

Uji Antiinflamasi Infusa Bunga Seroja (*Nelumbo nucifera* Gaertn) Pada Struktur Mikroanatomi Ginjal Mencit (*Mus musculus*) yang Mengalami Stres

Yuniarti¹, Diah Wulandari Rousdy¹, Rahmawati¹

¹Program Studi Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Tanjungpura, Jl. Prof. Dr. H. Hadari Nawawi, Pontianak
 email korespondensi: yuniarti.alfi89@yahoo.co.id

Abstract

Lotus (*Nelumbo nucifera* Gaertn) is an aquatic plant that contains various kinds of phytochemical compounds, one of which is quercetin that has the potentiality to suppress inflammation. The aim of this research was to observe the anti-inflammation effect of Lotus infused water on kidneys mikroanatomical structure of mice (*Mus musculus*). The test subjects used in this research were 2 months old male swiss strain mice. This research utilized the completely randomized design (CRD) with 5 treatments and 3 replication each. The treatments groups were the given Lotus infused water orally consist of 5,6 mg/g BW, 8,4 mg/g BW and 11,2 mg/g BW dosages for 7 days, the normal control groups and the negatif control groups. Kidney mikroanatomical preparations were made using paraffin method with HE coloring. The result of this research show this research shows that stressing the mice may affect their kidneys mikroanatomical structure in forms of cell swelling (edema), hidropic degenerations, necrosis, and atrophy. The consumptions of Lotus infused water can suppress the inflammation on kidneys mikroanatomical structure of mice. The changes on kidneys tubulus and glomerulus of mice may start to be visible on the consumption of 5,6 mg/g BW dosage of infused water.

Keywords : anti-inflammation, Lotus infused water, mikroanatomi, kidneys, stress

PENDAHULUAN

Setiap organisme mempunyai kemampuan homeostatis terhadap perubahan lingkungan. Perubahan lingkungan dapat bersifat membahayakan jika intensitas stimulus berada diluar kemampuan toleransi tubuh. Respons stress mempunyai cakupan yang luas seperti perubahan protein dan gen, imunitas, saraf, hormonal dan perubahan perilaku (Tort, 2011).

Inflamasi atau peradangan merupakan suatu respon utama sistem kekebalan tubuh terhadap iritasi atau infeksi. Keadaan ini bukan merupakan suatu penyakit namun merupakan upaya pertahanan tubuh untuk menghilangkan infeksi (Pringgoutomo & Sudarto, 2002). Inflamasi dapat menyebabkan pembengkakan, kemerahan, panas, nyeri, dan terganggunya fungsi fisiologis (Mycek dkk, 2001). Inflamasi tidak hanya terjadi pada organ luar namun dapat juga berpengaruh pada organ dalam hewan, misalnya ginjal. Ginjal merupakan organ yang berfungsi sebagai tempat terakhir dalam memfiltrasi dan mensekresi hasil metabolisme tubuh (Suyanti, 2008).

Bunga seroja mengandung beberapa senyawa kimia yaitu *quercetin*, *luteolin*, *isoquercitrin* dan *kaempferol* (Mehta dkk, 2013). Quercetin adalah antioksidan yang paling kuat di antara kelompok senyawa polifenol dan termasuk senyawa flavonoid. *Quercetin* merupakan pigmen tanaman berperan sebagai pemberi warna pada buah, bunga dan sayur. *Quercetin* bermanfaat bagi kesehatan misalnya sebagai antihistamin (alergi) dan mengurangi inflamasi (peradangan). *Quercetin* juga merupakan antioksidan yang dapat menetralkan radikal bebas dan mencegah kerusakan sel (Mehta dkk, 2013).

BAHAN DAN METODE

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini telah dilaksanakan selama 2 (dua) bulan dimulai bulan November sampai bulan Desember 2014. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Zoologi dan Laboratorium Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Tanjungpura Pontianak.

Cara kerja

Pembuatan Simplisia

Bunga seroja segar diambil dan dipisahkan bagian mahkotanya kemudian dicuci dengan air. Setelah dicuci kelopak bunga seroja dikeringanginkan selama 3 hari. Setelah kering dilakukan perajangan untuk mendapatkan simplisia dengan ukuran yang kecil seperti serbuk.

