

Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Meniran Terhadap Histopatologi Limpa Tikus Wistar yang Mengalami Periodontitis Apikalis Kronis

(THE HISTOPATHOLOGY OF WISTAR RATS WITH CHRONIC APICAL PERIODONTITIS OR THE EFFECT OF GREEN MENIRAN LEAF ETHANOL EXTRACT)

**Maria Dolorosa Leta Bili¹,
Luh Made Sudimartini², I Made Merdana², Ni Kadek Eka Widiadnyani³**

¹Mahasiswa Sarjana Pendidikan Dokter Hewan,

²Laboratorium Fisiologi, Farmakologi, dan Farmasi Veteriner,
Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana,

³Departemen Konservasi, Program Studi Pendidikan Dokter Gigi,
Fakultas Kedokteran, Universitas Udayana,
Jl. Sudirman, Sanglah, Denpasar, Bali, Indonesia, 80234;
E-mail: md_sudimartini@unud.ac.id

ABSTRAK

Limpa merupakan organ yang mengkoordinasi sistem imun sehingga jika terjadi infeksi yang berkepanjangan akan berefek pada limpa. Salah satu penyakit yang menyerang limpa adalah periodontitis kronis yang terjadi akibat adanya inflamasi pada periapikal yang disebabkan oleh endotoksin bakteri *Enterococcus faecalis*. Sebagai upaya mencegah efek yang akan terjadi pada limpa maka dibutuhkan antibakteri, antioksidan, dan antiinflamasi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol daun meniran hijau (*Phyllanthus niruri* Linn) terhadap limpa tikus wistar yang mengalami periodontitis apikalis kronis yang diamati secara histopatologi. Penelitian menggunakan tikus wistar berjenis kelamin jantan sebanyak 48 ekor dan dibagi menjadi empat kelompok yang masing-masing terdiri atas 12 ekor. Kelompok kontrol negatif (K1) diinduksi bakteri *E. faecalis*. Kelompok kontrol positif (K2) diberikan kalsium hidroksida (Ca(OH)₂) dan klorheksidin diglukonat 2%, pada perlakuan K3 diberikan kalsium hidroksida (Ca(OH)₂) dan ekstrak etanol daun meniran hijau 10%, perlakuan K4 diberikan kalsium hidroksida (Ca(OH)₂), klorheksidin diglukonat 2% dan ekstrak etanol daun meniran hijau 10%. Perlakuan diberikan setelah tikus wistar dikondisikan mengalami periodontitis apikalis kronis. Pengambilan organ limpa berdasarkan lama waktu aplikasi pasta medikamen yaitu pada hari ke-7, 14, dan 21 untuk dibuat preparat histopatologi. Pengamatan histopatologi menunjukkan proliferasi terjadi hampir pada setiap perlakuan dan sedikit adanya sel yang mengalami deplesi. Analisis uji Kruskal-wallis didapatkan bahwa pada K1, K2, K3, dan K4 tidak terdapat perbedaan yang signifikan. Hal ini dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun meniran hijau tidak memengaruhi perubahan yang terjadi pada organ limpa, yaitu proliferasi dan deplesi sel limfoid pada tikus penderita periodontitis apikalis kronis.

Kata kunci: limpa; meniran; periodontitis apikalis kronis

ABSTRACT

An protracted infection will have an impact on the spleen since it is an organ system the immune system. One of the diseases that attack the spleen is chronic apical periodontitis caused by fibrosis of the periodontal ligament and periapical inflammation brought on by the bacterial endotoxin *Enterococcus faecalis*. Antibacterial, antioxidant, and anti-inflammatory medications are required in order to stop the effects on the spleen. The purpose of this study is to ascertain the impact of giving an ethanol extract of green meniran leaves (*Phyllanthus niruri* Linn) to wistar rats with histopathologically

confirmed chronic apical periodontitis in their spleens. 48 male wistar rats were utilized in the investigation; they were split into four groups of 12 each for the purpose of the experiment. *Enterococcus faecalis* bacteria caused the negative control group (K1). The positive control group (K2) received Ca(OH)₂ and 2% chlorhexidine digluconate, whereas treatment K3 received Ca(OH)₂ and 10% ethanol extract of green meniran leaves. Treatment K4 received Ca(OH)₂, 2% chlorhexidine digluconate, and 2% chlorhexidine digluconate as well. After inducing chronic apical periodontitis in the wistar rats, the therapy was given at random. In preparation to provide histopathology samples, spleen organs were taken on the seventh, fourteenth, and twenty-first days, respectively, depending on how long the medication paste had been applied. Histopathological findings show few depleted cells and that nearly all treatments resulted in cell proliferation. The K1, K2, K3, and K4 did not significantly differ, per the Kruskal-Wallis test analysis. Conclusion: In rats with chronic apical periodontitis, the ethanol extract of green meniran leaves had no effect on the alterations that take place in the spleen organ, specifically the proliferation and depletion of lymphoid cells.

