

PENGARUH EKSTRAK MENIRAN (*PHYLLANTHUS NIRURI L.*) DOSIS BERTINGKAT TERHADAP GAMBARAN MIKROSKOPIS GASTER : STUDI PADA MENCIT BALB/C YANG DIINDUKSI METANIL YELLOW

Alfonsus Liguori Vincent¹, R.B. Bambang Witjahyo²

¹Mahasiswa Program Pendidikan S-1 Kedokteran Umum, Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro

²Staf Pengajar Histologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro
JL. Prof. H. Soedarto, SH., Tembalang-Semarang 50275, Telp. 02476928010

ABSTRAK

Latar belakang: Penggunaan pewarna Metanil Yellow sering disalahgunakan sebagai pewarna makanan. Metanil Yellow akan diabsorpsi oleh lambung sehingga menimbulkan lesi histopatologis pada gaster. Meniran (*Phyllanthus niruri L.*) adalah tanaman liar yang sering dimanfaatkan sebagai herbal. Meniran memiliki sifat gastroprotektif sehingga dapat mengurangi lesi histopatologis pada gaster.

Tujuan: Mengetahui pengaruh ekstrak meniran (*Phyllanthus niruri L.*) terhadap gambaran histologis gaster mencit Balb/c yang diinduksi metanil yellow

Metode: Penelitian ini menggunakan jenis penelitian *true eksperimental* laboratorik dengan rancangan *Post Test Only Control Group Design*. Sampel mencit Balb/c jantan, umur 2-3 bulan, berat badan 20-25 gram sebanyak 25 ekor dibagi menjadi 5 kelompok secara random. Kelompok kontrol hanya diberi pakan dan minum standart, kelompok P1 diberi 63 mg/hari Metanil Yellow, kelompok P2 diberi 63 mg/hari Metanil Yellow dan ekstrak Meniran 1,4 mg/hari, kelompok P3 diberi 63 mg/hari Metanil Yellow dan ekstrak Meniran 2,8 mg/hari, dan kelompok P4 diberi 63 mg/hari Metanil Yellow dan ekstrak Meniran 5,6 mg/hari. Pada hari ke 31 dilakukan terminasi pada mencit dan mengambil organ gaster dan dibuat preparat histologi menggunakan pengecatan HE. Setiap preparat dibaca pada 5 lapangan pandang dan dinilai skor integritas epitel mukosanya menggunakan mikroskop.

Hasil: Rerata integritas epitel mukosa gaster paling besar adalah kelompok P1 yaitu $1,11 \pm 0,29$ sedangkan rerata integritas epitel mukosa gaster paling kecil adalah kelompok P2 yaitu $0,34 \pm 0,20$. Pada uji *One Way Anova* didapatkan perbedaan bermakna ($p = 0,000$). Pada uji *Post Hoc* didapatkan perbedaan bermakna antara P1- P2 ($p=0$) , P1-P3 ($p=0,009$), dan P2-P4 ($p=0,02$), lalu perbedaan tidak bermakna antara P1-P4 ($p=1,000$), P2-P3 ($p=0,660$), dan P3-P4 ($p= 0,189$).

Simpulan: Terdapat perbedaan gambaran histopatologis gaster mencit Balb/c pada pemberian metanil yellow dan ekstrak meniran peroral dosis bertingkat selama 30 hari.

Kata kunci: Metanil Yellow oral, Ekstrak Meniran oral, Dosis Bertingkat, Mikroskopis Lambung

ABSTRACT

EFFECT OF MENIRAN EXTRACT (*PHYLLANTHUS NIRURI L.*) WITH GRADED DOSES ON GASTER HISTOLOGY : STUDY ON BALB/C MICE INDUCED WITH METHANYL YELLOW

Background: Methanyl Yellow dye is often misused as a food colorant. Methanyl Yellow will be absorbed by the stomach, causing gastric histopathological lesions. Meniran is a wild plant that is often used as herbs. Meniran has gastroprotective properties that can reduce the histopathological lesions in the stomach.