Pembuatan Infusa Bunga Seroja

Proses pembuatan infusa menggunakan panci infus (panci bertingkat). Panci pada bagian bawah diisi air sebanyak 1 liter dan panci pada bagian atas diisi air sebanyak 300 ml kemudian dipanaskan hingga suhu air pada panci bagian atas mencapai 90°C. Setelah itu simplisia dimasukkan kedalam panci pada bagian atas dan proses perebusan dimulai. Perebusan dilakukan selama 15 menit dan selama proses perebusan air infusa diaduk sesekali, lalu disaring selagi suhunya panas dengan menggunakan kertas saring. Jika volume infusa berkurang, maka ditambahkan air panas melalui ampas sehingga volumenya kembali seperti semula. Infusa dimasukkan kedalam botol dan disimpan di dalam lemari pendingin (Direktorat AOI, 2010).

Persiapan Hewan Uji

Hewan uji yang digunakan dalam penelitian yaitu mencit jantan sebanyak 15 ekor dengan berat berkisar 23 gram atau berumur 2 bulan. Hewan uji diaklimasi selama 7 hari dengan menggunakan kandang berukuran 40x30x30 cm pada suhu ruangan 26 - 32 °C. Selama aklimasi mencit diberi makan serta minum (Vogel, 2002).

Rancangan Percobaan

Rancangan penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 5 perlakuan dan 3 kali ulangan. Kelompok perlakuan terdiri dari kontrol normal yaitu hewan uji tidak diberi perlakuan stres berupa perenangan dan puasa dan infusa mahkota bunga seroja, kontrol negatif yaitu hewan uji diberi perlakuan stres tapi tidak diberi infusa bunga seroja. P1, P2, dan P3 yaitu hewan uji yang diberi perlakuan stres dan di beri infusa bunga seroja dengan dosis masing- masing 5,6 mg/g BB, 8,4 mg/g BB dan 11,2 mg/g BB.

Proses Inflamasi (Stres) dan Uji Antiinflamasi

Perlakuan stres dilakukan selama 5 hari dengan cara puasa (tidak diberi pakan), tetapi diberi air minum serta dilakukan perenangan selama ±5 menit setiap hari (Wresdiyati, 2003). Setelah

perlakuan stres selesai dilakukan, hewan uji diberi infusa secara oral dengan dosis sesuai masing-masing kelompok perlakuan. Pemberian infusa bunga seroja dilakukan secara oral sebanyak satu kali setiap hari selama seminggu.

Pembuatan Preparat Ginjal Mencit (*M. musculus*)

Setelah perlakuan selesai, mencit diambil organ ginjalnya kemudian difiksasi dengan formalin 4%, selanjutnya dibuat preparat mikroanatomi dengan metode parafin dan pewarnaan Hematoxylin-Eosin.

Uji Fitokimia

Uji Terpenoid

Larutan infusa sebanyak 2 ml dipindahkan kedalam lempeng tetes, lalu di tambahkan 3 tetesasetat anhidrida dan dua tetes H₂SO₄ pekat. Reaksi positif ditunjukkan adanya perubahanwarna merah atau ungu sedangkan reaksi negatiftidak menunjukkan perubahan warna merah atau ungu sedangkan reaksi negatif tidak menunjukkan perubahan warna tersebut (Kadarisman, 2000).

Uji Flavonoid

Satu ml larutan infusa ditambahkan 10 tetes H₂SO₄. Diamati perubahan warna yang terjadi dalam waktu 2-5 menit. Reaksi positif flavonoid ditunjukkan terbentuknya warna merah sedangkan reaksi negatif tidak terbentuk adanyawarna merah (Sutisna, 2000).

Uji Saponin

Dua ml larutan infusa ditambahkan lima ml airpanas, lalu dikocok selama 2 menit. Setelah ituditambahkan 2 tetes HCl pekat dan dikocok lagi. Uji positif ditunjukkan oleh terbentuknya busapermanen ± 15 menit sedangkan uji negatif tidakterbentuk adanya busa (Darwis, 2000).

