

Gambaran Histopatologi Ginjal Marmut yang Diberi Ekstrak Daun Tapak Dara (*Cantharanthus roseus*) dan Wijayakusuma (*Epiphyllum oxypetalum*)

(HISTOPATHOLOGY OF GUINEA PIG KIDNEYS TREATED WITH LEAF EXTRACT OF CANTHARANTHUS ROSEUS AND EPIPHYLLUM OXYPETALUM)

Sarah Humaira¹, I Ketut Berata², I Anak Agung Gde Jaya Wardhita³

¹Mahasiswa Pendidikan Sarjana Kedokteran Hewan,

²Laboratorium Patologi Veteriner,

³Laboratorium Bedah Veteriner,

Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana,

Jl. P.B. Sudirman, Sanglah, Denpasar, Bali, Indonesia, 80234; Telp/Fax: (0361) 223791

e-mail: chaaca06@gmail.com

ABSTRAK

Tanaman tapak dara (*Catharanthus roseus*) dan wijayakusuma (*Epiphyllum oxypetalum*) merupakan tanaman bahan obat tradisional yang mampu mempercepat kesembuhan luka. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek pemberian kedua ekstrak tanaman tersebut terhadap ginjal yang diamati secara histopatologi. Penelitian menggunakan marmut, sebanyak 24 ekor, yang dibagi menjadi empat kelompok. Kelompok I diberi salep vaselin sebagai kontrol (K), Kelompok II (P1) diberi salep ekstrak tapak dara konsentrasi 15%, Kelompok III (P2) diberi salep ekstrak wijayakusuma konsentrasi 15%, dan Kelompok IV (P3) diberi salep kombinasi ekstrak tapak dara dan wijayakusuma konsentrasi 15%. Setelah tujuh hari pertama pemberian perlakuan, tiga ekor marmut dari setiap kelompok dikorbankan nyawanya kemudian dinekropsi dan tiga ekor yang masih hidup diberi perlakuan hingga hari ke-14 lalu dikorbankan nyawanya dan dinekropsi. Setelah dinekropsi pada minggu pertama dan kedua, organ ginjal diambil untuk kemudian diproses pembuatan preparat histologi. Proses pembuatan preparat histopatologi dilakukan dengan metode Kiernan dan pewarnaan *hematoxylin-eosin* (HE). Hasil analisis menunjukkan bahwa kelompok yang diberi kombinasi ekstrak daun tapak dara dan wijayakusuma, tampak lesi degenerasi melembak, kongesti, perdarahan dan nekrosis paling ringan dibandingkan kelompok yang diberi ekstrak daun tapak dara atau wijayakusuma secara tunggal. Kesimpulannya adalah pemberian kombinasi ekstrak daun tapak dan wijayakusuma konsentrasi 15% pada terapi kesembuhan luka paling baik terhadap kesehatan ginjal dibandingkan pemberian ekstrak daun tapak dara atau wijayakusuma secara tunggal.

Kata-kata kunci: tapak dara; wijayakusuma; kesembuhan luka; marmut; ginjal

ABSTRACT

Plants of the tapak dara (*Catharanthus roseus*) and wijayakusuma (*Epiphyllum oxypetalum*) are traditional medicinal plants which can accelerate wound healing. This study aims to determine the effect of giving both of these plant extracts to the kidneys which were observed histopathologically. The study used 24 guinea pigs, which were divided into four groups. Group I was given vaseline ointment as a control (K), Group II (P1) was given 15% tapak dara extract ointment, Group III (P2) was given wijayakusuma extract ointment 15%, and Group IV (P3) was given a combination of tapak dara and wijayakusuma extract ointment 15%. After the first seven days of treatment, three guinea pigs from each group were sacrificed and necropsy later performed and the three alive were treated until the 14th day and then sacrificed and then necropsy performed. After the first and second weeks necropsy were done, the kidney were taken and then processed for histological preparations. The

histopathological preparations were processed with Kiernan method and hematoxylin-eosin (HE) staining. The results of the analysis showed that the group given the combination of tapak dara leaf extract and wijayakusuma, showed fatty degeneration lesions, congestion, bleeding, and necrosis were compared to the group given single tapak dara or wijayakusuma extract. In conclusion that the combination of tapak dara and wijayakusuma leaf extract with a concentration of 15% in the treatment of wound healing is best for kidney health compared to the administration of single tapak dara leaf extract or wijayakusuma.

