

## PENGARUH FITOESTROGEN *Cajanus Cajan* TERHADAP STRUKTUR JARINGAN GINJAL TIKUS PUTIH BETINA

Cicilia Novi Primiani<sup>1\*</sup>, Pujiati<sup>1</sup>, Gabriella Chandrakirana Krisnamurti<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Program Studi Pendidikan Biologi, FKIP Universitas PGRI Madiun  
Jl. Setia Budi 85 Madiun 63118

<sup>2</sup> Jurusan Biologi, FMIPA, Universitas Brawijaya  
Jl. Veteran, Lowokwaru, Malang 65145

\*E-mail: primiani@unipma.ac.id

### Abstrak

*Kacang gude (Cajanus cajan) merupakan tumbuhan Leguminoceae mengandung senyawa estrogenik. Senyawa estrogenik kacang gude mempunyai struktur kimia mirip 17  $\beta$  estradiol, mampu berikatan dengan reseptor estrogen, sehingga kacang gude disebut sebagai fitoestrogen. Pemanfaatan kacang gude sebagai estrogen alami, memerlukan kajian terhadap keamanan dan efektivitasnya. Tujuan penelitian untuk mengkaji pengaruh senyawa fitoestrogen terhadap struktur jaringan ginjal tikus putih betina. Penelitian menggunakan hewan coba duapuluh ekor tikus putih betina Sprague Dawley 6-7 bulan, dikelompokkan dua kelompok perlakuan. Hewan coba dipelihara dalam kandang kelompok. Kelompok I (P<sub>1</sub>) diberi larutan daidzein murni 0,024 mg/g dan kelompok II (P<sub>2</sub>) diberi larutan biji kacang gude 0,024 g/ml. Pemberian larutan menggunakan sonde, ke dalam lambung tikus setiap pagi, selama 28 hari. Pembedahan dan pengambilan organ ginjal dilakukan pada hari ke-29. Pembuatan preparat dengan pewarnaan Hematoksin Eosin. Analisis data secara diskriptif terhadap perubahan struktur jaringan ginjal, serta pengujian Anova. Hasil penelitian menunjukkan adanya nekrosis dan degenerasi melemak pada glomerulus dan tubulus ginjal hewan coba pemberian daidzein. Hasil uji Anova terhadap jumlah sel nekrosis glomerulus adalah  $F = 22,122$  dan sel nekrosis tubulus  $F = 14,174$ . Ada perbedaan jumlah sel nekrosis pada glomerulus dan tubulus ginjal hewan coba dengan pemberian daidzein dan kacang gude.*

**Kata kunci:** toksisitas, *Cajanus cajan*, ginjal

### 1. PENDAHULUAN

Biodiversitas tumbuhan di Indonesia merupakan potensi untuk dapat dikembangkan sebagai bahan obat. Kajian hasil penelitian farmasi saat ini banyak dikembangkan bahan-bahan aktif yang berasal dari bahan alam. Komponen senyawa kompleks pada bagian tumbuhan/hewan merupakan bahan baku pengembangan industri farmasi. Peracikan senyawa bahan alam sebagai bahan obat, banyak dikembangkan dalam bentuk bahan sintesis dan kurang optimal untuk dikembangkan sebagai jamu. Obat sintesis biasanya menggunakan satu model senyawa tunggal (aktif), sedangkan bahan alam menggunakan keseluruhan senyawa kompleks sebagai bahan aktif. Penggunaan bahan alam dalam bidang kesehatan sampai saat ini belum dilakukan secara optimal, baik sebagai pencegahan maupun pengobatan penyakit.