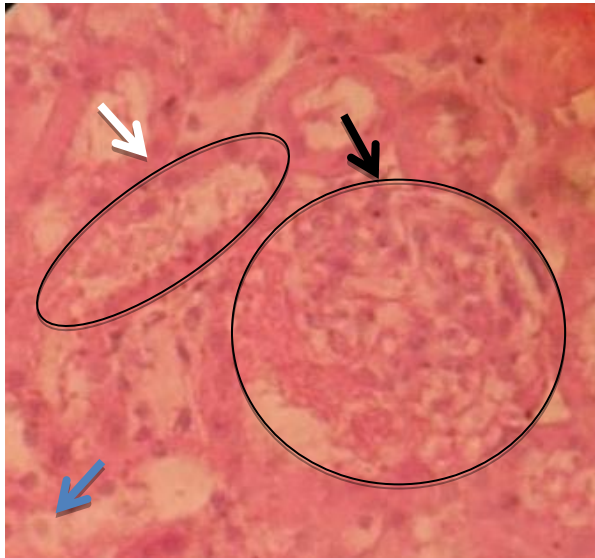
Uji Tanin

Satu ml larutan infusa ditambahkan 10 tetes larutan besi (III) klorida 10 %. Jika terjadi perbahan warna biru tua atau hitam kehijauan menunjukkan adanya tanin (Darwis, 2000).

HASIL DAN PEMBAHASAN

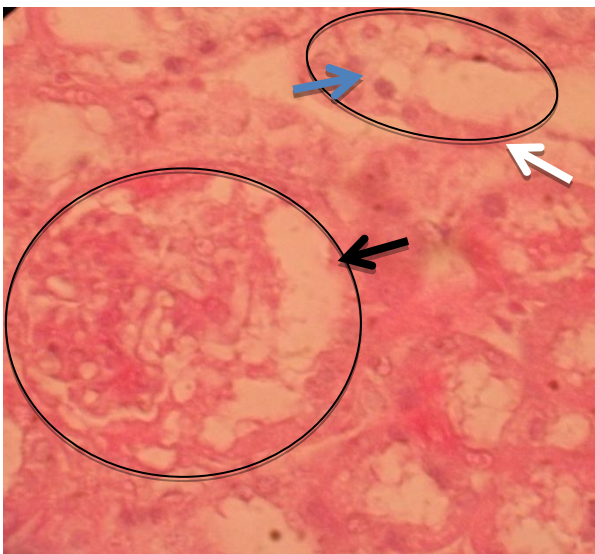
Hasil

Sel ginjal yang normal pada kontrol normal dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Sel ginjal mencit yang normal kelompok kontrol normal (HE 1000x). Keterangan: glomerulus normal (panah hitam), tubulus normal (panah putih), degenerasi hidrofik (panah biru)

Sel ginjal rusak pada kontrol negatif ditemukan adanya atrofi pada glomerulus dan degenerasi hidrofik pada tubulus yang dapat dilihat pada gambar 2

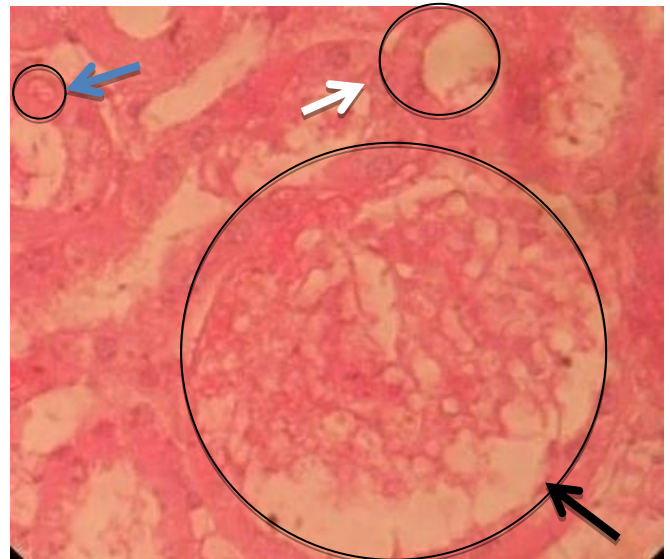


Gambar 2. sel ginjal mencit yang rusak kelompok kontrol negatif (HE 1000x). Keterangan: glomerulus atrofi (panah hitam), tubulus (panah putih), degenerasi hidrofik (panah biru)