Keywords: chronic apical periodontitis; meniran; spleen

PENDAHULUAN

Tanaman meniran hijau di Indonesia sudah lama dimanfaatkan oleh masyarakat dalam mengobati penyakit dan menjaga kesehatan tubuh. Berdasarkan penelitian fitokimia, meniran hijau mengandung metabolit sekunder yaitu flavonoid, alkaloid, terpenoid, saponin, tanin, steroid, dan minyak atsiri (Muharram dan Nur, 2009).

Periodontitis merupakan salah satu penyakit yang sering ditemukan pada kucing dan anjing. Penyakit ini juga didefinisikan sebagai penyakit infeksius pada jaringan periodonsium yang menyebabkan terjadinya peradangan dan kehancuran tulang alveolar gigi. Hal tersebut dapat didiagnosis berdasarkan pembentukan poket pada jaringan periodontal, *attachment loss*, dan peradangan pada gingiva (Kortegaard *et al.*, 2008). Periodontitis apikalis kronis terjadi dengan proses inflamasi yang berjalan lama dan lesi berkembang membesar tanpa adanya tanda atau gejala yang subjektif. Terjadinya inflamasi pada periodontitis apikalis kronis merupakan proses dinamis antara bakteri saluran akar dan produknya dengan mekanisme pertahanan tubuh (Colic *et al.*, 2009). Inflamasi kronis periapikal disebabkan oleh komponen endotoksin bakteri *Enterococcus faecalis* yang terlibat di daerah tersebut dan menyebabkan resorpsi tulang alveolaris (Velnar *et al.*, 2009). Resorpsi tulang alveolar dapat menyebabkan kehilangan perlekatan periodontal (Klaus, 1989).

Ketika terjadinya infeksi patogen, tubuh sudah dilengkapi dengan suatu sistem pertahanan tubuh yang di antaranya adalah sistem limfatik. Salah satu organ pertahanan tubuh dalam hal ini adalah limpa (Yanti *et al.*, 2019). Limpa berperan penting dalam mengkoordinasi respon imun dan memfiltrasi darah serta menyimpan zat besi untuk dimanfaatkan kembali dalam sintesis hemoglobin (Setiasih *et al.*, 2011). Limpa mengandung

banyak makrofag dan merupakan tempat pembentukan limfosit aktif dan antibodi. Sel limfosit yang berperan dalam imunitas spesifik akan berkumpul dan berproliferasi dalam *germinal center*. Organ limpa akan memberikan respon masuknya antigen asing ke dalam tubuh berupa penambahan diameter *germinal center* yang merupakan pusat maturasi limfosit (Rousey dan Wardoyo, 2018). Penyakit akut dan kronis akibat paparan bakteri dapat menyebabkan deplesi limfosit. Keberadaan bakteri pada jaringan limfoid dapat menyebabkan limfolisis pada *germinal center* dan dapat menyebabkan terjadinya deplesi limfosit (Fry dan McGavin, 2012).

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol daun meniran terhadap organ limpa tikus wistar yang mengalami periodontitis apikalis kronis yang diamati secara histopatologi.

METODE PENELITIAN

Ethical Clearance

Penelitian ini dilakukan setelah mendapatkan uji kelayakan dan persetujuan oleh Komisi Etik Hewan Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana dengan nomor sertifikat: 102/UN 14.2.9/PT.01.O4/2020.

Objek Penelitian

Objek yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus wistar (*Rattus norvegicus*) jantan sebanyak 48 ekor dengan berat badan berkisar 300-350 gram yang mengalami periodontitis apikalis kronis dan diterapi menggunakan medikamen kalsium hidroksida atau $\text{Ca}(\text{OH})_2$, ekstrak etanol daun meniran hijau (*Phyllanthus niruri* Linn), dan klorheksidin diglukonat 2%. Sampel berupa organ limpa tikus perlakuan pascaterapi periodontitis apikalis kronis pada hari ke-7, 14, dan 21 hari.

Bahan Penelitian

Ekstrak daun meniran hijau, serbuk kalsium hidroksida (Biodinamica[®], Quimica E Farmaceutica LTDA, Ibipora, Brasil), Klorheksidin diglukonat 2% (Cavity cleanser[®], Bisco Inc., Schaumburg, Amerika Serikat), *Glass Ionomer Cement* (GIC), etanol 70%, 80%, 90%, 96% dan absolut, ketamine HCl (Ketalar[®], Warner Lambert, Blanchardstown, Irlandia), bakteri *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212 PK/5, CPU/Loop: >10⁴). Product No. R4607030), kapas, akuabides, *normal buffer formaldehid* 10%, parafin, xylol, mayer-hematoxylin, dan entellan.

Peralatan Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain kandang tikus dengan ukuran 47 x 33 x 15 cm, *mixing pad*, spatula metal, semen spatula, pot organ, sarung tangan, gunting, pinset, gelas objek, spuit 1 mL, mikropipet, masker, mikroskop, dan kamera.

Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Meniran Hijau

Pembuatan ekstrak dilakukan dengan menggunakan metode maserasi yaitu dengan melakukan perendaman 300 g serbuk halus daun meniran hijau ke dalam bejana maserasi yang diberi larutan etanol dengan konsentrasi 96% sebagai pelarut dengan volume 1,5 L. Perendaman didiamkan pada suhu kamar (28-32°C) yang terlindung dari cahaya sampai tiga hari dan dilakukan pengadukan secara rutin setiap hari. Setelah tiga hari filtrat dipisahkan, residu kemudian diremaserasi kembali menggunakan 1,5 L etanol 96% selama tiga hari. Kemudian dilakukan pemisahan ampas dengan penyaringan yang diulang sampai tiga kali menggunakan kain kasa sehingga menghasilkan residu dan filtrat. Residu dibuang dan filtrat hasil ekstraksi cair yang diperoleh kemudian di evaporasi/pemekatan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 70°C, sehingga pelarut etanol menguap dan diperoleh ekstrak kental daun meniran hijau. Ekstrak kental daun meniran hijau dikeringkan di *freeze dryer* (-40°C) hingga diperoleh ekstrak kering daun meniran hijau.

Rancangan Penelitian

Penelitian eksperimental ini menggunakan rancangan secara acak dengan tes akhir dan kelompok kontrol (*randomized posttest only control group design*). Tikus wistar jantan sehat umur 24-25 minggu dengan bobot badan berkisar 300-350 g sebanyak 48 ekor diaklimatisasi selama satu minggu dalam kandang percobaan. Secara acak seluruh tikus dibagi menjadi empat kelompok perlakuan dengan masing-masing tiga sub kelompok sesuai waktu aplikasi pasta medikamen, sehingga tiap kelompok perlakuan terdiri atas 12 ekor tikus.

Seluruh tikus uji sengaja dibuat mengalami periodontitis apikalis kronis dengan induksi bakteri *Enterococcus faecalis* pada gigi molar pertama rahang atas kanan selama 21 hari. Untuk menginduksikan bakteri *E. faecalis*, gigi tikus dianestesi terlebih dahulu menggunakan ketamin HCl, kemudian dipasang *bite oklusal* pada rahang atas dan rahang bawah untuk memudahkan pada saat pengeboran. Preparasi kavitas di oklusal gigi menggunakan *diamond round bur* (diameter 0,84 mm) untuk membuka atap pulpa kavitas gigi sampai rongga pulpa terbuka. Selanjutnya, dilakukan induksi bakteri *E. faecalis* ke dasar rongga pulpa dengan jumlah 10⁹ CFU sebanyak 0,05 mL dalam *brain heart infusion* (BHIB) 10 µL menggunakan mikropipet (Fukada *et al.*, 2009). Kemudian kavitas ditutup dengan bahan restorasi GIC

selama 21 hari. Pada hari ke-22 semua tikus kelompok perlakuan medikamen dibuka GIC-nya dan diberikan perlakuan K1, K2, K3 dan K4, setelah itu ditutup kembali dengan menggunakan GIC untuk menghindari kontaminasi dari luar.

Tikus kelompok kontrol negatif (K1) merupakan kelompok yang hanya diinduksi bakteri *E. Faecalis* dan ditambal menggunakan GIC. Tikus kelompok kontrol positif (K2) diberikan medikamen kalsium hidroksida dan khlorhexidine diglukonat 2%. Tikus kelompok perlakuan K3 diberikan terapi medikamen kalsium hidroksida dan ekstrak etanol daun meniran hijau 10%. Tikus kelompok perlakuan K4 diberikan kombinasi medikamen kalsium hidroksida, ekstrak etanol daun meniran hijau 10%, dan khlorhexidine diglukonat 2%. Pengambilan 48 sampel limpa tikus putih jantan dilakukan secara bertahap pada masing-masing sub kelompok yaitu hari ke-7, 14, dan 21 dengan cara tikus di *euthanasia ether*. Setelah itu tikus dinekropsi menggunakan alat bedah steril lalu diambil organ limpa dan dimasukkan dalam larutan fiksasi menggunakan *neutral buffer formalin* 10%.

Hasil pengambilan sampel limpa dibuat menjadi preparat histopatologi untuk dilakukan pemeriksaan organ limpa secara mikroskopis. Limpa yang diperiksa secara histopatologi dengan pembesaran 100 kali dan 400 kali pada lima lapang pandang yang berbeda berdasarkan adanya proliferasi dan deplesi folikel limfoid dengan skor 0= tidak ada lesi, skor 1= ringan, skor 2= sedang, skor 3= banyak.

