

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

Fadila Amalina Ariputri¹, Bambang Witjahjo²

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

² Staf Pengajar Ilmu Fisiologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro
Jl. Prof. H. Soedarto, SH., Tembalang-Semarang 50275, Telp. 02476928010

ABSTRAK

Latar Belakang : Metanil yellow merupakan salah satu bahan pewarna tekstil yang mulai disalahgunakan sebagai pewarna makanan, padahal metanil yellow mempunyai sifat iritan dan karsinogenik pada tubuh, termasuk menyebabkan kerusakan ginjal. Untuk mengurangi efek negatif zat toksik dalam tubuh, diperlukan antioksidan yang dapat berasal dari alam, salah satunya adalah tumbuhan meniran (*Phyllanthus niruri L.*

Tujuan : Mengetahui pengaruh pemberian ekstrak meniran (*Phyllanthus niruri L.*) dosis bertingkat terhadap gambaran mikroskopis ginjal mencit Balb/C yang diinduksi metanil yellow.

Metode : Penelitian true experimental dengan *posttest only with control group design*. Sampel sebanyak 25 ekor mencit Balb/c diadaptasi selama 7 hari, setelah itu dibagi secara *simple random sampling* menjadi 5 kelompok. Kelompok kontrol (K) hanya diberi pakan dan minum standar. P1 diberi metanil yellow peroral 63 mg dalam 0,3 ml air/hari; P2 diberi metanil yellow peroral 63 mg dalam 0,3 ml air/hari dan ekstrak meniran 1,4 mg dalam 0,3 ml air/hari; P3 diberi metanil yellow peroral 63 mg dalam 0,3 ml air/hari dan ekstrak meniran 2,8 mg dalam 0,3 ml air/hari; dan P4 diberi metanil yellow peroral 63 mg dalam 0,3 ml air/hari dan ekstrak meniran 5,6 mg dalam 0,3 ml air/hari. Setelah 30 hari, mencit dimatikan kemudian dilakukan pemeriksaan mikroskopis ginjal berupa degenerasi dan nekrosis. Data dideskripsikan dalam bentuk tabel, gambar, dan analisa statistik.

Hasil : Rerata degenerasi tertinggi sel epitel tubulus proksimal ginjal terdapat pada kelompok P1, sedangkan rerata nekrosis tertinggi pada kelompok P2. Pada degenerasi, terdapat perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$) pada K-P1, K-P2, K-P3, P1-P3, P1-P4, P2-P3, P2-P4, sedangkan K-P4, P1-P2, P3-P4 tidak didapatkan perbedaan yang bermakna. Pada nekrosis, didapatkan perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$) pada K-P1, K-P2, P1-P3, P1-P4, P2-P3, dan P2-P4, sedangkan K-P3, K-P4, P1-P2, dan P3-P4 tidak didapatkan perbedaan yang bermakna.

Simpulan : Pemberian ekstrak meniran (*Phyllanthus niruri L.*) dosis bertingkat menyebabkan terjadinya perubahan gambaran mikroskopis ginjal mencit Balb/C yang diinduksi metanil yellow.

Kata Kunci : metanil yellow, ekstrak meniran (*Phyllanthus niruri L.*), ginjal, degenerasi, nekrosis

ABSTRACT**EFFECT OF MENIRAN EXTRACT (*PHYLLANTHUS NIRURI L.*) WITH GRADED DOSES ON KIDNEY HISTOLOGY – STUDY ON BALB/C MICE WHICH HAS BEEN INDUCED BY METHANYL YELLOW**

Background: Methanyl yellow is one of the textile dyes which are abused as a food coloring agent, although methanyl yellow has irritant and carcinogenic effect to the body, specially causing kidney damage. To treat the negative effects of toxic substances in the body, human needs antioxidants that can be derived from nature, one of which is meniran plant (*Phyllanthus niruri L.*)

Objective: To determine the effect of meniran extract (*Phyllanthus niruri L.*) with graded doses on kidney histology of Balb/C mice which has been induced by methanyl yellow.

Methods: This experimental research study used posttest only with control group design. 25 Balb/c mice were adapted for 7 days and then been divided into 5 groups. The control group (K) was only given standards food and drink. P1 were given 63 mg of methanyl yellow in 0.3 ml of water /day; P2 were given 63 mg of methanyl yellow in 0.3 ml of water/day and 1.4 mg of meniran extract in 0.3 ml of water/day; P3 were given 63 mg of methanyl yellow in 0.3 ml of water /day and 2.8 mg of meniran extract in 0.3 ml of water/day; and P4 were given 63 mg of methanyl yellow in 0.3 ml of water /day and 5.6 mg of meniran extract in 0.3 ml of water/day. After 30 days, the mice were terminated then seen by microscope to assess the degree of degeneration and necosis. The data were described in the form of tables, images, and statistical analysis.