Tumbuhan famili Leguminoceae dengan varietas sangat beragam, banyak dimanfaatkan sebagai bahan pangan (sayuran), salah satu bahan pangan Leguminoceae adalah kedelai. Hasil-hasil penelitian kedelai telah banyak diaplikasikan dalam bidang pangan dan kesehatan. Keberagaman famili Leguminoceae belum banyak dieksplorasi kemanfaatannya seperti halnya kedelai. Salah satu Leguminoceae mirip kedelai sebagai bahan pangan lokal, tetapi sampai saat ini belum banyak dimanfaatkan masyarakat adalah kacang gude (*Cajanus cajan*) atau pigeon pie. Beberapa hasil penelitian terkait kacang gude yaitu adanya isoflavon sebagai senyawa dengan struktur mirip hormon estrogen (Primiani dan Pujiati, 2017). Larutan biji kacang gude sebagai senyawa fitoestrogen menyebabkan proliferasi jaringan ovarium dan mammae pada tikus betina (Primiani dan Pujiati, 2017).

Senyawa fitoestrogen merupakan senyawa dalam tumbuhan yang mempunyai struktur kimia mirip dengan hormon 17  $\beta$  estradiol, demikian juga aktivitas fisiologisnya mirip hormon estrogen (Kim *et al.*, 2008 dan Gaete *et al.*, 2012). Senyawa fitoestrogen mampu berikatan dengan reseptor estrogen dalam sistem tubuh (Nynca *et al.*, 2009). Kekuatan ikatan senyawa fitoestrogen dengan reseptor estrogen yang mirip dengan hormon estrogen, menyebabkan senyawa fitoestrogen dapat

melakukan aktivitas estrogenik dalam jaringan/organ yaitu dengan meningkatkan konsentrasi hormon estrogen dalam darah.

Struktur kimia bahan alam banyak diadopsi sebagai bahan senyawa sintesis yang saat ini semakin banyak dikonsumsi masyarakat. Pemilihan senyawa sintesis adanya suatu alasan bahwa senyawa sintesis lebih mudah, praktis dan cepat memberikan efek terapi. Masyarakat banyak memilih bahan-bahan sintesis dengan satu konsep senyawa aktif karena dianggap lebih cepat menyembuhkan. Efek samping pemberian senyawa sintesis tidak menjadi fokus perhatian masyarakat, meskipun digunakan dalam waktu lama.

Metabolisme senyawa dalam tubuh dapat dideteksi melalui ginjal dan hati. Proses metabolisme senyawa dalam tubuh mengalami tahap-tahap absorpsi, distribusi dan ekskresi. Peranan ginjal sebagai organ penting dalam metabolisme sangat menentukan kondisi homeostasis sistem tubuh. Ginjal sebagai salah satu organ untuk uji toksisitas suatu bahan obat memegang peran penting terhadap keberlanjutan senyawa/obat dalam sistem tubuh. Pengujian suatu bahan obat (obat herbal dan obat sintesis) pertama kali dilakukan secara uji preklinis. Penggunaan fitoestrogen biji kacang gude perlu dilakukan suatu pengujian organ ginjal dibandingkan penggunaan senyawa sintesis. Sehubungan dengan adanya toksisitas senyawa fitoestrogen kacang gude dalam sistem tubuh, maka penelitian ini penting, dengan tujuan mengkaji pengaruh senyawa fitoestrogen terhadap struktur jaringan ginjal tikus putih betina.

## 2. METODOLOGI

Penelitian dilakukan dengan pendekatan eksperimen untuk melakukan uji toksisitas biji kacang gude secara preklinis selama 28 hari. Hewan coba yang digunakan adalah tikus putih betina *Sprague dawley* umur 6-7 bulan berjumlah 10 ekor. Perlakuan I pemberian larutan biji kacang gude 1,5 ml perlakuan II pemberian larutan senyawa daidzein 0,5 ml masing-masing perlakuan berjumlah 5 ekor. Hewan coba dimasukkan ke dalam kandang kelompok, sebelum perlakuan terlebih dulu dilakukan aklimatisasi. Prosedur aklimatisasi diadopsi dan dikembangkan berdasarkan petunjuk pemeliharaan dan perlakuan hewan laboratorium oleh *National Research Council* (2011).