Struktur Mikroanatomi Ginjal

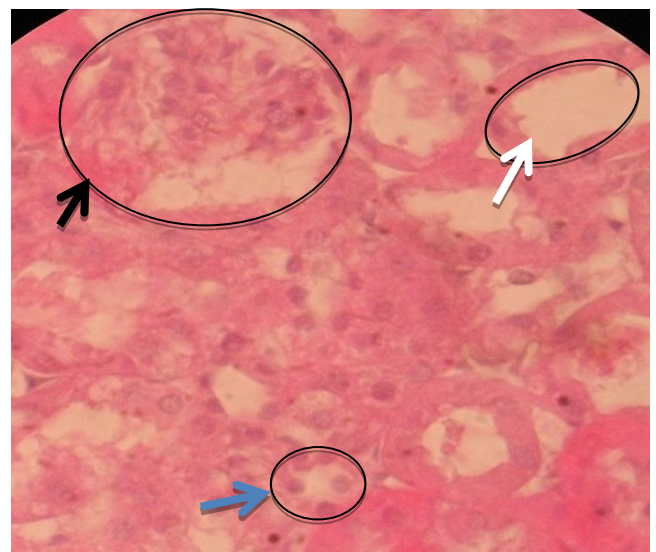
Perlakuan dosis 5,6 mg/g BB ditemukan glomerulus yang mengalami atrofi (penyusutan) sehingga ruang Bowman tampak membesar (panah hitam). Selain itu sel tubulus juga mengalami nekrosis yang ditandai dengan inti sel

yang menghilang (kariolisis) yang ditunjukkan oleh tanda panah biru (Gambar 3).



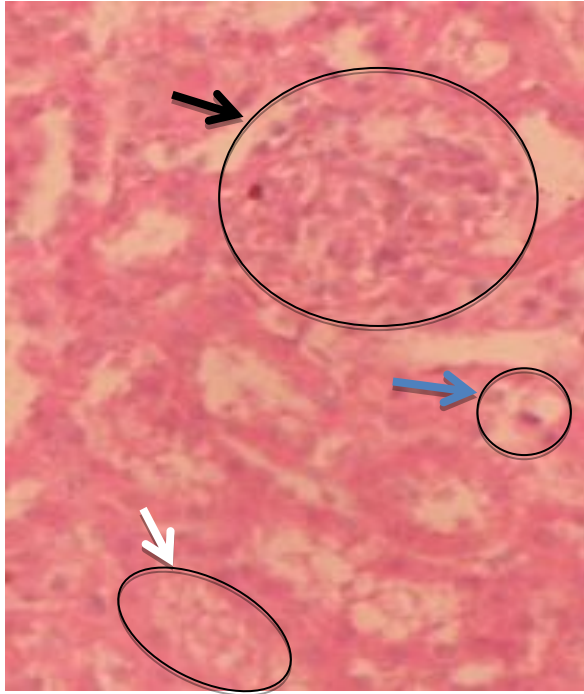
Gambar 3. Struktur mikroanatomi ginjal mencit yang diberikan dosis 5,6 mg/g BB (Perbesaran 1000x). Pewarnaan HE. Keterangan: Glomerulus yang mengalami atrofi (panah hitam), tubulus yang mengalami nekrosis (panah putih), degenerasi hidrofik (panah biru)

Perlakuan dengan dosis 8,4 mg/g BB ditemukan tubulus yang mengalami degenerasi hidrofik yaitu terdapatnya vakuola seperti yang ditunjukkan panah putih pada Gambar 4. Tubulus nekrosis dan glomerulus atrofi juga masih tampak pada perlakuan ini.