Aim: To examine the effects of Meniran (*Phyllanthus niruri* L.) extract with graded dose on gastric histology of Balb/c mice which has been induced with Methanyl yellow

Methods: This experimental research study used post test only control group design. Samples were 25 male Balb/c mice, age 2-3 months, weight 20-25 grams, divided into 5 groups randomly. The control group was given only standart food and beverages, group P1 were given Methanyl Yellow 63 mg / day, group P2 given 63 mg / day Metanil Yellow and extract Meniran 1.4 mg / day, groups P3 by 63 mg / day Metanil Yellow and extract Meniran 2.8 mg / day, and P4 groups were given 63 mg / day Metanil Yellow and extract Meniran 5.6 mg / day. Metanil Yellow and Meniran extract was administered orally for 30 days. On day 31, the termination was done and the organ was taken and made preparations of gastric histology using HE staining. Each preparation was read at 5 field of view and assessed scores integrity of epithelial mucosa using a microscope.

Result: The highest mean of epithelial integrity was observed in P1 group (1.11 ± 0.29) while the lowest mean of epithelial integrity was observed in P2 group (0.34 ± 0.20). One Way Anova test showed significant differences among groups ($p = 0.000$). Post Hoc test showed significant differences in P1- P2 ($p = 0$), P1-P3 ($p = 0.009$), and P2-P4 ($p = 0.02$), and an insignificant difference between P1-P4 ($p = 1.000$), P2-P3 ($p = 0.660$), and P3-P4 ($p = 0.189$).

Conclusion: There were differences in gastric histopathology Balb/c mice which were exposed to Methanyl Yellow and meniran (*Phyllanthus niruri* L.) extracts peroral with graded dose for 30 days.

Keywords: Oral Methanyl Yellow, Oral Meniran extract, Graded Dosage, Microscopic Stomach.

PENDAHULUAN

Pangan merupakan salah satu kebutuhan primer manusia yang harus dipenuhi. Pewarna makanan saat ini sudah tidak bisa dipisahkan dari makanan dan minuman olahan.¹ Penambahan pewarna makanan pada makanan dapat meningkatkan selera makan manusia sebagai konsumen.²

Secara garis besar, terdapat 3 macam pewarna makanan yaitu pewarna makanan alami, pewarna makanan yang identik dengan pewarna alami, dan pewarna makanan sintetis. Pewarna makanan alami adalah pewarna yang diperoleh dari tumbuhan, hewan, atau dari sumber-sumber alami. Pewarna ini sudah digunakan sejak dahulu sebagai pewarna makanan dan umumnya penggunaannya dianggap lebih aman daripada pewarna sintetis. Salah satu zat pewarna makanan alami misalnya karotenoid yang menghasilkan warna kuning, antosianin yang menghasilkan warna merah dan biru, dan klorofil yang menghasilkan warna hijau. Pewarna yang identik dengan pewarna alami masih menjadi satu golongan dengan pewarna alami, namun pewarna ini dihasilkan melalui proses sintesis kimia, bukan dengan cara ekstraksi atau isolasi. Contoh pewarna ini adalah canthaxanthin, apo-karoten, dan beta-

karoten. Sedangkan pewarna makanan sintetis adalah zat pewarna yang berasal dari zat kimia, contohnya tartrazine, eritrosin, indigostine, brown FK dan lain-lain. Pewarna ini merupakan sumber utama pewarna-pewarna komersial.³

Di Indonesia, penggunaan zat pewarna alami banyak digantikan oleh zat pewarna sintetis karena harganya yang lebih murah dan dapat menghasilkan warna yang lebih cerah dan stabil dibanding dengan zat pewarna alami. Sering dijumpai jenis-jenis pewarna sintetis non-pangan yang dilarang penggunaannya oleh Pemerintah Indonesia sebagai pewarna makanan.⁴

