

**Pengaruh Pemberian Pegagan (*Centella asiatica*) terhadap
Gambaran Mikroskopis Limpa Mencit yang Diinfeksi *Salmonella*
*typhi***

(*THE EFFECT OF CENTELLA ASIATICA TO MICROSCOPIC STRUCTURE OF
THE SPLEEN OF MICE AFTER INFECTED SALMONELLA TYPHI*)

**I Gede Oka Budiawan¹, Ni Ketut Suwiti², I Putu Suastika², I Nengah Kerta
Besung³**

¹. Mahasiswa FKH, ²Lab Histologi, ³Lab Mikrobiologi
Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana
E-mail : tao_shockerchil@yahoo.com

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak pegagan terhadap gambaran histologis limpa mencit yang diinfeksi *Salmonella typhi*. Mencit sebanyak 24 ekor dibagi empat kelompok, yakni kelompok I (P0) sebagai kontrol diberikan aquades steril, kelompok II (P1) diberikan pegagan dengan dosis 125 mg/kg bb, kelompok III (P2) diberikan pegagan 250 mg/kg bb, dan kelompok IV (P3) diberikan pegagan 500 mg/kg bb. Setiap perlakuan diulang sebanyak 6 kali. Pegagan di berikan setiap hari selama 14 hari. Setelah 14 hari seluruh mencit diinfeksi *S.typhi*. Pada hari ke-15 dilakukan nekropsi untuk pengambilan sampel berupa limpa dan dibuat preparat histologi. Pengamatan preparat dilakukan di Laboratorium Histologi, meliputi persentase nekrosis. Metode pewarnaan menggunakan Haematoxylin Eosin (HE). Data yang diperoleh dianalisis dengan Uji Kruskal-Wallis. Hasil analisis menunjukkan gambaran mikroskopis limpa mencit yang diberikan pegagan dosis 500 mg/kg bb berbeda nyata ($P < 0,05$) dengan limpa mencit yang diberikan pegagan dosis 125 mg/kg bb, 250 mg/kg bb dan mencit yang tidak diberikan pegagan.

Kata kunci : Pegagan, *Salmonella typhi*, limpa

ABSTRACT

A research has been conducted to investigate the effect of Pegagan (*Centella asiatica*) against histological kidney infected by *Salmonella typhi*. A total of 24 male mice aged 8-12 weeks were divided into four groups. P0 is a control were given with sterile distilled water, P1 with 125 mg/kg bw of pegagan, P2 was given of *Centella asiatica* 250 mg / kg bw, and groups of P3 with 500 mg / kg bw. After 14 days all the mice infected with *S. typhi*. The day 15 all of mice were necropsied and spleen were taken for to a made histological preparations by Haematoxylin Eosin (HE). The examination of the histological change were based on the percentage of necrosis. Data were analyzed with the Kruskal-Wallis test. The analysis shows a microscopic picture of spleen of mice given a dose of *Centella asiatica* 500 mg / kg bw significantly different ($P < 0.05$) of the spleen of mice given *Centella asiatica* doses 125, 250 mg / kg bw and mice are not given *Centella asiatica*.

Keywords : *Centella asiatica*, *Salmonella typhi*, spleen

PENDAHULUAN

Salmonella thypi yakni agen bakteri yang menyebabkan *Salmonellosis*, penyakitnya ditandai dengan enterokolitis akut, sakit perut, diare, mual, dan terkadang muntah. Infeksi dapat berkembang menjadi septisemia, atau hanya infeksi lokal. Penyebab infeksi terkadang terlokalisir di jaringan tubuh tertentu, menyebabkan abses dan *septic arthritis* serta peradangan pada organ saluran pencernaan, hati, limpa, jantung, otak, dan organ lainnya.

Beberapa hewan yang dapat terjangkit *Salmonellosis* diantaranya unggas, babi, sapi, kerbau, anjing, kucing, tikus dan binatang peliharaan seperti iguana, tortois dan kura-kura. Hewan yang terinfeksi *S. typhi* dapat berperan sebagai reservoir penyakit tanpa menunjukkan gejala klinis. Hewan ini merupakan sumber infeksi yang suatu saat bisa menularkan ke hewan lain ataupun ke manusia. Pada kasus ini, bakteri berada pada tubuh hewan dalam jangka waktu yang lama, bahkan selama hidupnya terinfeksi kuman *Salmonella* (Santander, *et al*, 2003).