Gambar 4. Struktur mikroanatomi ginjal mencit yang diberikan dosis 8,4 mg/g BB (HE 1000x) Keterangan: glomerulus atrofi (panah hitam), tubulus (panah putih) dan degenerasi hidrofik (panah biru)

Perlakuan dengan dosis 11,2 mg/g BB ditemukan tubulus yang mengalami degenerasi hidrofik ditandai dengan adanya vakuola pada sel (panah biru dan glomerulus normal (panah hitam)



Gambar 5. Struktur mikroanatomi ginjal mencit pada pemberian infusa bunga seroja dengan dosis 11,2 mg/g BB (HE 1000x). Keterangan Glmerulus normal (panah hitam), tubulus normal (panah putih) dan degenerasi hidrofik (panah biru)

Pembahasan

Berdasarkan Gambar 1 dan Gambar 2 dapat dilihat perbandingan antara sel epitel tubulus ginjal mencit yang rusak dan sel ginjal yang normal. Sel epitel penyusun tubulus normal berbentuk kubus selapis dengan inti sel besar dan bulat pada bagian tengah sel. Lumen tubulus tampak lebih rapat karena lapisan *brush border* pada epitel tubulus masih tampak utuh (Gambar 1) sedangkan ginjal mencit yang rusak akibat perlakuan stres memiliki bentuk sel yang tidak beraturan dengan inti yang menghilang, lumen tubulus tampak melebar (berdilatasi) disebabkan rusaknya lapisan *brush border* pada epitel tubulus (Gambar 2).

Berdasarkan gambar tersebut dapat dilihat bahwa perlakuan stres memberikan pengaruh terhadap kondisi jaringan ginjal mencit. Jaringan ginjal pada mencit yang mengalami stress ditandai dengan adanya nekrosis dan degenerasi hidrofik pada bagian tubulus ginjal serta adanya

edema pada glomerulus. Bagian tubulus ginjal yang rusak umumnya mengalami nekrosis yang ditandai dengan sel epitel tubulus yang bentuk sel kubusnya tidak beraturan dan inti sel menghilang (kariolisis). Nekrosis merupakan kematian sel dan jaringan yang secara mikroskopik ditandai dengan adanya perubahan pada inti sel yaitu hilangnya gambaran kromatin, inti menjadi keriput, inti tampak lebih padat, warnanya gelap hitam (piknosis), inti terbagi atas fragmen-fragmen robek (karioreksis), inti tidak menyerap warna sehingga pucat tidak nyata (kariolisis) (Himawan, 1992 dalam Suhita, dkk, 2013). Glomerulus mengalami edema berupa atrofi glomerulus dan pembengkakan pada ruang Bowman.

Perlakuan stres yang diberikan pada mencit adalah stres fisik berupa perenangan dan puasa. Aktivitas ini dapat memicu tubuh mencit untuk menghasilkan radikal bebas. Stres puasa telah dilaporkan dapat menyebabkan terjadinya inflamasi pada jaringan hati dan ginjal tikus (Wresdiyati, 1999). Hal ini dapat terjadi karena dibawah kondisi stres jumlah radikal bebas yang terbentuk meningkat (Wresdiyati, 2003). Stres akut yang terjadi dalam jangka waktu yang singkat akan menyebabkan aktivasi sistem imunitas berupa peningkatan kadar sitokin proinflamasi yang berperan dalam reaksi peradangan atau inflamasi (Tort, 2011).

Stres terjadi karena adanya kenaikan level Spesies Oksigen Reaktif (ROS) seperti radikal bebas di dalam sel (Langseth, 1995 dalam Wresdiyati, 2003). Keadaan ini dapat berpengaruh pada proses fisiologis maupun biokimia tubuh yang berakibat terjadinya gangguan metabolisme fungsi sel dan dapat berakhir pada kematian sel. Hal ini didukung oleh penelitian Wresdiyati (2002) bahwa stres dapat menimbulkan inflamasi dan penurunan fungsi hati dan ginjal tikus.