Setiap pagi diberikan perlakuan dengan cara sonde ke dalam lambung. Pakan harian menggunakan pellet susu A dan minum *ad libitum* perawatan hewan sesuai prosedur standar pemeliharaan hewan coba. Hewan coba dilakukan dislokasi leher pada hari ke-29. Selanjutnya dibedah dan dilakukan pengambilan organ ginjal. Proses berikutnya adalah pembuatan preparat jaringan sesuai prosedur mikroteknik dan pewarnaan hematoksilin-eosin (HE). Prosedur mikroteknik jaringan meliputi tahap-tahap fiksasi, dehidrasi, *cleaning*, infiltrasi, *embedding*, pengirisan dan tahap pewarnaan.

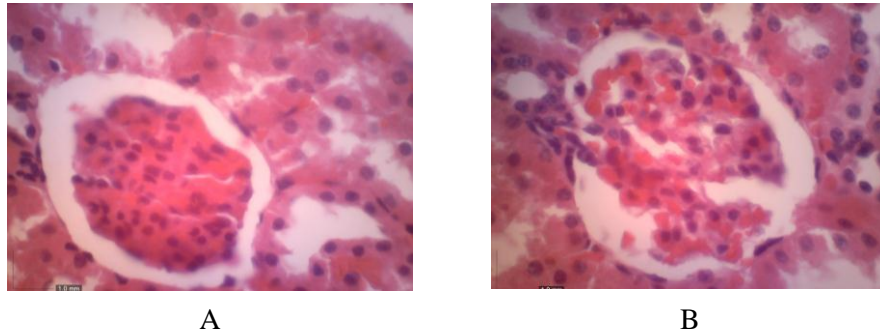
Alat yang digunakan adalah seperangkat kandang kelompok, satu set peralatan bedah, seperangkat mikrotom, seperangkat mikroskop dan kamera optilab, inkubator, timbangan digital HM-200 *counter* kaca benda dan kaca penutup, *beaker glass*, *disposable needle* lampu spiritus, kubus pencetak, pipet tetes, cawan petri, gelas arloji, *couple*. Bahan-bahan yang digunakan adalah larutan Bouin, alkohol 50%, alkohol 70%, alkohol 85%, alkohol 96%, alkohol absolut 100%, larutan xylol murni I, xylol murni II, parafin murni I, parafin murni II, zat warna haematoxylin *Delafield*, larutan  $\text{Li}_2\text{CO}_3$ , larutan HCl, eosin, formalin 3% dan perekat *haupt*, akuades.

Analisis data dilakukan secara diskriptif, dengan menganalisis jumlah sel ginjal yang mengalami nekrosis dihitung jumlahnya dengan indikator adanya piknotik, karioreksis dan kariolisis. Penghitungan jumlah sel pada glomerulus dan tubulus ginjal yang mengalami nekrosis dilakukan sebanyak 3 kali ulangan di tiap lokasi jaringan. Hasil penghitungan jumlah sel yang mengalami nekrosis dianalisis dengan uji anova satu jalur.

## 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Ginjal merupakan organ penting dalam sistem tubuh, sebagai organ homeostasis. Proses-proses penting metabolisme tubuh berkaitan erat dengan ginjal, yaitu pengaturan pH, pengaturan konsentrasi ion-ion (elektrolit) dan pengaturan komposisi air serta konstituen lain dalam darah. Partikel-partikel yang tidak dibutuhkan oleh tubuh akan mengalami eliminasi. Cairan intrasel dan ekstrasel juga diatur oleh ginjal. Secara fisiologis, ginjal melakukan fungsi filtrasi, reabsorpsi, sekresi dan augmentasi. Berdasarkan fungsinya, struktur jaringan ginjal dilengkapi dengan adanya nefron, yang terdiri dari bagian-bagian glomerulus, badan Malphigi, tubulus, dan arteriola.