Penanganan *Salmonellosis* biasanya dititik beratkan pada pemberian antibiotika seperti ampisilin, kotrimoksazol, kloramfenikol, ceftriaxone, dan fluorokuinolon (ciprofloksasin, ofloksasin, pefloksasin, dan fleroksasin). Kloramfenikol masih merupakan terapi pilihan terhadap *S. typhi*, sedangkan seftriaksonmasi dalam tahap uji klinis dengan hasil penelitian pendahuluan memberikan efektivitas yang memuaskan (Musnelina, *et al*, 2004).

Selama ini penggunaan antibiotika untuk menangani demam tifoid mengalami hambatan. Hambatan utama adalah terbatasnya antibiotika yang efektif terhadap kuman ini. Hanya beberapa jenis antibiotika yang efektif

dipakai menanggapi infeksi diantaranya kloramfenikol, flourokuinolon dan kotrimoksazol. Hambatan yang lain adalah sering terjadi resistensi kuman terhadap antibiotika yang diberikan. Penggunaan antibiotika yang tidak terkontrol akan dapat menimbulkan resistensi kuman. Kuman yang awalnya sensitif terhadap antibiotika lama kelamaan akan bersifat resisten terhadap antibiotika tersebut.

Berkaitan dengan resistensi tersebut, maka di masa mendatang perlu diupayakan alternatif pengobatan untuk *Salmonellosis* yang lebih alami, mudah, murah dan efektif maka, diupayakan dengan pemberian tanaman obat yang berkasiat sebagai *Imunostimulator*. Beberapa bahan nabati atau yang lebih dikenal dengan bahan herbal yang dapat meningkatkan respon imun diantaranya : pegagan, kapulaga, buah merah, mahkota dewa, dan kunyit (Januwati dan Yusron, 2005).

Pegagan (*Centella asiatica*.) telah lama dimanfaatkan sebagai obat tradisional baik dalam bentuk bahan segar, kering maupun yang sudah dalam bentuk ramuan (jamu). Pegagan mengandung berbagai bahan aktif dan yang terpenting adalah triterpenoid saponin. Triterpenoid saponin meliputi asiaticoside, centelloside, madecassoside, dan asam asiatik. Komponen lainnya adalah minyak volatin, flafonoid, tannin, fytosterol, asam amino, dan karbohidrat. Kandungan kurkumin pada pegagan dimanfaatkan sebagai antinfeksi dan kandungan flavonoid dimanfaatkan sebagai antioksidan (Mamtha, *et al*, 2004), dan komposisi bioktif poliasetil berguna meningkatkan apoptosis sebesar 63% dan meningkatkan produksi nitrit oksid sebanyak 70±2% (Govindan *et al*, 2007).

Pegagan juga dimanfaatkan sebagai obat untuk mempercepat kesembuhan luka dan meningkatkan daya ingat. Pegagan mampu meningkatkan

hyperplasia seluler dan meningkatkan sel kolagen pada jaringan luka. Sampai saat ini pemanfaatan pegagan sebagai bahan imunostimulator masih dikembangkan dan terus diteliti. Demikian juga dengan pegagan dalam peranannya mencegah kelainan ataupun kerusakan organ penyusun tubuh yang diakibatkan oleh infeksi *Salmonellosis*.

Gangguan oleh agen infeksi bakteri *Salmonella* dimungkinkan dapat menimbulkan perubahan pada organ, salah satu organ tersebut adalah limpa mengingat limpa berfungsi sebagai salah satu organ pertahanan tubuh. Demikian banyak peranan pegagan dalam sistem fisiologis tubuh, namun belum ada yang meneliti sejauh mana pegagan mampu memperbaiki organ tubuh terutama limpa dalam usaha mempertahankan akibat infeksi *Salmonella typhi*.