Radikal bebas adalah molekul yang mempunyai sekelompok atom dengan elektron yang tidak berpasangan dan bersifat sangat reaktif. Menurut Dawn *et al.* (2000) dalam Nurhidayah (2009), radikal bebas dapat terbentuk dari dalam sel oleh reaksi reduksi oksidasi selama proses fisiologis normal. Kondisi stres oksidatif seperti puasa (Wresdiyati, 2003; Makita, 1995), olah raga, stres psikis, dan inflamasi, serta penyakit diabetes melitus dapat meningkatkan produksi radikal bebas di dalam tubuh.

Pengamatan pada struktur mikroanatomi ginjal mencit pada kelompok perlakuan stres dan

pemberian infusa bunga seroja dengan dosis 5,6 mg/g BB masih tampak adanya nekrosis pada bagian tubulus proksimal seperti terlihat pada Gambar 3 yang ditunjukkan oleh tanda panah. Hal ini dapat terjadi karena mencit diberikan perlakuan stres sehingga menyebabkan meningkatnya radikal bebas didalam tubuh. Pemberian infusa bunga seroja pada dosis 5,6 mg/g BB kemungkinan belum mampu meregenerasi sel yang sudah rusak.

Perubahan lain yang terjadi pada struktur mikroanatomi ginjal mencit dapat terlihat pada sel ginjal mencit yang diberi perlakuan dengan dosis 8,4 mg/g BB. Hal ini ditunjukkan Gambar 4 yaitu terjadinya peradangan (edema) pada glomerulus. Menurut Cunningham (1992) peradangan pada glomerulus dapat terjadi disebabkan oleh adanya peningkatan permeabilitas kapiler sehingga kapiler glomerulus menjadi permeabel terhadap protein. Peningkatan permeabilitas glomerulus ini kemudian akan menyebabkan beban filtrasi glomerulus meningkat akhirnya menjadi peradangan (edema). Salah satu tanda edema glomerulus adalah atrofi atau penyusutan kapiler glomerulus sehingga ruang Bowman tampak membesar.

Kelompok perlakuan dengan dosis 11,2 mg/g BB (Gambar 5) menunjukkan bahwa sel-sel ginjal masih mengalami kerusakan berupa degenerasi hidrofik namun ditemukan juga glomerulus normal dan tubulus normal. Perubahan ini disebabkan oleh sel-sel yang semula rusak akibat stres telah mengalami regenerasi. Regenerasi sel ini dipicu oleh pemberian infusa bunga seroja yang mengandung berbagai senyawa bioaktif yang berpotensi mengurangi respon inflamasi pada jaringan.

Berbagai kandungan senyawa bioaktif ditemukan pada bunga seroja. Berdasarkan hasil uji fitokimia infusa bunga seroja mengandung senyawa metabolit sekunder golongan flavonoid, saponin, tannin dan triterpenoid. Menurut Mehta, *et al.* (2013) jenis flavonoid yang terdapat dalam bunga seroja adalah *quercetin*. Kondisi stress dapat menyebabkan terbentuknya radikal bebas yang dapat memicu kerusakan jaringan. Duthie *et al.* (2000) menyatakan bahwa *quercetin* memiliki potensi antioksidan yakni menghambat reaksi oksidasi dengan cara menetralkan radikal bebas. Berdasarkan hal ini maka dapat dikatakan bahwa *quercetin* yang terkandung dalam infusa bunga seroja berpotensi meminimalisir terjadinya

kerusakan sel dengan cara menetralkan radikal bebas yang terbentuk.

Hasil pengujian fitokimia juga ditemukan adanya tanin dan triterpenoid sebagai senyawa-senyawa lain yang terkandung dalam infusa bunga seroja. Tanin adalah senyawa aktif metabolit sekunder yang diketahui mempunyai aktivitas antioksidan (Hangerman, 2002, Malangngiet *al.*, 2012). Adanya antioksidan di dalam bunga seroja akan berpotensi mengurangi inflamasi dengan cara menetralkan radikal bebas dan mencegah terjadinya kerusakan sel.