Salah satu zat pewarna yang dinyatakan berbahaya dan dilarang digunakan pada produk pangan tersebut adalah metanil yellow.⁵ Metanil yellow merupakan zat pewarna sintetis berbentuk serbuk dan berwarna kuning kecoklatan yang pada umumnya digunakan sebagai perwarna pada tekstil, tinta, plastik, kertas, dan cat. Di Indonesia, zat pewarna ini sering disalahgunakan sebagai zat pewarna makanan seperti kerupuk, tahu, mie, dan jajanan lainnya yang berwarna kuning.⁶

Metanil yellow memiliki sifat iritan terhadap organ pencernaan manusia, salah satunya adalah terhadap gaster. Gaster adalah organ pencernaan di antara esofagus dan duodenum yang berfungsi mencerna protein dan menyimpan makanan sementara.⁷ Pada penelitian yang dilakukan oleh Rituparna Sarkar dan Apurba Ratan Ghost, paparan kronik metanil yellow selama 30 hari dengan dosis 3g/KgBB pada tikus albino menyebabkan kerusakan mukosa gaster dan terjadi nekrosis pada epitel kolumnar dan kelenjar gaster.⁸

Meniran (*Phyllanthus niruri* L.) adalah tanaman liar yang sering dimanfaatkan sebagai obat herbal atau supplement.⁹ Meniran mengandung senyawa flavonoid, yang terdiri dari astragalin, quercetin, quercitrin, dan quercetol.¹⁰ Quercetin memiliki sifat protektif terhadap lambung, yaitu dengan menghambat sintesis histamin melalui penghambatan enzim histidin dekarboksilase, dimana histamine adalah senyawa yang dapat memacu sekresi HCl lambung. Selain itu, Meniran juga mengandung senyawa tannin yang juga bersifat gastroprotektif.¹¹

Berdasarkan uraian diatas, peneliti ingin membuktikan bahwa pemberian ekstrak meniran dosis bertingkat berpengaruh pada gambaran histologis gaster yang diinduksi metanil yellow selama 30 hari.

METODE

Penelitian *true eksperimental* laboratorik dengan rancangan *Post Test Only Control Group Design* yang menggunakan hewan coba berupa mencit Balb/c sebagai objek penelitian. Kriteria inklusi penelitian ini adalah mencit strain Balb/c, jantan, memiliki berat badan 20-25 gram, dan berusia 2-3 bulan. Kriteria eksklusi penelitian ini adalah mencit terlihat sakit dan tidak aktif bergerak. Sampel diambil dengan cara acak sederhana (*simple random sampling*) berdasarkan criteria inklusi dan eksklusi. Besar sampel mengacu pada pedoman WHO mengenai penggunaan hewan coba untuk penelitian eksperimental.¹² Jumlah sampel tiap kelompok perlakuan 5 ekor, oleh karena terdapat 5 kelompok maka diperlukan 25 ekor mencit.

Variabel bebas penelitian ini adalah dosis bertingkat ekstrak meniran yang diberikan peroral. Variabel terikat penelitian ini adalah gambaran mikroskopis gaster mencit Balb/c.

Pada masing-masing kelompok mencit diadaptasi selama 7 hari lalu diberi perlakuan khusus tiap kelompok selama 30 hari. Kelompok 1 diberi aquadest 1 ml/ hari , kelompok 2 diberi metanil yellow 63 mg/hari, kelompok 3 diberi metanil yellow 63mg/hari dan ekstrak meniran 1,4 mg/hari, kelompok 4 diberi metanil yellow 63mg/hari dan ekstrak meniran 2,8 mg/hari, dan kelompok 5 diberi metanil yellow 63mg/hari dan ekstrak meniran 5,6 mg/hari. Pada hari ke 31, organ gaster diambil, dibaca menggunakan mikroskop dan dinilai. Dilanjutkan dengan pengolahan dan analisis data.