METODE PENELITIAN

Materi penelitian

Dalam penelitian ini menggunakan sampel mencit jantan strain Balb/C yang berumur 8-12 minggu dengan berat badan antara 20-35 gram. Sampel diambil secara acak dan dihitung berdasarkan rumus : $(p-1) (n-1) 15$ (Sampurna, 2007), sehingga total mencit yang digunakan untuk penelitian berjumlah 24 ekor.

Metode penelitian

Sebanyak 24 ekor mencit umur 8 minggu diadaptasikan dengan lingkungan selama 2 minggu dan ditimbang berat badannya. Mencit ditempatkan pada 4 kelompok secara acak, masing-masing 6 ekor mencit pada kelompok I, II, III dan IV. Kelompok I sebagai kontrol hanya diberikan aquades steril sebanyak 1 ml/hari, kelompok II diberikan pegagan dosis 125 mg/kg BB/ml, kelompok III diberikan pegagan dosis 250 mg/kg BB/ml, dan kelompok IV diberi pegagan dosis 500 mg/kg BB/ml. Pemberian pegagan dilakukan setiap hari selama 14

hari. Pada hari ke 15 dilakukan infeksi kuman *S. typhi* sebanyak 10^5 sel per ml PBS per ekor secara intraperitoneal. Infeksi *S. typhi* ini didasarkan atas hasil uji *lethal dose 50* (LD₅₀).

Pembuatan preparat histologi

Tahap pembuatan sediaan histologi dilakukan sesuai metode Kiernan. Fiksasi jaringan dengan cara merendam dalam formalin buffer fosfat 10% selama 24 jam, kemudian diiris (*trimming*) agar dapat dimasukkan dalam kotak untuk diproses dalam *tissue processor*. Tahap berikutnya, jaringan tersebut dimasukkan ke dalam alkohol 70%, alkohol 80%, alkohol 90%, alkohol 96%, toluene 1 dan toluene 2 masing-masing selama 2 jam. Selanjutnya jaringan dimasukkan ke dalam paraffin cair dengan suhu 56°C selama 2 jam sebanyak 2 kali. Jaringan kemudian diambil dengan pinset, dilanjutkan dengan pemblokkan menggunakan parafin blok. Pemotongan (*cutting*) dilakukan dengan menggunakan mikrotom dengan ketebalan 4-5 µm. Jaringan yang terpotong dikembangkan di atas air dalam waterbath, kemudian ditangkap dengan gelas objek. Kemudian dikeringkan dalam suhu kamar dan preparat siap diwarnai dengan Hematoxylin Eosin (HE).

Pewarnaan Hematoxylin Eosin

Tahapan pewarnaan HE dilakukan mengikuti metode Harris, sebagai berikut : preparat di atas gelas objek direndam dalam xylol I 5 menit, dilanjutkan xylol II, III masing-masing 5 menit. Kemudian preparat direndam dalam alkohol 100% I dan II masing-masing 5 menit, selanjutnya ke dalam aquades dan kemudian direndam dalam Harris Hematoxylin selama 15 menit. Dichelupkan ke dalam aquades dengan cara mengangkat dan menurunkannya. Preparat kemudian dicelupkan ke dalam acid alkohol 1% selama 7-10 celupan, direndam dalam aquades 15 menit, dan

dalam eosin selama 2 menit. Selanjutnya preparat direndam dalam alkohol 96% I dan II masing-masing 3 menit, alkohol 100 % I dan II masing-masing 3 menit, dan dalam xylol IV dan V masing-masing 5 menit. Preparat dikeringkan dan dilakukan mounting dengan menggunakan entelan. Preparat diperiksa di bawah mikroskop untuk pemeriksaan terhadap perubahan histologi.

Pemeriksaan histologi

Data yang diambil merupakan gambaran histologi limpa, hasil pengamatan 5 kali lapang pandang dengan mikroskop pembesaran 400x. Pengambilan dan pembuatan preparat dilakukan pada hari ke-28 setelah infeksi *S. typhi*, dan pengamatan dilakukan dengan cara skoring, diberikan skor 0 jika 95% sel limpa normal (inti sel jelas, sitoplasma penuh) dan kepadatan sel sel limfosit mencapai 95%, diberikan skor 1 jika ditemukan nekrosis sel limfosit sekitar 25% atau 1/3 lapang pandang, diberikan skor 2 jika jumlah nekrosis sel limfosit kurang dari atau sama dengan 50%, diberikan skor 3 jika sel nekrosis limfosit lebih dari 50% (Sunarno, 2007). Data yang diperoleh dari pengamatan struktur histologi limpa setelah infeksi *S. typhi* dianalisis secara deskriptif kuantitatif berdasarkan berubahannya. Jenis data yang di peroleh adalah non-parametrik dan di uji dengan uji Kruskal Wallis, jika hasilnya signifikan di lanjutkan dengan uji Mann-Whitney.