Tabel 1. Rancangan penelitian dan jumlah sampel tikus wistar periodontitis apikalis kronis

Kelompok Perlakuan	Lama Aplikasi Medikamen			Total (ekor)
	7 hari	14 hari	21 hari	
K1: Kontrol negatif	4	4	4	12
K2: Ca(OH) ₂ + Khlorhexidine diglukonat 2%	4	4	4	12
K3: Ca(OH) ₂ + Ekstrak etanol daun meniran hijau 10%	4	4	4	12
K4: Ca(OH) ₂ + Khlorhexidine diglukonat 2% + Ekstrak etanol daun meniran hijau 10%	4	4	4	12

Analisis Data

Pengaruh pemberian ekstrak etanol daun meniran hijau terhadap histopatologi limpa tikus wistar yang mengalami periodontitis apikalis kronis dianalisis dengan uji statistika nonparametrik Kruskal-Wallis. Jika ada perubahan nyata ($P < 0.05$), uji dilanjutkan dengan uji Mann-Whitney. Dari hasil pengamatan histopatologi limpa dikumpulkan dan dianalisis menggunakan program komputer SPSS (*Statistical Product and Service Solutions*) (Sampurna dan Nindhia, 2019).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tabel 1. Hasil pemeriksaan histopatologi limpa tikus putih wistar kategori proliferasi pada semua kelompok perlakuan

Perlakuan	Hari	Kategori tingkat patologi (n=48)			
		Normal/tidak ada perubahan (0)	Proliferasi sedikit (1)	Proliferasi sedang (2)	Proliferasi banyak (3)
K1	7	-	4	-	-
	14	-	3	1	-
	21	-	2	2	-
K2	7	-	3	1	-
	14	-	2	2	-
	21	-	1	3	-
K3	7	-	-	3	1
	14	-	-	3	1
	21	-	-	1	3
K4	7	-	-	1	3
	14	-	-	3	1
	21	-	-	2	2

Tabel 2. Hasil pemeriksaan histopatologi limpa tikus putih wistar kategori deplesi pada semua kelompok perlakuan

Perlakuan	Hari	Kategori tingkat patologi (n=48)			
		Normal/tidak ada perubahan (0)	Deplesi ringan (1)	Deplesi sedang (2)	Deplesi berat (3)
K1	7	-	2	2	-
	14	-	3	1	-
	21	-	2	2	-
K2	7	-	4	-	-
	14	-	3	1	-
	21	-	4	-	-
K3	7	3	1	-	-
	14	3	1	-	-
	21	2	2	-	-
K4	7	3	1	-	-
	14	4	-	-	-
	21	4	-	-	-

Keterangan: K1: kontrol negatif

K2: kontrol positif (kalsium hidroksida dan klorheksidin diglukonat 2%)

K3: kalsium hidroksida dan ekstrak etanol daun meniran hijau 10%

K4: kalsium hidroksida, klorheksidin diglukonat 2% dan ekstrak etanol daun meniran hijau 10%

Tabel 3. Hasil analisis deskriptif skor deplesi dan proliferasi sel limfoid organ limpa pada setiap perlakuan

Perlakuan	Rerata ± Std. Deviasi	
	Proliferasi	Deplesi
K1	1,25±0,452	1,50±0,522
K2	1,50±0,522	1,08±0,289
K3	2,42±0,515	0,50±0,522
K4	2,50±0,522	0,50±0,522

Keterangan: K1: kontrol negatif

K2: kontrol positif (kalsium hidroksida dan klorheksidin diglukonat 2%)

K3: kalsium hidroksida dan ekstrak etanol daun meniran hijau 10%

K4: kalsium hidroksida, klorheksidin diglukonat 2% dan ekstrak etanol daun meniran hijau 10%

Tabel 3 menunjukkan rata-rata dan standar deviasi kerusakan limpa tikus wistar, kategori proliferasi dan deplesi sel limfoid. Data tersebut menyatakan bahwa pada perlakuan K2, K3, dan K4 mengalami perubahan proliferasi dengan perbedaan rata-rata yang tidak signifikan atau mendekati rata-rata K1 yang merupakan kontrol negatif. Rata-rata dan standar deviasi kategori deplesi menunjukkan bahwa pada perlakuan K2, K3, dan K4 mengalami perubahan deplesi dengan perbedaan rata-rata yang tidak signifikan atau mendekati rata-rata K1 yang merupakan kontrol negatif.

Tabel 4. Analisis Kruskal Wallis

Perlakuan	Nilai signifikansi	
	Proliferasi	Deplesi
K1	0,295	0,400
K2	0,400	0,368
K3	0,284	0,400
K4	0,400	1,000

Keterangan: K1: kontrol negatif

K2: kontrol positif (kalsium hidroksida dan klorheksidin diglukonat 2%)