Results: The highest mean of renal proximal tubular epithelial cells degeneration are those in P1, while the highest mean of necrosis are those in P2. In degeneration, there is a significant difference ($p < 0.05$) in K-P1, P2-K, K-P3, P1-P3, P1-P4, P2-P3, P2-P4, while K-P4, P1- P2, P3-P4 is not found significant differences. In necrosis, found significant differences ($p < 0.05$) in K-P1, K-P2, P1-P3, P1-P4, P2-P3 and P2-P4, while K-P3, K-P4, P1 -P2, and P3-P4 is not found significant differences.

Conclusion: Meniran extract (*Phyllanthus niruri L.*) with graded doses causing the changes of renal microscopic image of Balb/C mice which has been induced by methanyl yellow.

Keywords: Methanyl yellow, meniran extract (*Phyllanthus niruri L.*), kidney, degeneration, necrosis

PENDAHULUAN

Metanil yellow merupakan salah satu bahan pewarna sintetik yang berbentuk serbuk, berwarna kuning kecoklatan, serta dapat larut dalam airdan alkohol. Pada umumnya, pewarna ini digunakan sebagai pewarna tekstil, plastik, kulit, cat, dan sebagai indikator asam-basa di laboratorium.¹ Namun kenyataannya, di Indonesia masih ditemui berbagai makanan dengan campuran metanil yellow seperti halnya temuan tentang banyaknya jelly dengan campuran metanil yellow di Pasar Jebres Surakarta pada tahun 2008 serta kerupuk warna-warni yang dipercantik dengan pewarna tersebut di Pasar Tradisional Sragen (Jawa Tengah) dan Gianyar (Bali) pada tahun 2011.^{2,3}

Banyaknya penyalahgunaan bahan pewarna industri pada makanan oleh para produsen tidak bertanggung jawab dilatarbelakangi oleh alasan harga yang lebih terjangkau dan hasil yang lebih menarik, sehingga para penjual mendapatkan keuntungan lebih besar daripada menggunakan bahan pewarna makanan yang diizinkan oleh pemerintah.¹ Mirisnya, anggapan tersebut tidak diimbangi dengan pengetahuan tentang keamanan penggunaan metanil yellow untuk campuran makanan terhadap kesehatan manusia, padahal telah banyak penelitian yang menunjukkan bahwa metanil yellow mempunyai sifat iritan dan karsinogenik pada tubuh. Kandungan-kandungan berbahaya tersebut dapat menyebabkan mual, muntah, sakit perut, diare, demam, lemah, hipotensi dan kerusakan struktur histologis jaringan tubuh, di mana salah satunya adalah ginjal.⁴ Hal ini dibuktikan oleh penelitian sebelumnya yang menunjukkan bahwa pemberian metanil yellow peroral dosis bertingkat selama 30 hari dapat merusak struktur mikroskopis ginjal mencit Balb/c. Selain berpengaruh pada ginjal mencit, substansi ini juga berpengaruh pada ginjal manusia sehingga dapat menyebabkan pula perubahan struktur mikroskopis ginjal pada manusia. Hal ini perlu menjadi perhatian mengingat pentingnya ginjal sebagai salah satu organ penting yang menjalankan fungsi ekskresi.⁵

Secara fisiologis, tubuh manusia menghasilkan antioksidan (antioksidan endogen) yang berfungsi untuk melawan radikal-radikal bebas dan molekul berbahaya lainnya termasuk yang terkandung dalam zat pewarna metanil yellow.⁶ Namun, jika radikal bebas yang menyerang tubuh berlebihan, tentunya diperlukan pula antioksidan dari luar (antioksidan eksogen) untuk melawannya. Antioksidan eksogen tersebut dapat berasal dari berbagai sumber termasuk dari alam, salah satunya adalah tumbuhan meniran (*Phyllanthus niruri L.*).⁷