HASIL

Data Hasil Penelitian

Penelitian ini menggunakan sampel 25 ekor mencit Balb/c jantan yang dibagi menjadi 5 kelompok yaitu kelompok kontrol (K), P1 (Perlakuan 1), P2 (Perlakuan 2), P3 (Perlakuan 3), dan P4 (Perlakuan 4). Jumlah sampel pada masing masing terdiri 5 ekor mencit Balb/c yang ditentukan secara acak (*simple random sampling*) dimana 5 mencit menyesuaikan kriteria sampel minimal menurut WHO. Penelitian dilaksanakan selama 30 hari, pada hari ke-31 semua mencit Balb/c jantan didekapitasi. Semua sampel kemudian diambil organ gasternya untuk dibuat sediaan preparat mikroskopis dan dilakukan pengamatan terhadap epitel mukosa gaster yang mengalami perubahan mikroskopis berupa erosi dan ulserasi dengan menggunakan mikroskop cahaya pada pembesaran 400x.

Analisa Deskriptif

Rerata skor perubahan struktur mikroskopis epitel mukosa gaster mencit Balb/c yang diperoleh dapat dilihat dari tabel di bawah ini :

Tabel 1. Analisis Deskriptif Integritas Epitel Mukosa Gaster Mencit Balb/c

Kelompok	Mean	SD	Minimum	Maksimum
Kontrol	0	0	0	0
Perlakuan 1	2,00	0,14	1,80	2,20
Perlakuan 2	0,36	0,22	0	0,60
Perlakuan 3	0,80	0,63	0,20	1,80
Perlakuan 4	1,52	0,68	0,60	2,20

Berdasarkan tabel 1, rerata tertinggi perubahan gambaran mikroskopis gaster mencit Balb/c untuk integritas epitel mukosa gaster dapat pada kelompok P1. Pada epitel mukosa gaster didapatkan peningkatan rerata deskuamasi, erosi dan ulserasi epitel mukosa gaster mencit Balb/c dari kelompok kontrol, perlakuan 2, perlakuan 3, perlakuan 4, dan perlakuan 1.

Analisa Analitik

Data hasil skoring perubahan mikroskopis epitel mukosa gaster mencit Balb/c berupa deskuamasi, erosi, dan ulserasi diuji normalitasnya menggunakan *Saphiro-Wilk* dan hasilnya dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Tabel Uji Normalitas dan Homogenitas Integritas Epitel Mukosa Gaster Mencit Balb/c

Kelompok	Normalitas	Homogenitas
	P	p
P1	0,325	0,02
P2	0,135	
P3	0,482	
P4	0,419	

Dari tabel di atas didapatkan distribusi data pada setiap kelompok perlakuan normal ($p > 0,05$). Selanjutnya dilakukan uji varians dan didapatkan hasil $p = 0,02$ ($p < 0,05$) sehingga disimpulkan varians data tidak homogen. Data kemudian ditransformasi sehingga data menjadi homogen ($p > 0,05$) dan memenuhi syarat uji parametric *One Way Anova*.

Tabel 3. Tabel Uji *One Way Anova* Integritas Epitel Mukosa Gaster Mencit Balb/c

Kelompok	Mean ± SD	p
P1	1,11 ± 0,29	0,000*
P2	0,34± 0,20	
P3	0,59 ± 0,34	
P4	0,93 ± 0,25	

Keterangan : * Signifikan $p < 0,05$

Hasil Uji *One Way Anova* didapatkan $p < 0,05$, maka paling tidak ada perbedaan gambaran mikroskopis epitel mukosa gaster berupa deskuamasi, erosi, dan ulserasi secara bermakna pada dua kelompok. Untuk mengetahui antara kelompok mana terdapat perbedaan yang bermakna maka dilanjutkan dengan uji analisis *Post Hoc*.

Tabel 4. Tabel Uji *Post Hoc* Integritas Epitel Mukosa Gaster Mencit Balb/c

Kelompok	P1	P2	P3	P4
K	0*	0,193	0,002*	0*
P1	-	0*	0,009*	1,000
P2		-	0,660	0,02*
P3			-	0,189

Keterangan : * Signifikan $p < 0,05$

Hasil uji beda antar kelompok didapatkan bahwa skor nilai derajat deskuamasi, erosi, dan ulserasi pada gaster antar kelompok kontrol dengan kelompok P1, P3, dan P4, terdapat perbedaan yang bermakna di mana $p < 0,05$. Perbedaan yang bermakna juga terdapat antara kelompok P1 dengan P2 dan P3, serta kelompok P2 dengan P4. Sedangkan pada kelompok kontrol dengan P2, P1 dengan P4, P2 dengan P3, serta P3 dengan P4 tidak terdapat perbedaan yang bermakna.