K3: kalsium hidroksida dan ekstrak etanol daun meniran hijau 10%

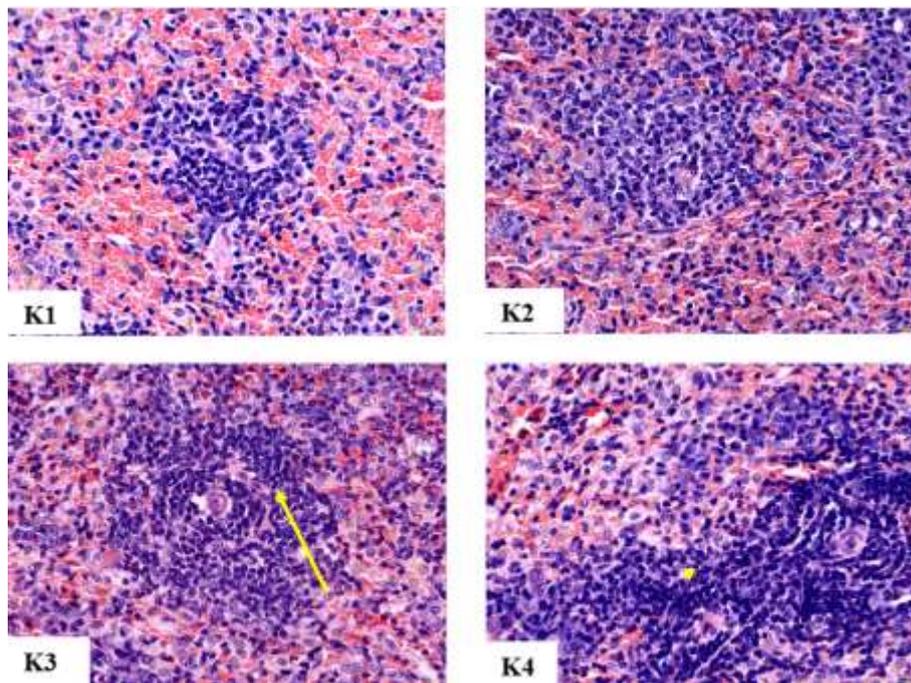
K4: kalsium hidroksida, klorheksidin diglukonat 2% dan ekstrak etanol daun meniran hijau 10%

Analisis statistika uji Kruskal Wallis pada pengaruh pemberian ekstrak etanol daun meniran hijau terhadap histopatologi limpa tikus wistar yang mengalami periodontitis apikalis kronis pada keempat perlakuan yaitu K1 (Kontrol negatif), kontrol positif (K2), kalsium hidroksida, ekstrak etanol daun meniran 10% (K3), serta kalsium hidroksida, klorheksidin diglukonat 2%, dan ekstrak etanol daun meniran 10% (K4) terhadap proliferasi dan deplesi menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan nyata ($P > 0.05$). Hal ini menjelaskan bahwa derajat proliferasi dan deplesi limpa tikus wistar pada perlakuan K2, K3, dan K4 hampir sama atau mendekati perlakuan K1.

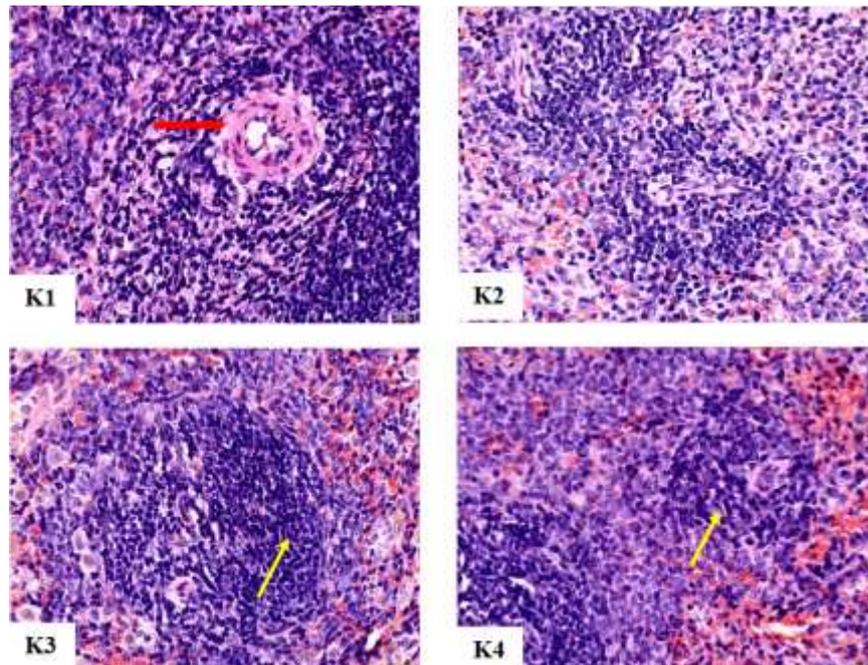
Hasil analisis di atas menunjukkan bahwa pada perlakuan menggunakan ekstrak etanol daun meniran hijau memiliki respons proliferasi sel limfoid yang sama dengan perlakuan tanpa diberikan ekstrak etanol daun meniran hijau. Begitupun pada deplesi sel limfoid, perlakuan menggunakan ekstrak etanol daun meniran hijau mengalami perubahan yang hampir sama dengan perlakuan tanpa diberikan ekstrak etanol daun meniran. Dari hal tersebut dapat disimpulkan bahwa ekstrak meniran tidak berpengaruh terhadap respons proliferasi dan deplesi sel limfoid.