Keywords: tapak dara; wijayakusuma; wound healing; guinea pig; kidneys

PENDAHULUAN

Obat tradisional di Indonesia sangat besar peranannya dalam pelayanan kesehatan masyarakat di Indonesia, sehingga obat tradisional sangat berpotensi untuk dikembangkan. Indonesia kaya akan tanaman obat-obatan, yang mana masih belum dimanfaatkan secara optimal untuk kesehatan. Indonesia diketahui memiliki keragaman hayati terbesar kedua di dunia setelah Brasil (Rintelen *et al.*, 2017). Obat tradisional merupakan warisan budaya bangsa yang perlu terus dilestarikan dan dikembangkan untuk menunjang pembangunan kesehatan sekaligus untuk meningkatkan perekonomian rakyat. Obat tradisional ini tentunya sudah diuji bertahun-tahun bahkan berabad-abad sesuai dengan perkembangan kebudayaan bangsa Indonesia (Hidayanto *et al.*, 2015).

Penelitian obat tradisional Indonesia mencakup penelitian obat herbal tunggal maupun dalam bentuk ramuan. Jenis penelitian yang telah dilakukan selama ini meliputi penelitian budidaya tanaman obat, analisis kandungan kimia, toksisitas, farmakodinamika, formulasi, dan uji klinik. Tanaman obat dan obat tradisional yang digunakan dalam pelayanan kesehatan harus memenuhi persyaratan mutu dan memiliki bukti ilmiah atas khasiat dan keamanannya termasuk terhadap ginjal, merupakan ketentuan universal yang dimiliki hampir di setiap negara (Jha, 2010).

Tapak dara (*Catharanthus roseus*) dan wijayakusuma (*Epiphyllum oxypetalum*) merupakan salah satu obat tradisional, yang ekstrak dari daun atau bunga digunakan sebagai obat oleh beberapa masyarakat pedesaan (Dandekar *et al.*, 2015; Nayak, 2006). Kedua tanaman ini dilaporkan mampu menyembuhkan berbagai penyakit, salah satunya adalah mempercepat kesembuhan luka (Nayak, 2006). Ekstrak dari bunga tapak dara mengandung *tannin*, *triterpenoid*, dan *alkaloid*. Salah satu komponen ini berperan dalam penyembuhan luka, sedangkan hasil analisis fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak wijayakusuma mengandung berbagai senyawa seperti *saponin*, *fenolik*, *steroid*, *glikosida*, *tannin*, *terpenoid*, *alkaloid flavanoid*, *sterol*, dan *phlobatanin* (Upendra dan Khandelwal, 2012).

Kesembuhan luka dapat ditangani dengan berbagai metode salah satunya adalah dengan pemberian obat topikal berupa salep. Preparat topikal menghindari iritasi saluran cerna, mencegah metabolisme obat pada hati dan meningkatkan bioavailabilitas obat. Preparat topikal bekerja langsung pada daerah yang diaplikasikan (Rupal *et al.*, 2010).

Ginjal merupakan organ retroperitoneal berbentuk kacang, berwarna merah muda muda dalam koloid dan terletak di bagian posterior perut dalam setiap sisi kolom vertebral (Elango *et al.*, 2015). Fungsi utama ginjal adalah konservasi air dan homeostasis elektrolit dan fungsi kedua dari ginjal adalah ekskresi produk limbah metabolik beracun khususnya urea dan kreatin (Salazar, 2014). Fungsi ginjal sangat berkaitan dengan tingkat kerusakan struktur ginjal. Sejauh mana struktur histopatologi ginjal pada marmut jika diberikan herbal berupa ekstrak daun tapak dara dan ekstrak daun wijayakusuma, belum ada peneliti yang melaporkan. Dalam penelitian digunakan hewan model marmut atau *guinea pig* (*Cavia procellus*), karena cocok untuk pengujian toksisitas (Rocca dan Wehner, 2009; Awal *et al.*, 2014).