Penelitian yang dilakukan dengan memberikan Metanil Yellow dan ekstrak Meniran (*Phyllanthus niruri* Linn.) dosis bertingkat selama 30 hari untuk melihat perubahan gambaran mikroskopis epitel mukosa gaster mencit Balb/c menunjukkan bahwa Metanil Yellow merusak gambaran mikroskopis lapisan epitel mukosa gaster. Penelitian ini menunjukkan perbedaan yang signifikan antara kelompok perlakuan 1 yang hanya diberikan Metanil Yellow dengan kelompok perlakuan 2, 3, dan 4 yang diberikan Metanil Yellow dan ekstrak Meniran (*Phyllanthus niruri* Linn.) dengan dosis bertingkat, kecuali kelompok perlakuan 4

yang diberikan dengan ekstrak Meniran dengan dosis paling tinggi (5,6 mg / 0,3 ml) menunjukkan perbedaan yang tidak signifikan.

Hasil tersebut menunjukkan bahwa terdapat efek gastroprotektif meniran (*Phyllanthus niruri* Linn.) terhadap Metanil Yellow. Hal ini dapat terjadi karena Meniran (*Phyllanthus niruri* Linn.) memiliki kandungan zat-zat kimia yang bersifat gastroprotektif yaitu Flavonoid (Quercetin), Tanin, dan Kalium.

Quercetin adalah salah satu bentuk flavonoid yang terdapat pada meniran yang dapat menghambat enzim histidin dekarboksilase. Histidin dekarboksilase adalah enzim yang berfungsi sebagai katalis biosintesis histamin, dimana histamin dapat menstimulasi sekresi asam lambung melalui reseptor histamin-2 yang terdapat pada sel parietal lambung.¹³ Penghambatan enzim histidin dekarboksilase oleh quercetin akan menyebabkan berkurangnya histamin sehingga sekresi asam lambung akan berkurang.

Tanin merupakan senyawa kimia yang juga terkandung di dalam meniran. Tanin akan mengalami proses astringensi ketika bertemu dengan lapisan mukosa saluran pencernaan. Astringensi adalah suatu proses dimana tanin bereaksi dan berikatan dengan protein pada mukus dan sel epitel mukosa saluran pencernaan sehingga menyebabkan mukosa akan mengikat lebih kuat dan menjadi kurang permeabel.¹⁴

Kalium memiliki sifat basa yang dapat bereaksi dengan asam lambung sehingga pH lambung menjadi seimbang dan akhirnya dapat mengurangi kerusakan mukosa lambung.

Terdapat perbedaan gambaran integritas epitel mukosa gaster antara kelompok meniran dosis 1,4 mg /0,3 ml , dosis 2,8 mg/0,3 ml , dan dosis 5,6 mg/0,3ml dimana kerusakan paling minimal terdapat pada kelompok dosis 1,4 mg /0,3 ml, diikuti kelompok dosis 2,8 mg/0,3 ml, lalu kelompok dosis 5,6 mg/0,3ml. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh kejenuhan dari zat tanin pada ekstrak meniran Tanin dalam dosis tinggi akan menyebabkan terjadinya astringensi berlebihan sehingga menyebabkan iritasi mukosa.¹⁵ Tanin dalam dosis tinggi mengurangi sekresi mukus dan dapat membentuk presipitasi dengan protein yang terdapat dalam mukosa gaster sehingga menyebabkan gangguan terhadap keutuhan membran sel epitel gaster.