Pengamatan histopatologi

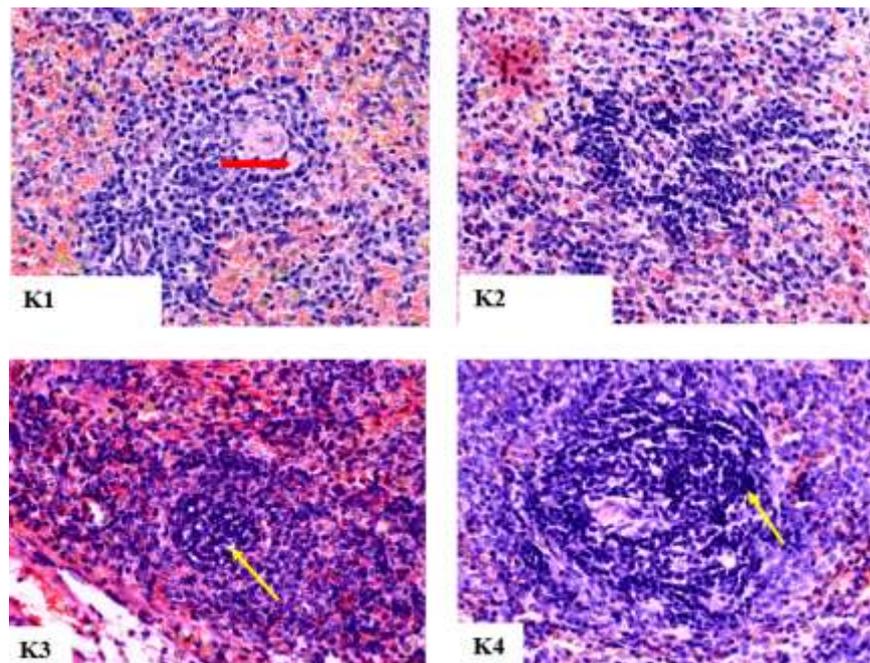
Hasil pengamatan histopatologi limpa tikus wistar yang diperoleh dari pengamatan preparat dengan lima lapang padang pada setiap kelompok perlakuan. Pemeriksaan dilakukan dengan pengamatan perbesaran 100 kali dan 400 kali dengan perubahan histopatologi yang diperiksa adalah adanya proliferasi sel limfoid dan deplesi pada organ limpa.



Gambar 1. Histopatologi limpa tikus putih hari ke-7. K1: Kontrol negatif, K2: Kontrol positif (Kalsium Hidroksida dan Klorheksidin Diglukonat 2%), K3: Kalsium Hidroksida dan Ekstrak etanol daun meniran hijau 10%, K4: Kalsium Hiroksida, Klorheksidin diglukonat 2% dan ekstrak etanol daun meniran hijau 10% (HE, 400x). Tanda panah kuning menunjukkan terjadi proliferasi sel limfoid, deplesi tidak terlihat pada gambar.



Gambar 2. Histopatologi limpa tikus putih hari ke-14. K1: Kontrol negatif, K2: Kontrol positif (Kalsium Hidroksida dan Klorheksidin Diglukonat 2%), K3: Kalsium Hidroksida dan Ekstrak etanol daun meniran hijau 10%, K4: Kalsium Hiroksida, Klorheksidin diglukonat 2% dan ekstrak etanol daun meniran hijau 10% (HE, 400x). Tanda panah kuning menunjukkan terjadi proliferasi sel limfoid, tanda panah merah menunjukkan deplesi ringan pada sel limfoid.



Gambar 3. Histopatologi limpa tikus putih hari ke-21. K1: Kontrol negatif, K2: Kontrol positif (Kalsium Hidroksida dan Klorheksidin Diglukonat 2%), K3: Kalsium Hidroksida dan ekstrak etanol daun meniran hijau 10%, K4: Kalsium Hiroksida, Klorheksidin diglukonat 2% dan ekstrak etanol daun meniran hijau 10% (HE, 400x). Tanda panah kuning menunjukkan terjadi proliferasi sel limfoid, tanda panah merah menunjukkan deplesi ringan pada sel limfoid.

Hasil pemeriksaan histopatologi dan analisis statistik Kruskal-Wallis pada penelitian gambaran histopatologi limpa tikus putih yang mengalami periodontitis apikalis kronis setelah pemberian ekstrak etanol daun meniran hijau mengalami perubahan yang tidak signifikan ($P > 0,05$) dan menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun meniran hijau tidak berpengaruh terhadap perubahan sel-sel limfoid baik deplesi maupun proliferasi. Hasil pengamatan yang dilakukan didasarkan pada adanya proliferasi dan deplesi sel limfoid pada pulpa putih organ limpa. Limpa terlibat dalam respon kekebalan humoral maupun seluler melalui perannya pada perbanyakan, pendewasaan, dan penyimpanan limfosit. Dilihat dari hasil ini pada perlakuan kontrol negatif yang tidak diberi perlakuan menunjukkan sedikit perubahan pada pulpa putih yang ditandai dengan adanya deplesi yang bersifat sedang atau multifokal. Deplesi sel limfoid pada tikus putih disebabkan oleh karena adanya endotoksin bakteri pada organ limpa yang dapat memicu terjadinya immunosupresi atau berkurangnya kapasitas sistem kekebalan tubuh untuk merespons benda asing secara efektif yang dilihat dengan menyusutnya sel-sel limfoid pada pulpa putih. Ketika organ limpa mengalami immunosupresi maka limfosit dan folikel limfoid mengalami deplesi. Kondisi immunosupresi dapat membuat tikus mudah terpapar penyakit dan meningkatkan resiko kematian tikus. Beberapa faktor yang dapat menyebabkan deplesi limfosit adalah pemberian steroid, penyakit akut dan kronis akibat paparan virus, bakteri, jamur, infeksi parasit, bahan-bahan kimia yang mengandung toksin, malnutrisi, hipovitaminosis A, dan stres akibat manajemen kandang yang tidak baik (Sasaki dan John, 2007).