METODE PENELITIAN

Dalam penelitian ini hewan coba yang dipakai adalah marmut atau yang dikenal juga dengan marmut atau *guinea pig*. Marmut yang digunakan memiliki berat badan sekitar 450-600 g, berjenis kelamin jantan, berjumlah total 24 ekor lalu dibagi menjadi empat kelompok, setiap kelompok terdiri atas enam ekor ulangan. Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain pakan marmut, salep ekstrak daun tapak dara 15%, ekstrak daun wijayakusuma 15%, ekstrak kombinasi daun tapak dara dan wijayakusuma 15%, vaselin, etanol 96%, aquades, *phosphate buffer formalin* 10%, *xylazine*, dan *ketamine* dan peralatan berupa kandang marmut, *cotton bud*, scalpel, gunting, pot sampel, *object glass*, *cover glass*, dan mikroskop.

Rancangan penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan empat perlakuan. Dengan pembagian perlakuan sebagai berikut: Kelompok I (K): sebagai kelompok kontrol yang diberikan vaselin secara topikal; Kelompok II (P1): sebagai kelompok perlakuan yang diberikan ekstrak daun tapak dara secara topikal dengan konsentrasi 15% dalam vaselin; Kelompok III (P2): merupakan kelompok perlakuan yang diberikan ekstrak daun wijayakusuma secara topikal dengan konsentrasi 15% dalam vaselin; Kelompok IV (P3): merupakan kelompok perlakuan yang diberikan kombinasi ekstrak daun

tapak dara dan wijayakusuma secara topikal dengan konsentrasi 15% dalam vaselin.

Marmut dikelompokkan menjadi empat kelompok dan disetiap kelompok terdiri atas enam ekor marmut yang dipelihara dalam kandang berbeda. Marmut setiap harinya diberi makan dan minum secara *ad libitum* dan dipelihara selama kurang lebih seminggu untuk memberikan waktu pada marmut beradaptasi dengan lingkungan. Setelah tujuh hari pertama perlakuan tiga ekor lain yang masih hidup diberi perlakuan hingga hari ke-14 lalu dinekropsi untuk diambil organ ginjal dan dibuatkan preparat histologi untuk pengamatan. Proses pembuatan histopatologi dilakukan dengan metode Kiernan (2015) dan pewarnaan *hematoxylin-eosin* (HE). Perubahan histopatologi yang diamati sebagai variabel adalah degenerasi meleak, kongesti, perdarahan dan nekrosis terutama pada bagian tubulus ginjal dari masing-masing kelompok perlakuan. Perubahan histopatologi masing-masing dievaluasi menggunakan metode skoring sebagai berikut; skor 0, jika tidak ada perubahan (normal); skor 1, jika ada perubahan bersifat fokal (perubahan ringan); skor 2, jika ada perubahan bersifat multifokal (perubahan sedang); dan skor 3, jika ada perubahan bersifat difusa (perubahan berat).