Meniran (*Phyllanthus niruri L.*) merupakan tumbuhan liar suku *Euphorbiaceae* yang mempunyai banyak khasiat dan telah digunakan sebagai obat tradisional. Khasiat tumbuhan tersebut diduga berasal dari berbagai senyawa kimia yang terkandung di dalamnya, diantaranya alkaloid (sekurinin), flavonoid (kuersetin, kuersitrin, isokuersitrin, astragalin, nirurin, niruside, rutin, leukodelfinidin, dan galokatekin), dan lignan (filantin dan hipofilantin) yang dipercaya berkhasiat sebagai antioksidan, antiinflamasi, antipiretik, diuretik, serta penambah nafsu makan.⁸ Aktivitas sebagai antioksidan yang dimiliki oleh sebagian besar flavonoid terutama dalam meniran ini disebabkan oleh mekanisme kerja antioksidan sebagai pemberi atom hidrogen pada radikal lipid sehingga radikal lipid tersebut akan berubah menjadi bentuk lebih stabil dan tidak mengakibatkan kerusakan jaringan lebih lanjut.⁹

Melihat korelasi antara kerusakan jaringan ginjal yang mungkin disebabkan karena efek toksik dari metanil yellow dan efek antioksidan dari tumbuhan meniran, penelitian untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak meniran (*Phyllanthus niruri L.*) dosis bertingkat terhadap gambaran mikroskopis ginjal mencit Balb/C yang diinduksi metanil yellow menjadi relevan untuk dilakukan, terlebih lagi berdasarkan observasi kepustakaan belum ada yang menjelaskan tentang penelitian yang sama.

METODE

Penelitian ini menggunakan jenis penelitian *true eksperimental* laboratorik dengan rancangan *Post Test Only with Control Group Design*. Penelitian ini dilaksanakan selama 30 hari di Laboratorium Hewan Coba FK Undip. Hewan coba yang digunakan adalah mencit strain Balb/C yang diperoleh dari Laboratorium Hewan Universitas Airlangga, Surabaya, dengan jenis kelamin jantan, umur 2-3 bulan, berat badan 20-25 gram, serta mencit dalam keadaan sehat dan aktif. Besar sampel penelitian adalah 5 ekor mencit tiap kelompok sesuai ketentuan WHO.

Sampel sebanyak 25 ekor mencit Balb/c diadaptasi selama 7 hari dengan diberi pakan dan minum standar secara *ad libitum*, setelah itu dibagi secara *simple random sampling* menjadi 5 kelompok. Kelompok kontrol (K) hanya diberi pakan dan minum standar. P1 diberi metanil yellow peroral 63 mg dalam 0,3 ml air/hari; P2 diberi metanil yellow peroral 63 mg dalam 0,3 ml air/hari dan ekstrak meniran 1,4 mg dalam 0,3 ml air/hari; P3 diberi metanil yellow peroral 63 mg dalam 0,3 ml air/hari dan ekstrak meniran 2,8 mg dalam 0,3 ml air/hari; dan P4 diberi metanil yellow peroral 63 mg dalam 0,3 ml air/hari dan ekstrak meniran 5,6 mg dalam 0,3 ml air/hari. Setelah 30 hari, mencit diterminasi kemudian dilakukan pemeriksaan mikroskopis ginjal. Pemeriksaan gambaran mikroskopik dilakukan pada lima lapangan pandang pada setiap preparat dengan perbesaran 400 kali. Penilaian skoring gambaran mikroskopik satu lapangan pandang adalah dihitung jumlah sel epitel tubulus proksimal yang mengalami degenerasi dan nekrosis. Setelah data terkumpul, dilakukan pengoahan dan analisis data.

HASIL PENELITIAN

Penelitian berlangsung selama 30 hari dengan sampel 25 ekor mencit Balb/C yang memenuhi kriteria yang ditentukan. Pada hari ke-31, dilakukan terminasi pada semua mencit dan diambil organ ginjalnya untuk dibuat sediaan mikroskopis. Setelah itu, dilakukan pengamatan dengan mikroskop untuk menilai gambaran mikroskopis sel epitel tubulus proksimal ginjal mencit berupa degenerasi dan nekrosis. Data yang didapatkan kemudian diolah menggunakan SPSS dan diuji hipotesisnya secara parametric dengan uji *One Way Anova* dan dilanjutkan dengan uji *Post Hoc*.