Berdasarkan deskripsi tersebut maka pemberian infusa bunga seroja berpotensi mengurangi respon inflamasi yang terjadi akibat pemberian stress melalui aktivitas antioksidan. Meskipun perubahan perbaikan jaringan mulai terjadi pada dosis 5,6 mg/g BB namun respon aktif antiinflamasi pada pemberian infusa bunga seroja tergantung dari dosis yang diberikan. Pada penelitian ini dosis infusa 11,2 mg/g BB memberikan hasil paling baik dibandingkan dosis 5,6 mg/g BB dan 8,4 mg/g BB.

DAFTAR PUSTAKA

- Darwis, D, 2000, Teknik Dasar Laboratorium dalam Penelitian Senyawa Bahan Alam Hayati. Makalah Workshop Pengembangan Sumber Daya Manusia dalam Bidang Kimia Organik Bahan Alam Hayati, FMIPA Universitas Andalas, Padang
- Dawn BM, Allan DM & Colleen MS, 2000, Metabolisme oksigen dan toksisitas oksigen. Biokimia kedokteran dasar: sebuah pendekatan klinis. EGC, Jakarta. Hlm. 321-9
- Direktorat OAI, 2010, *Acuan Sediaan Herbal*, Badan POM RI, Jakarta
- Duthie, G., Duthie, S & Kyle, J. 2000. Plant Polyphenols in Cancer as Nutritional Antioxidants. *Nutrition Research Reviews*. Hal. 79-106.
- Hagerman, AE, 2002, Tannin Handbook, Department of Chemistry and Biochemistry, Miami University
- Kadarisman, I, 2000, *Isolasi dan Identifikasi Senyawa Kimia Bioaktif dari Rimpang Bangle (Zingiber cassumunar Roxb.)*, Skripsi, Institut Pertanian Bogor, Bogor
- Mehta, NR, Patel, EP, Patani, VP, Shah, B, 2013, 'Nelumbo nucifera (Lotus), A Review on Ethanobotany, Phytochemistry, and Pharmacology', *Indian Journal of Pharmaceutical and Biological Research (IJBPR)*, vol.1, no. 4, hal. 152-167

- Mycek, MJ, Harvey, RA, & Champe, PC, 2001, *Farmakologi Ulasan Bergambar* (Edisi 2), Widya Medika, Jakarta
- Pringgoutomo&Sudarto,2002,*Buku Ajar Patologi I (Umum)*, Sugeng Seto, Jakarta
- Suhita, NLPR, Sudira,W, Wanaya, I,B,O, 2013, Histopatologi Ginjal Tikus Putih Akibat Pemberian Ekstrak Pegagan (*Contella asiatica*) peroral, Buletin Veteriner Udayana, vol. 5, no. 2
- Sutisna, I, 2000, *Isolasi dan Karakterisasi SenyawaTriterpenoid Lanostana dari Kulit Kayu Danglo (Macaranga javanica Muell. Arg)*, Skripsi Jurusan Kimia FMIPA, InstitutPertanian Bogor, Bogor
- Suyanti, L, 2008, *Gambaran Histopatologi Hati dan Ginjal Tikus pada Pemberian Fraksi Asam Amino Non-Protein Lamroto Merah (Acacia villosa) pada Uji Toksisitas Akut*, Skripsi, Institut Pertanian Bogor, Bogor
- Tort, L, 2011, Stres and Immune in Fish, *Development and Comparative Immunology*, vol. xxx, hal. Xxx, journal homepage: www.elsevier.com/locate/dci
- Vogel, HG, 2002, *Drug Discovery and Evaluation Pharmacological Assay*, edisi II, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, Germany
- Wati, IP & Mahdi, H, 2013, Aktivitas Protease dan Gambaran Histologi Ginjal Tikus Putih (*Rattus novergicus*) Pasca Induksi Cyclosporine-A, *Kimia Student Journal*,vol. 1, no.2, hal. 257-263
- Wresdiyati, T. & Makita, 1995, 'Remarkable Increase of Peroxisomes in The Renal Tubule Cells of Japanese Monkeys Under Fasting Stress', *Phatophysiology*, vol.2, hal. 177-182