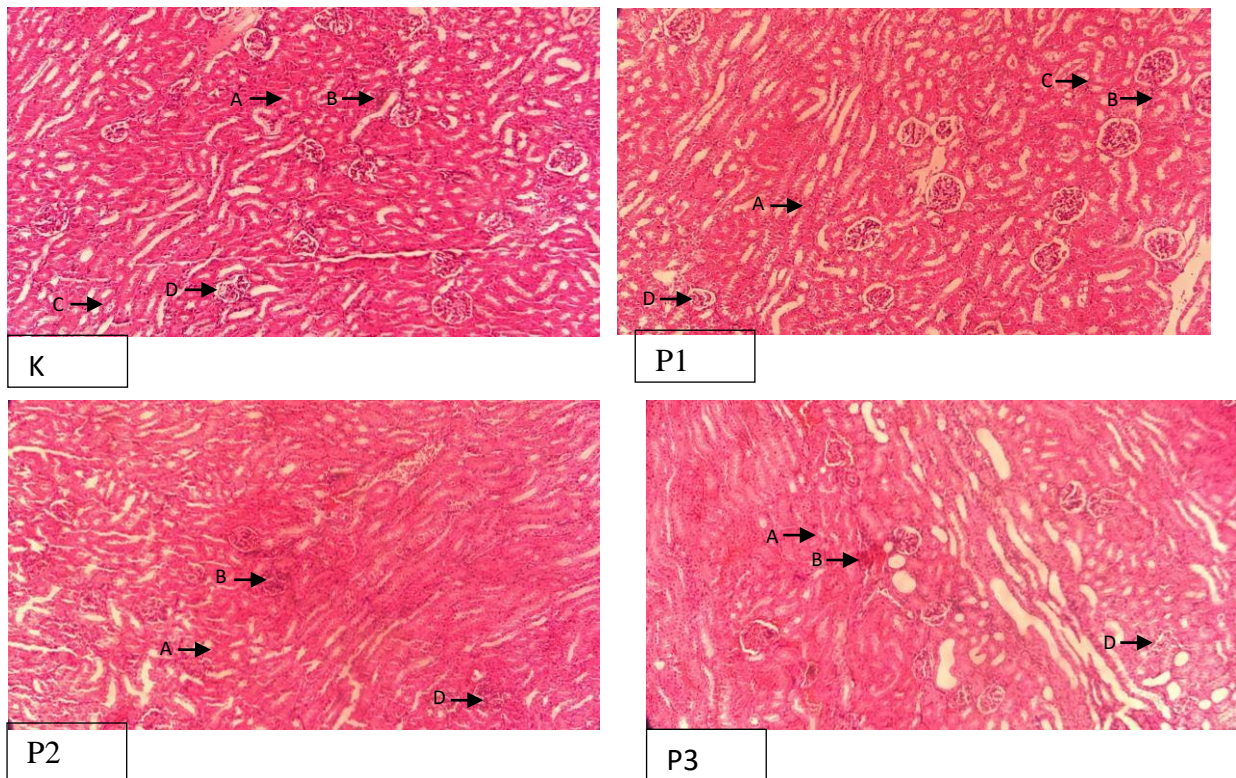
Pengamatan histopatologi ginjal dilakukan masing-masing pada lima lapang pandang mikroskopis. Berdasarkan skoring perubahan histopatologi (degenerasi meleak, kongesti, perdarahan dan nekrosis) dianalisis dengan uji Krustal Wallis dan jika ada perbedaan yang nyata ($p < 0,05$) dilanjutkan dengan uji Mann Whitney.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Dari hasil pemeriksaan histopatologi ginjal marmut akibat beberapa perlakuan dan waktu pengamatan, berdasarkan perubahan histopatologi degenerasi meleak, kongesti, perdarahan, dan nekrosis, maka diperoleh hasil ditemukan perbedaan yang nyata ($p < 0,05$) diantara kelompok perlakuan, sedangkan berdasarkan perubahan dan waktu pengamatan, tidak dijumpai adanya perbedaan yang nyata ($p > 0,05$). Histopatologi ginjal sesuai kelompok perlakuan disajikan pada Gambar 1.

Uji Kruskal Wallis menunjukkan perbedaan yang nyata ($p < 0,05$) (Tabel 1), maka dilakukan uji lanjut Mann Whitney. Dari hasil analisis Mann Whitney tampak P3 memiliki perubahan histopatologi (degenerasi meleak, perdarahan, kongesti dan nekrosis) yang berbeda ($p < 0,05$) dibandingkan perlakuan yang lain. Perubahan tersebut menunjukkan bahwa pada pemberian kombinasi ekstrak daun tapak dara dan wijayakusuma pada P3 memiliki lesi

yang paling ringan dibandingkan dengan kontrol dan kelompok perlakuan yang lain. Untuk melihat perbandingan dalam bentuk grafik, perbedaan tersebut disajikan dalam Gambar 2.