Analisa Deskriptif**Tabel 1.** Analisis Deskriptif Sel Epitel Tubulus Proksimal Ginjal Mencit Balb/C

Kelompok	Rerata		SD		Minimum		Maksimum	
	D	N	D	N	D	N	D	N
Kontrol	1,04	0,36	0,17	0,17	0,80	0,20	1,20	0,60
Perlakuan 1	3,12	1,28	0,50	0,30	2,40	1,00	3,80	1,60
Perlakuan 2	2,92	1,44	0,48	0,17	2,40	1,20	3,60	1,60
Perlakuan 3	1,92	0,68	0,23	0,23	1,60	0,40	2,20	1,00
Perlakuan 4	1,44	0,56	0,54	0,17	1,00	0,40	2,20	0,80

Berdasarkan tabel di atas, didapatkan peningkatan rerata degenerasi pada sel-sel epitel tubulus proksimal ginjal mulai dari kelompok P4 (perlakuan 4) yang diberi metanil yellow 63 mg dalam 0,3 ml air/hari dan ekstrak meniran 5,6 mg dalam 0,3 ml air/hari, kelompok P3 (perlakuan 3) yang diberi metanil yellow 63 mg dalam 0,3 ml air/hari dan ekstrak meniran 2,8 mg dalam 0,3 ml air/hari, hingga kelompok P2 yang diberi metanil yellow 63 mg dalam 0,3 ml air/hari dan ekstrak meniran 1,4 mg dalam 0,3 ml air/hari. Sama halnya dengan nekrosis sel-sel epitel tubulus proksimal ginjal mencit Balb/C yang diberikan metanil yellow dan ekstrak meniran yang menunjukkan peningkatan rerata nekrosis mulai dari kelompok P4, kelompok P3, hingga kelompok P2.

Analisa Analitik**Degenerasi**

Data hasil skoring perubahan mikroskopis ginjal mencit Balb/C berupa degenerasi diuji normalitasnya menggunakan *Saphiro-Wilk* dan didapatkan distribusi data pada setiap kelompok perlakuan normal ($p > 0,05$). Selanjutnya dilakukan uji varians dan didapatkan hasil

$p=0,066$ ($p>0,05$) sehingga disimpulkan varians data homogen. Karena syarat uji parametrik terpenuhi, dilakukan uji *One Way Anova*.

Tabel 2. Tabel Uji *One Way Anova* Degenerasi Sel Epitel Tubulus Proksimal Ginjal Mencit Balb/C

Kelompok	Mean ± SD	P
K	1,04 ± 0,17	0,000*
P1	3,12 ± 0,50	
P2	2,92 ± 0,48	
P3	1,92 ± 0,23	
P4	1,44 ± 0,54	

Keterangan : * Signifikan $p < 0,05$

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

Tabel 3. Tabel Uji *Post Hoc* Degenerasi Sel Epitel Tubulus Proksimal Ginjal Mencit Balb/C

Kelompok	P1	P2	P3	P4
K	0,000*	0,000*	0,030*	1,000
P1	-	1,000	0,002*	0,000*
P2		-	0,010*	0,000*
P3			-	0,809

Keterangan : * Signifikan $p < 0,05$

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

Nekrosis

Data hasil skoring perubahan mikroskopis ginjal mencit Balb/C berupa nekrosis diuji normalitasnya menggunakan *Saphiro-Wilk* lalu didapatkan distribusi data dan homogenitas varians normal ($p>0,05$), sehingga syarat uji parametrik terpenuhi dan dapat dilakukan uji *One Way Anova*.

Tabel 4. Tabel Uji *One Way Anova* Nekrosis Sel Epitel Tubulus Proksimal Ginjal Mencit Balb/C

Kelompok	Mean ± SD	p
K	0,36 ± 0,17	0,000*
P1	1,28 ± 0,30	
P2	1,44 ± 0,17	
P3	0,68 ± 0,23	
P4	0,56 ± 0,17	

Keterangan : * Signifikan $p < 0,05$

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

Tabel 5. Tabel Uji *Post Hoc* Nekrosis Sel Epitel Tubulus Proksimal Ginjal Mencit Balb/C

Kelompok	P1	P2	P3	P4
K	0,000*	0,000*	0,280	1,000
P1	-	1,000	0,003*	0,000*
P2		-	0,000*	0,000*
P3			-	1,000

Keterangan : * Signifikan $p < 0,05$

Dari tabel *Post Hoc* di atas, didapatkan bahwa skor nilai derajat nekrosis pada ginjal antara kelompok kontrol dengan kelompok P1 dan P2 menunjukkan terdapat perbedaan yang bermakna di mana $p < 0,05$. Perbedaan yang bermakna juga terdapat antara kelompok P1 dengan P3 dan P4 serta P2 dengan P3 dan P4, sedangkan pada kelompok kontrol dengan P3 dan P4, P1 dengan P2, serta P3 dengan P4 tidak terdapat perbedaan yang bermakna.