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Berdasarkan hasil analisis data yang diperoleh, maka disimpulkan beberapa hal sebagai berikut :

1. Terdapat pengaruh pemberian ekstrak meniran (*Phyllanthus niruri L.*) dosis bertingkat terhadap gambaran mikroskopis gaster mencit Balb/c yang diinduksi metanil yellow.
2. Terdapat perbedaan gambaran histopatologis gaster mencit Balb/c antara kelompok yang diberi metanil yellow 63 mg dalam 0,3 ml aquadest per hari dan ekstrak meniran 1,4 mg sebanyak 0,3 ml per hari peroral dengan kelompok control
3. Terdapat perbedaan gambaran histopatologis gaster mencit Balb/c antara kelompok yang diberi metanil yellow 63 mg dalam 0,3 ml aquadest per hari dan ekstrak meniran 2,8 mg sebanyak 0,3 ml per hari peroral dengan kelompok control
4. Terdapat perbedaan gambaran histopatologis gaster mencit Balb/c antara kelompok yang diberi metanil yellow 63 mg dalam 0,3 ml aquadest per hari dan ekstrak meniran 5,6 mg sebanyak 0,3 ml per hari peroral dengan kelompok control
5. Terdapat perbandingan gambaran histopatologi gaster mencit Balb/c antara kelompok perlakuan

Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan memperhatikan dosis, jumlah sampel, serta prosedur pengambilan dan pengolahan jaringan sehingga dapat merusak gaster

DAFTAR PUSTAKA

1. Anonim. Pewarna Makanan dalam Pangan [internet] diakses dari http://idkf.bogor.net/yuesbi_pada_5_Desember_2015.
2. Rahim, Rahman. Zat Pewarna pada Makanan [internet] diakses dari <http://www.slideshare.net> pada 5 Desember 2015.
3. Winarno, F.G. Kimia Pangan dan Gizi. Jakarta : Gramedia;2002
4. Cahyadi, Wisnu. Analisis dan Aspek Kesehatan Bahan Tambahan Pangan. Jakarta:Bumi Aksara;2008
5. Utami ND. Analisis Zat Warna Merah, Kuning, dan Jingga Sintetik Golongan Azo Pada Beberapa Makanan Berwarna Merah, Kuning dan Jingga. Depok: Departemen Farmasi FMIPA UI;2005.
6. Anonim. Bahaya Keracunan Metanil Yellow pada Pangan [internet] diakses dari http://ik.pom.go.id/v2013/artikel_pada_5_Desember_2015
7. Sherwood, Lauralee. Fisiologi Manusia : dari Sel ke Sistem, Edisi 6. Jakarta: EGC;2012 pp: 654-66.

8. Sarkar R, AR Ghosh. *Metanil yellow – An azo dye induced hispathololgical and ultrastructural changes in albino rat (Rattus Norvegicus)*. The Bioscan. 7(1) : 427-432, 2012, [www.thebioscan.in] (diunduh 6 Desember 2015)
9. Kardinan A., Kusuma F.R. *Meniran: Penambah Daya Tahan Tubuh Alami*. Jakarta : Agromedia Pustaka ; 2004 , pp:6-15.
10. Shokunbi , Odetola. *Gastroprotective and antioxidant activities of Phyllanthus amarus extracts on absolute ethanol-induced ulcer in albino rats*. Journal of Medicinal Plants Research. 2(10) pp: 261- 67 (2008).
11. de Jesus, N.Z.T.; Falcão, H.S. *Tannins, Peptic Ulcers and Related Mechanisms*. *Int. J. Mol. Sci.* 13 pp: 3203-3228 (2012)
12. Lwanga, S.K , Lemeslow S. *Sample Size Determination in Health Study*. World Health Organisation. 1991
13. Panula P, Chazot PL, Cowart M, et al. (2015). "International Union of Basic and Clinical Pharmacology. XCVIII. Histamine Receptors". *Pharmacol. Rev.* 67 (3): 601–55.
14. Cannas A. Tannins: fascinating but sometimes dangerous molecules. [internet] Diakses dari www.nbcec.org/plants/toxicagents/tannin.html pada tanggal 15 Juli 2016
15. Mulyadi. *Uji Toksisitas Akut Ekstrak Meniran (Phyllanthus niruri L.) terhadap Gastrointestinal Mencit Balb/c*. Semarang : Universitas Diponegoro; 2010.