Gambar 1. Histopatologi ginjal marmut berdasarkan kelompok perlakuan (HE, 100X). (K) Kontrol atau Placebo, (P1) Ekstrak Tapak Dara, (P2) Ekstrak Wijaya Kusuma, (P3) Kombinasi Ekstrak Tapak Dara dan Wijayakusuma. (A) Degenerasi Melemak, (B) Pendarahan, (C) Kongesti, (D) Nekrosis.

Tabel 1. Analisis *non-parametric* Kruskal Wallis

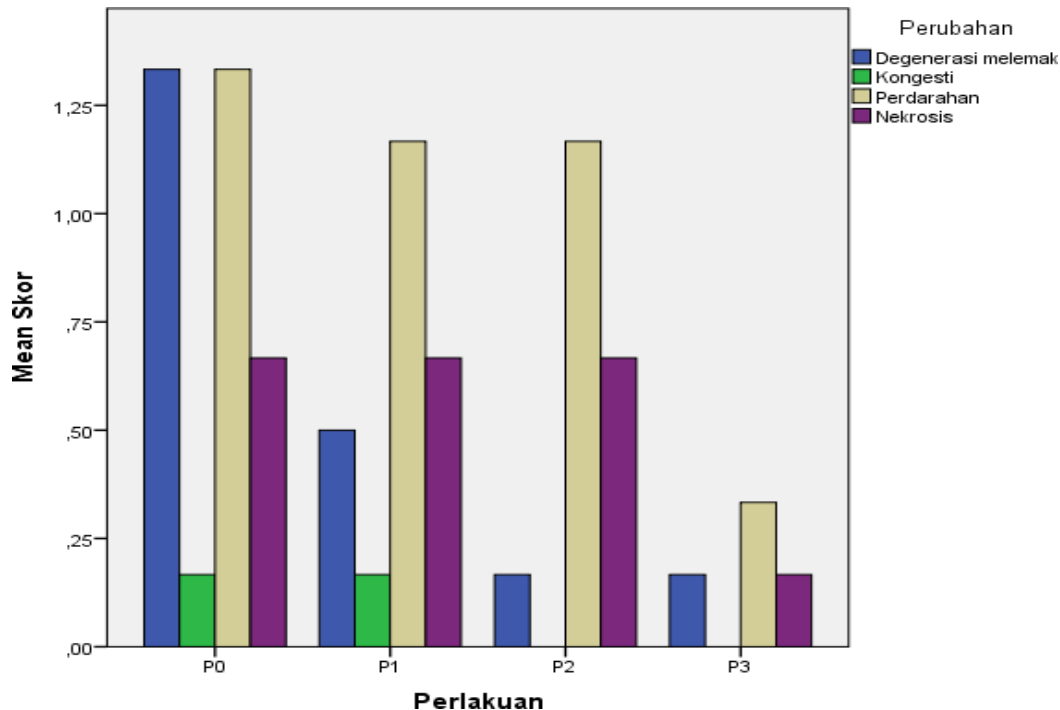
	Perlakuan	Perubahan	Minggu
Chi-Square	14,310	,000	,000
df	3	3	3
Asymp. Sig.	,003	1,000	1,000

Keterangan:

- a. Kruskal Wallis Test
- b. Grouping Variable: Perlakuan

Gambaran histopatologi ginjal dalam proses kesembuhan luka akibat pemberian ekstrak tapak dara dan wijayakusuma sangat bervariasi, lesi degenerasi melemak, kongesti, perdarahan maupun nekrosis pada hasil pemeriksaan. Degenerasi melemak merupakan lesi yang disebabkan oleh gangguan metabolisme yang lama (kronis) tidak tampak pada

kelompok perlakuan terutama pada pemberian kombinasi ekstrak tapak dara dan wijayakusuma. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak kedua bahan herbal tersebut sangat aman terhadap ginjal, sesuai dengan laporan Mradu *et al.* (2013).