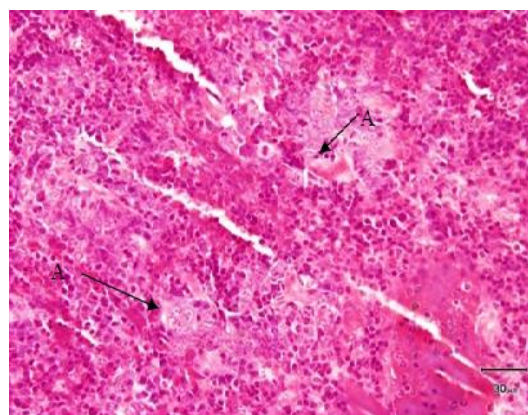
HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

Gambaran mikroskopis limpa mencit kelompok perlakuan P0 (diberikan aquades), P1 (diberikan pegagan dosis 125 mg/kg bb), dan P2 (diberikan pegagan dosis 250 mg/kg bb) menunjukkan hasil yang berbeda dengan gambaran mikroskopis limpa mencit dengan dosis pegagan 500 mg/kg bb (P3). Kelompok P0, P1 dan P2 masih

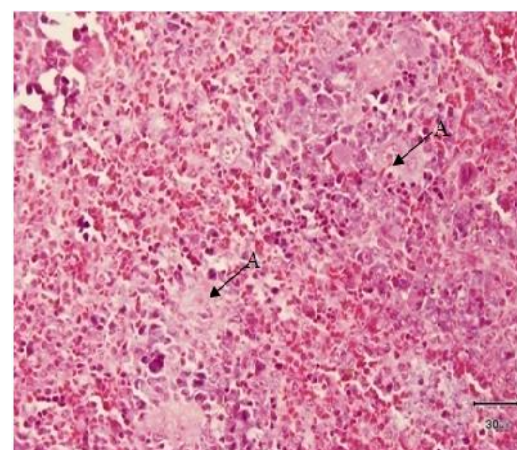
banyak sel nekrosis yang ditemukan dibandingkan dengan kelompok P3, pada kelompok P3 sel limpa normal lebih mendominasi daripada sel yg mengalami nekrosis. Prosentase sel yg mengalami nekrosis berbeda-beda pada setiap perlakuan. Terlihat prosentase nekrosis paling parah terjadi pada perlakuan P0 dan semakin kecil jumlah prosentase nekrosis pada perlakuan P1, P2 dan P3.

Hasil pemeriksaan yang diperoleh dari pengamatan mikroskopis limpa terdapat pada Gambar 1, Gambar 2, Gambar 3, dan Gambar 4.



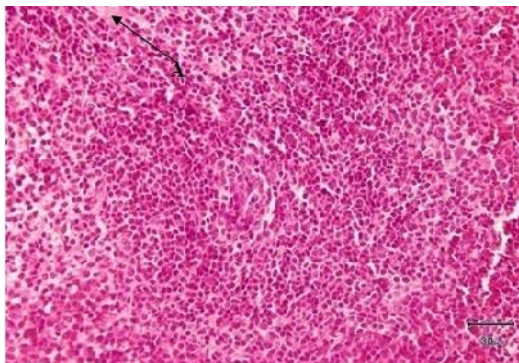
Gambar 1. Gambaran mikroskopis limpa mencit tanpa diberikan pegagan (HE, 400x)

