air memasuki vakuola-vakuola tersebut, sitoplasma pucat, sel tampak membesar karena akumulasi air dalam sitoplasma namun inti berada di tengah. Namun di beberapa bagian ternyata terlihat pada kelompok perlakuan 2 sel mengalami nekrosis. Kelompok perlakuan 3 didapatkan nekrosis pada sel. Nekrosis ditandai dengan nukleus mengkerut (piknosis), nukleus pecah menjadi fragmen-fragmen (kariokinesis), nukleus lisis (kariolisis), membran sel mengalami

lisis sehingga batas antar sel tidak nampak jelas. Hal ini menunjukkan perbedaan derajat kerusakan histopatologi hepar tikus *Wistar* yang diberi paparan *Butylated Hydroxytoluene* per oral dan terlihat semakin tinggi dosis maka derajat degenerasi dan nekrosis semakin tinggi.

Kelompok P3 dengan dosis 1200 mg didapatkan pada hari ke 3 mati seluruhnya sehingga sampel pada kelompok perlakuan 1 dan 2 diterminasi. Terminasi ini dilakukan agar perlakuan terhadap sampel tetap sama dan dapat dilakukan perbandingan diantara setiap kelompok. Apabila dilakukan pengambilan spesimen hepar pada waktu yang berbeda, dikhawatirkan dapat terjadi bias data sebagai akibat dari perbedaan waktu pajanan terhadap larutan BHT pada masing-masing kelompok.

Hasil ini didukung oleh penelitian pendahuluan yang dilakukan oleh Powell, et al yang berjudul *hepatic responses to the administration of high doses of BHT to the rat: their relevance to hepatocarcinogenicity*, dimana melakukan penelitian untuk mengetahui respons hepatic dari administrasi BHT dosis tinggi pada tikus dan mendapatkan hasil adanya kerusakan hepatosit periportal terkait dengan dosis dan lama perlakuan. Kerusakan sel hepar terjadi pada tikus

yang mendapat dosis 500mg BHT/kg selama 28 hari.<sup>11</sup> Sebuah penelitian evaluasi BHT yang dilakukan oleh Elizabeth Vavasour yang berjudul *Toxicological Evaluation Division of BHT* telah menunjukkan bahwa BHT menyebabkan nekrosis sel hepar dan proliferasi terutama pada tikus wistar jantan pada dosis tinggi yang melewati dosis toleransi. Dosis oral subletal 1.000 atau 1.250 mg/kgBB/hari selama 4 hari menyebabkan nekrosis sel hepar pada regio centrilobular dalam 48 jam. Pada dosis BHT yang diberikan lebih rendah (kurang lebih 500 mg/kgBB/hari) pada periode 1-4 minggu, terbukti pada penelitian dapat menyebabkan induksi enzim, proliferasi duktus, hiperplasia sel hepar, dan fibrosis pada daerah periportal.<sup>12</sup>

Hasil penelitian ini menunjukkan adanya pengaruh pemberian *Butylated Hydroxytoluene* dosis bertingkat pada gambaran mikroskopis hepar tikus *Wistar*, dimana pada hasil uji *Kruskal-Wallis* tiap kelompok baik pada data perubahan gambaran mikroskopis hepar tikus berupa degenerasi maupun nekrosis didapatkan nilai  $P < 0,001$  yang artinya, tidak ada perubahan gambaran mikroskopis hepar secara bermakna pada dua kelompok. Hal ini didukung oleh temuan analisis deskriptif yang menyatakan bahwa pada

kelompok P3 terjadi kerusakan sel hepar yang terberat dibandingkan dengan kelompok lain. Pemberian *Butylated Hydroxytoluene* pada kelompok P3 dosis 1200 mg bersifat toksik. Hal ini serupa dengan penelitian oleh Panicker, *et al* pada tahun 2014, dengan penelitian semua sampel tikus wistar yang diberikan larutan BHT dosis tinggi (1g/kgBB) mati dalam waktu 2-3 hari setelah perlakuan. Kematian ini menunjukkan bahwa pemberian BHT dengan dosis yang terlalu tinggi bersifat toksik pada tikus wistar.<sup>13</sup> Hasil ini sesuai dengan hipotesis bahwa terdapat kelainan gambaran histopatologi hepar tikus *Wistar* yang diberi paparan *Butylated Hydroxytoluene* per oral.

Hasil analisis menggunakan *Kruskal-wallis* dan uji *post hoc* menggunakan uji Mann Whitney menunjukkan adanya hasil yang signifikan antara p1 terhadap p2 ( $p=0,008$ ), p1 terhadap p3 ( $p=0,008$ ), p1 terhadap K ( $p=0,008$ ), P2 terhadap P3 ( $p=0,008$ ), P2 terhadap K ( $p=0,008$ ), dan P3 terhadap K ( $p=0,007$ ). Hasil yang signifikan ini menunjukkan adanya efek toksik BHT yang dapat menyebabkan degenerasi dan nekrosis. Hasil ini didukung oleh *final report on the safety assesment of BHT* yang menunjukkan bahwa pemberian dosis 0,5-1 gram/kgBB diadministrasikan secara

akut akan menyebabkan kerusakan renal dan hepar tikus jantan. Laporan tersebut juga menunjukkan bahwa pemberian jangka pendek dan berulang BHT akan menyebabkan terjadinya kerusakan hepar.<sup>14</sup>