Gambar 2. Perbandingan tingkat keparahan masing-masing perubahan histopatologi ginjal dengan uji lanjutan Mann Whitney

Degenerasi melemak adalah akumulasi lemak dalam sitoplasma akibat gangguan metabolisme lipoprotein. Lipoprotein adalah lemak terikat protein yang merupakan bentuk molekul yang dapat keluar sel. Penyebab degenerasi melemak lainnya adalah *blockade* asam lemak dan penyerapan lemak dan penyerapan lemak dari usus yang berlebih. Akibat daya kohesi molekul lemak lebih besar daripada molekul air, menyebabkan inti sel terdesak ke pinggir sel (Berata *et al.*, 2011). Degenerasi melemak pada sel-sel tubulus ginjal dalam penelitian ini tidak signifikan. Fungsi vital ginjal adalah memfiltrasi plasma darah melalui glomerulus dengan reabsorpsi sejumlah zat terlarut dan air dalam jumlah yang sesuai di sepanjang tubulus ginjal. Degenerasi melemak yang parah dapat terjadi apabila ada gangguan metabolisme dan patofisiologis pada proses penyakit kronis ataupun pada kejadian hipotermia (Preuss *et al.*, 2004).

Lesi kongesti juga tampak paling ringan pada perlakuan kombinasi ekstrak daun tapakdara dan wijayakusuma. Kemungkinan bahan aktif kedua herbal tersebut bersinergi dalam proses perbaikan jaringan atau kesembuhan luka. Lesi kongesti sering sebagai

gambaran adanya angiogenesis yang baik dalam proses perbaikan jaringan (Nayak, 2006). Kongesti adalah penimbunan darah dalam vena akibat aliran darah yang melambat atau bahkan berhenti. Kongesti merupakan proses pasif dari aliran darah dalam vena. Kongesti dapat terjadi lokal atau secara umum. Kongesti lokal menyebabkan jaringan mengalami anoksia sampai terjadi nekrosis, sehingga dapat menimbulkan lesi kehitaman. Penyebab kongesti di antara obstruksi (penyumbatan pembuluh darah) dan stenosis (penyempitan) pada pembuluh darah kecil atau besar yang menyebabkan kegagalan pengaliran darah. Kongesti yang paling umum terjadi adalah akibat kegagalan jantung (Afsar *et al.*, 2016).

Lesi pendarahan dapat diakibatkan oleh beberapa faktor di antaranya keracunan (toksisitas), kongesti yang parah dan gangguan elastisitas pembuluh darah (Pandir dan Pendarahan adalah keluarnya darah dari pembuluh darah yang secara patologis ditandai adanya sel darah merah diluar pembuluh darah atau dalam jaringan (Berata *et al.*, 2011). Pada kelompok perlakuan kombinasi ekstrak tapak dara dan wijayakusuma, paling sedikit ada gambaran perdarahan. Hal ini memperkuat dugaan bahwa kombinasi ekstrak tersebut bersifat sinergis atau tidak antagonis. Adanya sedikit lesi perdarahan, kemungkinan akibat patofisiologi hewan coba yang tidak sehat. Gambaran perdarahan dalam jaringan sering merupakan proses angiogenesis pada mekanisme kesembuhan luka (Orsted *et al.*, 2010; Velnar, *et al.*, 2009).

. Gambaran nekrosis pada penelitian ini tidak signifikan yang menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun tapak dara maupun wijayakusuma tidak bersifat toksik. Lesi nekrosis dapat diakibatkan oleh faktor toksisitas. Proses pendarahan yang tidak teratasi dapat menjadi faktor terjadinya nekrosis karena sel eritrosit yang mati bersifat sebagai benda asing bagi jaringan ginjal (Berata, *et al.*, 2011).

SIMPULAN

Pemberian kombinasi ekstrak daun tapak dara dan wijayakusuma konsentrasi 15% dalam vaselin menyebabkan perubahan berupa degenerasi melembak, kongesti, pendarahan dan nekrosis yang paling ringan pada ginjal marmut, dibandingkan pemberian tunggal.