Proliferasi pada penelitian ini hampir terjadi pada semua kelompok perlakuan. Pada kelompok kontrol negatif terjadi proliferasi yang lebih sedikit dibanding dengan kelompok perlakuan yang lain. Proliferasi limfosit merupakan penanda adanya fase aktivasi dari respons imun tubuh. Proliferasi limfosit ini berupa peningkatan produksi limfoblas yang kemudian menjadi limfosit. Aktivitas limpa dalam menghasilkan sel limfosit pada saat terjadi respons imun dapat mengakibatkan pembesaran limpa. Pembesaran limpa bisa disebabkan karena peningkatan respon imun tubuh. Peningkatan respon imun dapat terjadi karena adanya infeksi maupun setelah imunisasi atau adanya gangguan sirkulasi maupun tumor.

Pemberian ekstrak etanol daun meniran hijau pada tikus yang mengalami periodontitis apikalis kronis dapat meningkatkan produksi sel limfoid yang ditandai dengan terjadinya proliferasi, tetapi proliferasi pada penelitian ini hampir terjadi pada setiap tikus hal ini menandakan respons imun tubuh tikus yang diinfeksi bakteri *E. faecalis* sangat bagus dalam merespon infeksi patogen, proliferasi meningkat pada perlakuan yang diberikan CaOH_2 dan

ekstrak etanol daun meniran hijau 10% (K3), dan yang diberikan CaOH_2 , klorheksidin diglukonat 2%, dan ekstrak etanol daun meniran 10% (K4).

Ekstrak etanol daun meniran yang diberikan melalui intrakanal akan diserap pada saluran intrakanal gigi dan disebarkan ke seluruh organ melalui siklus peredaran darah. Meniran hijau berfungsi sebagai antibakteri, antiinflamasi dan sebagai antioksidan sehingga pemberian meniran ini akan membunuh bakteri *E. faecalis* pada saluran akar gigi dan dapat mencegah terjadinya stres oksidatif. Stres oksidatif ini terjadi karena adanya radikal bebas yang merupakan sekelompok senyawa kimia baik berupa atom atau molekul yang memiliki elektron tidak berpasangan pada lapisan terluarnya (Droge, 2002). Sehingga limpa yang telah diberikan perlakuan daun meniran hijau akan terhindar dari stres oksidatif dan akan adanya peningkatan kerja yang mengakibatkan akan adanya peningkatan sel B pada pulpa putih. Kandungan dari daun meniran yang berfungsi sebagai antioksidan adalah flavonoid.

Secara histopatologi peningkatan sistem imun dapat diketahui dengan cara melihat jumlah peningkatan sel limfoid pada limpa. Pada tikus yang diberikan perlakuan ekstrak etanol daun meniran hijau terjadi hiperplasi folikel limfoid dan dalam kondisi reaktif. Bertambahnya luas folikel ini menandakan adanya sel B yang siap melakukan aktivitas dalam sistem imun tubuh tikus. Zat aktif utama yang dapat meningkatkan sistem imun tikus adalah flavonoid yang terkandung dalam meniran. Selain itu flavonoid juga berperan sebagai antioksidan yang mampu mencegah stres oksidatif pada tikus sehingga kondisi kesehatan tikus menjadi lebih baik (Mansour *et al.*, 2002). Mekanisme kerja dari flavonoid sebagai antioksidan bisa secara langsung maupun secara tidak langsung. Flavonoid sebagai antioksidan secara langsung adalah dengan mendonorkan ion hidrogen sehingga dapat menetralkan efek toksik dari radikal bebas, yang mana flavonoid merupakan golongan dari senyawa fenol. Flavonoid sebagai antioksidan secara tidak langsung yaitu dengan meningkatkan ekspresi gen antioksidan endogen melalui beberapa mekanisme. Kandungan flavonoid yang terdapat pada meniran hijau berfungsi sebagai antioksidan melalui mekanisme penghambatan dari pelepasan histamin yang nantinya akan mereduksi nilai *cyclic Adenosine Monophosphate* (cAMP) (Abdel-Sater, 2009). Stres oksidatif memicu kenaikan cAMP intraseluler yang menyebabkan penekanan sistem imun, contohnya dengan menghambat proliferasi limfosit dan antibodi (Glaser *et al.*, 1990). Adanya kandungan flavonoid pada meniran hijau sehingga dapat menghambat pelepasan histamin yang menyebabkan terjadinya proliferasi limfosit pada organ limpa. Proliferasi sel limfosit pada organ limpa tikus dapat menyebabkan adanya perluasan pada pulpa putih.