Mekanisme kerusakan sel hepar akibat BHT dapat dijelaskan sebagai berikut. Metabolisme utama BHT terjadi di mikrosom hepar, dan beberapa metabolisme juga terjadi di paru-paru, menjadikan kedua organ ini sebagai target utama efek toksisitas BHT. Pada tikus, BHT dimetabolisme menjadi berbagai jenis sulfat dan asam glukuronat terkonjugasi. Sitokrom P<sub>450</sub> memediasi metabolisme di hepar, menyebabkan pembentukan metabolit BHT yang reaktif dan elektrofilik yaitu BHT quinone methide (BHT-QM) yang dapat berikatan kovalen dengan berbagai neklophil sel, terutama yang mengandung grup sulfhidryl seperti sisteine dan glutathione, seperti yang terdapat pada hepar. Metabolit ini diyakini bersifat toksik dan akumulasinya dapat menyebabkan kerusakan pada sel hepar, yang dapat dilihat dari pemeriksaan histopatologis. Selain itu, kerusakan juga dapat dilihat dari aspek biokimiawi, yaitu terjadinya peningkatan enzim hepar seperti ALT dan AST.<sup>13,15</sup>

Penelitian ini memiliki beberapa

kelemahan yaitu tidak adanya penilaian fungsi hepar berdasarkan hasil nilai laboratorium untuk mengkonfirmasi pengaruh pemberian *Butylated Hydroxytoluene* per oral terhadap gambaran histopatologi hepar tikus *Wistar*. Penelitian ini juga sebaiknya dilakukan lagi sebagai pembandingan dengan dosis dan lama yang sama untuk menghindari terjadinya bias. Penelitian ini juga dapat menggunakan dosis dan jangka waktu pemberian BHT yang berbeda untuk mengetahui pengaruh BHT pada hepar tikus *Wistar* lebih lanjut pada dosis yang berbeda.

## **SIMPULAN DAN SARAN**

### **Simpulan**

Terbukti terdapat kelainan gambaran histopatologi hepar tikus *Wistar* akibat pemberian *Butylated Hydroxytoluene* per oral. Terbukti bahwa terdapat perbedaan derajat kerusakan histopatologi hepar tikus *Wistar* yang diberi paparan BHT per oral dosis bertingkat, dari derajat ringan sampai berat. Terbukti terdapat berbagai jenis gambaran kelainan histopatologis hepar tikus *Wistar* akibat pemberian BHT per oral dosis bertingkat berupa degenerasi parenkimatososa, degenerasi hidrofilik dan nekrosis sel hepar.

## Saran

Perlu dilakukan penelitian perbandingan mengenai pengaruh pemberian *Butylated Hydroxytoluene* per oral dengan dosis yang sama dalam penelitian ini terhadap gambaran histopatologi hepar tikus *Wistar*, penelitian lebih lanjut dengan dosis yang bervariasi dan jangka waktu yang berbeda, dan pemeliharaan tikus *Wistar* perlu diperhatikan agar tidak terjadi kelainan yang menyebabkan bias pada hasil pengamatan. Serta perlu dilakukan regulasi lebih lanjut mengenai pembatasan penggunaan *Butylated Hydroxytoluene* dalam kehidupan manusia.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Shahidi F, Ambigaipalan P. Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects - A review. Vol. 18, Journal of Functional Foods. 2015. p. 820–97.
2. Yehye WA, Rahman NA, Ariffin A, Abd Hamid SB, Alhadi AA, Kadir FA, et al. Understanding the chemistry behind the antioxidant activities of butylated hydroxytoluene (BHT): A review. Eur J Med Chem. 2015;101:295–312.
3. Sembiring HB, S L, L M. Aktivitas antioksidan senyawa flavonoida dari daun benalu kakao (*Dendrophthoe pentandra* (L.) Miq.). 2016;3:117–22.
4. Bpom. Badan pengawas obat dan makanan republik indonesia. Bpom. 2013;1–16.
5. Elgazar A. Effects of Butylated Hydroxytoluene and Butylated Hydroxyanisole Against Hepatotoxicity Induced by Carbon Tetrachloride in Rats. World Appl Sci J. 2013;22(1):63–9.
6. R R. Penggunaan Butil Hidroksi Toluen Untuk Menghambat Ketengikan Minyak Kelapa Hasil Olah Petani. Jurnal Matematika, Sains, Dan Teknologi. 2013; 13(2):87–93.
7. Nieva-Echevarría B, Manzanos MJ, Goicoechea E, Guillén MD. 2,6-Di-Tert-Butyl-Hydroxytoluene and Its Metabolites in Foods. Compr Rev Food Sci Food Saf. 2015;14(1):67–80.
8. BPOM. Laporan Tahun 2013 – Badan Pengawas Obat dan Makanan. Jakarta: BPOM RI, 2014.
9. Bayupurnama P. Buku Ajar ilmu Penyakit Dalam. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia; 2007. 473-476 p.
10. Guyton AC, Hall JE. Buku Ajar Fisiologi Kedokteran. Jakarta: EGC;

2012. 902-908 p.

11. Powell CJ, Connelly JC, Jones SM, Grasso P, Bridges JW. Hepatic responses to the administration of high doses of BHT to the rat: their relevance to hepatocarcinogenicity. *Food and Chemical Toxicology*. 1986 Oct 1;24(10-11):1131-43.
12. Vavasour, Elizabeth. Butylated Hydroxytoluen (BHT). Toxicological Evaluation Division. Canada. Available from : [www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v35je02.html](http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v35je02.html).
13. VP P, S G, D K. Toxicity study of butylated hydroxyl toluene (BHT) in rats. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 2014;758–63.
14. Final Report on the Safety Assessment of BHT. *International Journal of Toxicology* 2002 21: 19. DOI : 10.1080/10915810290096513.
15. Safer AM, Al-Nughamis. Hepatotoxicity induced by an anti-oxidant food additive, butylated hydroxytoluene (BHT) in rats : An electron microscopical study. *Histol Histopathol* 1999. 14: 391-406.