Keterangan : A. Sel yang mengalami nekrosis



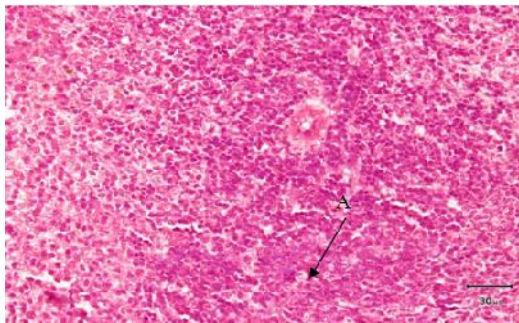
Gambar 2. Gambaran mikroskopis limpa dengan dosis pegagan 125 mg/kg bb (HE, 400x)

Keterangan : A. Sel yang mengalami nekrosis



Gambar 3. Gambaran mikroskopis limpa dengan dosis pegagan 250 mg/kg bb (HE, 400x)

Keterangan : A. Sel yang mengalami nekrosis



Gambar 4. Gambaran mikroskopis limpa dengan dosis pegagan 500 mg/kg bb (HE, 400x)

Keterangan : A.Sel yang mengalami nekrosis.

Pengaruh pegagan dengan berbagai dosis terhadap gambaran mikroskopis limpa mencit pasca infeksi *S. typhi* yang diamati berdasarkan skoring di analisis dengan menggunakan Uji Kruskal-Wallis yang ditunjukkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Kruskal-Wallis Test dengan berbagai dosis pegagan

		Ranks	
	Perlakuan	N	Mean Rank
Skor	Dosis 0 mg/kg bb	6	17.00
	Dosis 125 mg/kg bb	6	15.08
	Dosis 250 mg/kg bb	6	13.17
	Dosis 500 mg/kg bb	6	4.75
	Total	24	

Dari tabel di atas menunjukkan bahwa jumlah skor terhadap 4 kelompok perlakuan memberikan nilai rerata yang berbeda. Setelah dilakukan analisis dengan menggunakan Uji Kruskal-Wallis, diperoleh hasil yang berbeda nyata ($P < 0,05$) antara perlakuan tanpa diberikan pegagan (P0), pegagan dosis 125 mg/kg bb (P1), pegagan dosis 250 mg/kg bb (P2) dan pegagan dosis 500 mg/kg bb (P3).

Pembahasan

Limpa merupakan organ pertahanan terhadap infeksi partikel asing yang masuk melalui darah (Junqueira dan Carneiro 1982). Infeksi partikel asing yang masuk ke dalam darah ini dapat mengarah terhadap terjadinya sepsis sampai dengan nekrosis (Smith. 2006). Dari hasil pengamatan menunjukkan bahwa prosentase nekrosis dari sel limpa semakin sedikit jika diberikan ekstrak pegagan dibandingkan dengan kelompok mencit yang tidak diberikan pegagan.

Pada penelitian ini menunjukkan bahwa tingkat nekrosis dari sel limpa pada perlakuan P0 (tanpa pegagan) dan P1 (pegagan dosis 125 mg/kg bb) tidak memberikan gambaran mikroskopis yang berbeda ($P > 0,05$), demikian juga perubahan yang ditemukan pada perlakuan P2 (pegagan dosis 250 mg/kg bb) tidak berbeda nyata ($P > 0,05$). Keadaan yang berbeda ditemukan pada perlakuan P3 (pegagan dosis 500 mg/kg bb) dimana hasil uji analisis menunjukkan perbedaan nyata ($P < 0,05$).

Prosentase nekrosis pada pemberian pegagan dengan dosis 500 mg/kg bb sangat rendah, hal ini disebabkan karena kandungan triterfenoid safonin dapat menghambat pertanaman [bakteri](#) enterik, seperti *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter aerogenes*, dan *Salmonella typhi* (Syahnida,1993) oleh karena itu prosentase nekrosis dari infeksi bakteri *salmonella* dapat dihambat pada tingkat dosis tertentu dalam hal ini terjadi

pengurangan atau penghambatan terjadinya nekrosis pada pemberian dosis 500 mg/kg bb. Hal ini kembali didukung oleh Nijveldt *et al.*, (2001) bahwa flavonoid mampu mencegah aktivitas radikal bebas yang memperlambat proses inflamasi melalui berbagai mekanisme, antara lain dengan menstabilkan komponen dari radikal bebas.