SARAN

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang pemberian ekstrak daun tapak dara, wijayakusuma dan kombinasinya dengan lama waktu dan jumlah lesi yang lebih banyak, agar dapat diperoleh hasil yang lebih komprehensif.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih saya ucapkan kepada Kepala Laboratorium Bedah Veteriner, Laboratorium Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana, dan Balai Besar Veteriner Denpasar atas ijin penggunaan sarana dan prasarana sehingga penelitian ini dapat terselesaikan dengan baik.

DAFTAR PUSTAKA

- Afsar B, Ortiz A, Covic A, Solak Y, Goldsmith D, Kanbay M. 2016. Focus on renal congestion in heart failure. *Clin. Kidney. J.* 9(1): 39-47.
- Berata IK, Winaya IBO, Adi AAAM, Adnyana IBW. 2011. *Patologi Veteriner Umum*. Denpasar: Swasta Nulus. 236.
- Dandekar RB, Fegade VH, Bhaskar. 2015. GC-MS Analysis of Phytoconstituents in Alcohol Extract of *Epiphyllum oxypetalum* Leaves. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. 4(1): 149- 154.
- Elango V, Vallabi DE. 2015. Effect of *Ipomea obscura* Linn in Nephrotoxic Induced in Experimental Rats. *World Journal of Pharmaceutical Research*. 4:1641-1651.
- Hidayanto F, Ardi DS, Ilmi MZ, Sutopo IG, Religia AM, Millah FN, Sari YN, Zakiyya AN, Afifah YN. 2015. Tanaman Herbal sebagai Tanaman Hias dan Tanaman Obat. *J.Inovasi dan Kwirausahaan* 4(1): 1-4.
- Jha, V. 2010. Herbal medicines and chronic kidney disease. *Nephrology* 15(2010): 10-17.
- Kiernan JA. 2015. *Histological and Histochemical Methods: Theory and Practice 5th edition*. Scion Publishing, 571 p.
- Awal MA, Alam J, Kurohmaru M, Yabuki A, Matsumoto M. 2014. Sex Dependent Kidney Morphology of Guinea Pig – Light microscopy and immunohistochemical study. *International Journal of Innovation and Applied Studies*. 7(3): 920-928.
- Mradu G, Dalia B, Arup M. 2013. Studies of Anti-Inflammatory, Antipyretic and Analgesic Effect of Aqueous Extract of Traditional Herbal Drug on Rodents. *JInt Res Pharm*. 4(3):113- 120.
- Nayak, BS. 2006. *Cecropia peltata* L. (*Cecropiaceae*) Has wound healing potential — A preclinical study in Sprague Dawley Rat Model. *International journal of Lower extremity wounds*. 5: 20 -26.
- Orsted HL, Keast DK, Kuhnke J, Armstrong P. 2010. Best Practice Recommendations for the Prevention and Management of Open Surgical Wounds. *Wound Care Canada*. 8(1): 189-197.
- Preuss F, Fan JY, Kalive M, Bao S, Schuenemann E, Bjes ES, Price JL. 2004. Drosophila doubletime mutations which either shorten or lengthen the period of circadian rhythms decrease the protein kinase activity of casein kinase I. *Mol. Cell. Biol*. 24(2): 886-898.
- Rintelen KV, Arida E, Häuser C. 2017. A review of biodiversity-related issues and challenges in megadiverse Indonesia and other Southeast Asian countries. *Research Ideas and Outcome*. 3: 1-6.
- Rocca MS, Wehner NG. 2009. The guinea pig as an animal model for developmental and reproductive toxicology studies, *Birth Defects Res, B. Dev. Reprod. Toxicol*. 86(2): 92-97.

- Rupal J, Kaushal J, Mallikarjuna SC, Dipti P. 2010. Preparation and Evaluation of Topical Gel of Valdecoxib. *International J.Pharm Sci and Drug Res.* 2(1): 51-54.
- Salazar JH. 2014. Overview of Urea and Creatinine. *Laboratory Medicine* 45(1): 19-20
- Upendra RS, Khandelwal P. 2012. Assessment of Nutritive Values, Phytochemical Constituents and Biotherapeutic Potentials of *Epiphyllum oxypetalum*. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences.* 4(5): 1-5.