SIMPULAN

Pemberian ekstrak etanol daun meniran hijau pada tikus penderita periodontitis apikalis kronis tidak berpengaruh terhadap organ limpa yang diamati secara histopatologi dengan melihat proliferasi dan deplesi sel limfoid.

SARAN

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai pengaruh pemberian ekstrak etanol daun meniran hijau terhadap organ limpa tikus wistar yang mengalami periodontitis apikalis kronis. Penelitian dapat dilanjutkan dengan metode yang lebih baik dalam pengujian respon meniran terhadap bakteri yang dapat menyebabkan deplesi pada sel limfoid organ limpa.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Balai Besar Veteriner Denpasar, Laboratorium Patologi Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan, *Animal Laboratory Unit* Departemen Farmakologi dan Terapi Universitas Udayana, serta semua pihak yang telah membantu dalam penyelesaian penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdel-Sater KA. 2009. Gastroprotective effects of *Nigella sativa* oil on the formation of stress gastritis in hypothyroidal rats. *International Journal of Physiology, Pathophysiology, Pharmacology* 1: 143-149.
- Colic M, Gazivoda D, Vučević V, Vasilije S, Rudolf R, Lukic A. 2009. Proinflammatory and Immunoregulatory Mechanisms in Periapical Lesions. *Journal of Molecular Immunology* 47: 101-113.
- Droge W. 2002. Free Radicals in the Physiological Control of Cell Function. *Journal of Psychology. Physiol Rev* 82: 161-164.
- Fukada SY, Silva TA, Saconato LF, Garlet GP, Campos MJA, Silva JS, Cunha FQ. 2009. iNOS-Derived Nitric Oxide Modulates Infection Stimulated Bone Loss. *Journal of Dental Research* 87(12): 1155-1160.
- Fry MM, McGavin MD. 2012. *Bone Marrow, Blood Cells, and Lymphatic System*. Pathologic Basis of Veterinary Disease. 5th ed. St Louis: Mosby Elsevier. Hlm. 698-770.
- Glaser R, Susan K, William PL, Robert HB. 1990. Physiological Stress-Induced Modulation of Interleukin 2 Receptor Gene Expression and Interleukin 2 Production in Peripheral Blood Leukocytes. *Archives of General Psychiatry* 47(8): 707-12.
- Klaus H. 1989. *Color Atlas of Dental Medicine 1: Periodontology*. 2nd ed. New York: Thieme Medical Publisher Inc. Hlm. 3-4
- Kortegaard HE, Eriksen T, Baelum V. 2008. Periodontal Disease in Research Beagle Dogs – An Epidemiological Study. *Journal of Small Animal Practice* 49: 610-616.

- Muharram, Nur JB. 2009. Isolasi dan Identifikasi Sterol dari Ekstrak n-heksana Daun Meniran Hijau *Phyllanthus niruri* L. (Euphorbiaceae). *Jurnal Biologi* 10(2): 50-55.
- Mansour MA, Nagi MN, El-Khatib AS, AL-Bekairi AM. 2002. Effects of Thymoquinone On Antioxidant Enzyme Activities, Lipid Peroxidation and DT-diaphorase in Different Tissues of Mice: A Possible Mechanism of Action. *Cell Biochem Funct* 20: 143-151.
- Rousey DW, Wardoyo ERP. 2018. Histologi Limpa dan Hematologi Mencit yang Diinfeksi *Eschericia coli* Setelah Pemberian Asam Humat Gambut Kalimantan. *Jurnal Bioteknologi dan Biosains Indonesia* 5(2): 168.
- Sasaki M, dan John T. 2007. Oxidative Stress and Ischemia Reperfusion Injury in Gastrointestinal Tract and Antioxidant Protective Agents. *Journal of clinical biochemistry and nutrition* 40(1): 1-12.
- Setiasih NLE, Suwiti NK, Suastika P. 2011. Studi Histologi Limpa Sapi Bali. *Buletin Veteriner Udayana* 3(1): 9-15.
- Sampurna PI, Nindhia T.S. 2019. *Analisis Data dengan SPSS Dalam Statistika*. 1st ed. Denpasar, Indonesia: Puri Bagia. Hlm. 101-104.
- Velnar, Bailey T, Smrkolj V. 2009. The Wound Healing Proses: an Overview of Cellular and Molecular Mechanism. *The Journal of International Medical Research* 37(5): 1528-42.
- Yanti TU, Suwiti NK, Setiasih NLE. 2019. Gambaran Histologi dan Histomorfometri Limpa Kambing Peranakan Etawah. *Buletin Veteriner Udayana* 11(2): 121-127.