Penting untuk diketahui, pemberian oral ekstrak pegagan pada tikus dengan dosis di atas 675 mg/kg bb akan menunjukkan efek toksisitas (De Lucia *et al* 1997), hal ini sejalan dengan penelitian ini yang menunjukkan hasil maksimal pada pemberian pegagan dengan dosis 500 mg/kg bb.

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak pegagan pada dosis 500 mg/kg bb, mampu mencegah kerusakan terhadap gambaran histologi limpa mencit yang diinfeksi *Salmonella typhi*.

Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut apakah pemberian pegagan mampu mengobati kerusakan pada organ limpa pasca infeksi bakteri *S.typhi*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terimakasih dan penghargaan kepada Bapak Dekan Fak. Kedokteran Hewan atas fasilitas yang diberikan. Ibu Prof. Dr. Drh. Ni Ketut Suwiti, MKes sebagai pembimbing I, Bapak Drh. Putu Suastika MKes sebagai pembimbing II dan Bapak Dr. Drh I Nengah Kerta Besung MSi, yang telah membantu dalam pelaksanaan penelitian dan memberikan bimbingan khususnya tentang bakteriologi.

DAFTAR PUSTAKA

- De Lucia, R., Sertie J.A.A., Camargo E.A. dan Panizza S. 1997. *Pharmacological and Toxicological Studies on Centella asiatica Extract*. Dalam Abstrak Fitoterapia Journal .
- Govindan G, Sambandan TG, Govindan M, Sinskey A, Vanessendelft J, Adenan I, and Rha CK. 2007. A Bioactive Polyacetylene Compound Isolated from *Centella asiatica*. Supporting information available on line at <http://.thieme-conect.de/ejournals/toc/plantamedica>. Revised April 9, 2007. Accepted april 13, 2007.
- Januwati, M. dan Yusron, M. 2005. Budidaya tanaman pegagan. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian. Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatika. Sirkuler No.11., <http://www.balittro.go.id>.
- Junqueira, L. C, J. Carneiro. 1980. Alih Bahasa Adji Dharma. EGC Buku Histologi Kedokteran.
- Mamtha B, Kavitha K, Srinivasan KK, Shivananda PG, 2004. An in vitro study of the effect of *Centela asiatica* [Indian pennywort] on enteric pathogen. Indian J Pharmacol. Februari 2004. Vol 36. Issue 1; 41-44
- Muselina L, dkk. Pola pemberian antibiotik pengobatan demam tifoid anak di Rumah Sakit Fatmawati Jakarta tahun 2001-2002. Jurnal Makalah Kesehatan. 2004; 8(1).
- Nijveldt, R. J., E. van Nood, D.E.C. van Hoorn, P.G. Boelens, K. van Norren, P.A.M. van Leeuwen. 2001. Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. *American Journal of Clinical and Nutrition* 74: 418-425.

- Sampurna, P. 2007. Metodologi Ilmiah Rancangan Percobaan. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana.
- Santander J, Espizona JC, Campano MS, Robeson J. 2003. Infection of *Caenorhabditis elegans* by *Salmonella typhi* Ty2. Short Communication. Pontificia Universidad Catolica de Palparaiso. Electronic Journal of Biotechnology ISSN: 0717-3458 Vol.6 No.2, Issue of August 15, 2003. :148-152.
<http://www.ejbiotechnology.info/content/vol6/issue2/full/5>
- Seely, J.C. Kidney. In : Maronpot RR. 1999. Pathology of The Mouse. Reference and Atlas. 1st ed. Cache River Press. P: 226.
- Smith DS. 2006. Sepsis. <http://www.medlineplus.gov/htm>. [29 Mei 2008].
- Sunarno, 2007. Efek *Phyllanthus Niruri* L pada Prosentase Neutrofil, Koloni Bakteri Limpa, dan Histopatologi Hepar mencit Balp/C yang Diinfeksi *Salmonella typhi*.
- Syahnida. 1993. Daya hambat perasan daun *Centella asiatica* (L.) Urban terhadap beberapa kuman enterik.
- Yu QL.; Duan HQ.; Takaishi Y and Gao WY. 2006. A Novel Triterpene from *Centella asiatica*. *Molecules* 2006,11, 661-665.
<http://www.mdgi.org>.