Berdasarkan hasil penelitian ini, ditemukan adanya pengaruh pemberian ekstrak meniran (*Phyllanthus niruri L.*) dosis bertingkat terhadap gambaran mikroskopis degenerasi sel epitel tubulus proksimal ginjal mencit Balb/C yang diinduksi metanil yellow dimana terjadi penurunan tingkat degenerasi dan nekrosis pada gambaran mikroskopis tubulus proksimal ginjal mencit seiring dengan peningkatan dosis ekstrak meniran yang diberikan. Hal tersebut dapat terjadi karena aktivitas sebagai antioksidan yang dimiliki oleh sebagian besar flavonoid disebabkan oleh adanya gugus hidroksi fenolik dalam struktur molekulnya juga melalui daya tangkap terhadap radikal bebas serta aktivitasnya sebagai penarik logam

Sesuai mekanisme kerjanya antioksidan memiliki dua fungsi, yaitu sebagai pemberi atom hidrogen dan memperlambat laju autooksidasi yang menghambat terbentuknya radikal lipid. Dengan memberikan atom hidrogen pada radikal lipid maka radikal lipid tersebut akan berubah menjadi bentuk lebih stabil dan tidak mengakibatkan kerusakan lebih lanjut.⁹

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Berdasarkan penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa terdapat pengaruh pemberian ekstrak meniran (*Phyllanthus niruri L.*) dosis bertingkat terhadap gambaran mikroskopis ginjal mencit Balb/C yang diinduksi metanil yellow.

Saran

Untuk mendapatkan hasil yang lebih baik, penelitian selanjutnya diharapkan memanfaatkan meniran (*Phyllanthus niruri L.*) dalam sediaan, dosis, dan lama pemberian yang lebih bervariasi serta menggunakan senyawa induksi lain selain metanil yellow. Selain itu dapat pula digunakan sistem skoring yang lebih spesifik.

DAFTAR PUSTAKA

1. Badan Pengawas Obat dan Makanan RI. Bahaya Keracunan Metanil Yellow Pada Pangan. Diunduh dari <http://ik.pom.go.id/v2014/artikel/bahaya-metanil-yellow-pada-pangan3.pdf> pada 5 Desember 2015.
2. Astomo AE. Analisis Rhodamin B dan Metanil Yellow dalam Jelly di Pasar Kecamatan Jebres Kotamadya Surakarta dengan Metode Kromatografi Lapis Tipis. Surakarta: Universitas Muhammadiyah Surakarta; 2008.
3. Suprptini RN, dkk. Kualitas Bahan Makanan dan Makanan Jajanan yang Dijual di Pasar Tradisional di Beberapa Kota di Indonesia. Jakarta: Universitas Indonesia; 2011.
4. Nath PP, Sarkar K. *Practice of Using Metanil Yellow as Food Colour to Process Food in Unorganized Sector of West Bengal*. International Food Research Journal 22(4): 1424-1428 (2015).
5. Susilo A, Akhmad I. Pengaruh Pemberian Metanil Yellow Peroral Dosis Bertingkat Selama 30 Hari Terhadap Gambaran Histopatologi Ginjal Mencit Balb/C. Semarang: Universitas Diponegoro; 2014.

6. Bouayed J, Torsten B. *Exogenous Antioxidants—Double-Edged Swords In Cellular Redox State*. *Oxid Med Cell Longev*. 2010 Jul-Aug; 3(4): 228–237.
7. Harish R, Shivanandappa T. *Antioxidant Activity and Hepatoprotective Potential of Phyllanthus niruri*. *Food Chem* [Internet]. 2006;95(2):180-5. Diakses dari: Sciencedirect.
8. Nakweti K. *Phytochemical Analysis of Phyllanthus niruri L. (Phyllanthaceae) Extracts Collected in Four Geographical Areas in the Democratic Republic of the Congo*. *African J Plant Sci* [Internet]. 2013;7(1):9–20. Diakses dari: Academicjournals.
9. Ardhini R. Pengaruh Pemberian Ekstrak Meniran (*Phyllanthus Sp.*) terhadap Gambaran Mikroskopik Ginjal Tikus Wistar yang Diinduksi Karbon Tetraklorida. Semarang: Universitas Diponegoro; 2006.