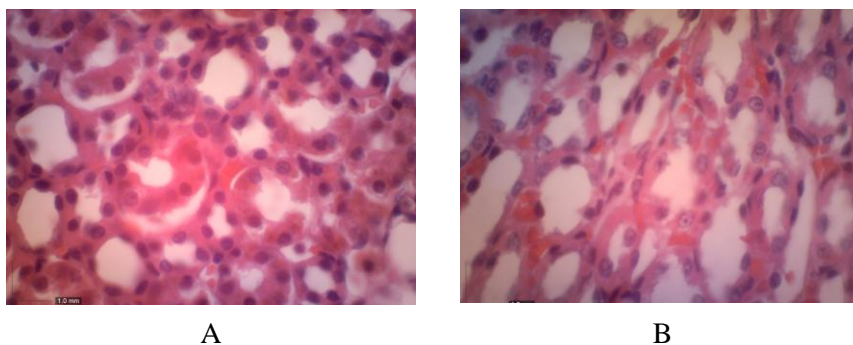
Hasil uji preklinis terhadap hewan coba tikus putih betina pemberian kacang gude (*Cajanus cajan*) serta pemberian preparat fitoestrogen sintetis (daidzein) menunjukkan adanya perbedaan. Pemeriksaan toksisitas dilakukan dengan indikator toksisitas adalah dengan perubahan struktur glomerulus dan tubulus ginjal, menghitung jumlah sel yang mengalami nekrosis dengan ciri-ciri: 1) inti sel mengalami piknotik, memadat, berwarna gelap, 2) karioreksis, dan 3) kariolisis. Perubahan struktur jaringan ginjal dengan indikator glomerulus dan tubulus ginjal, lumen tubulus, inti dan sitoplasma sel. Adapun struktur jaringan glomerulus dan tubulus ginjal seperti pada Gambar 1 dan Gambar 2



**Gambar 1. Struktur jaringan glomerulus tikus putih, Pewarnaan HE, 100X**

- (A) Perlakuan larutan kacang gude 0,024 g/ml
- (B) Perlakuan larutan daidzein murni 0,024 mg/g
- (A) Struktur glomerulus ginjal, dengan kapiler glomeruli, dikelilingi sel-sel epitel selapis pipih yang membentuk kapsula Bowman. Inti sel tidak mengalami perubahan
- (B) Struktur glomerulus ginjal dengan sel-sel mengalami degenerasi melemak. Beberapa inti sel mengalami piknotik dan karioreksis.

Pengamatan terhadap perubahan struktur ginjal dilakukan terhadap preparat ginjal hewan coba, pada bagian glomerulus dan tubulus ginjal. Gambar 1A dan Gambar 2A masing-masing adalah struktur jaringan glomerulus dan tubulus ginjal hewan coba dengan perlakuan larutan biji kacang gude. Gambar 1A struktur glomerulus tidak mengalami perubahan. Arteriola ginjal masuk dalam glomerulus, sel epitel glomerulus tidak mengalami perubahan. Kapsula Bowman dan rongga kapsula tidak mengalami perubahan. Lapisan bagian visceral epitel kapsula Bowman melekat pada bagian lamina basalis glomerulus dilapisi sel-sel podosit. Sel-sel podosit dan sel-sel endotelium kapiler glomerulus berfungsi sebagai proses filtrasi. Tubulus ginjal terdiri dari sel epitel selapis kuboid, dengan batas sel tidak jelas. Sitoplasma sel bersifat eosinofilik, pada permukaan sel terdapat mikrovili sehingga memberikan gambaran sebagai sel *brush border*. Sel-sel epitel tubulus pada Gambar 2A tidak mengalami perubahan



**Gambar 2. Struktur jaringan tubulus tikus putih, Pewarnaan HE, 100X**

- (A) Perlakuan larutan kacang gude 0,024 g/ml
- (B) Perlakuan larutan daidzein murni 0,024 mg/g
- (A) Struktur tubulus ginjal, dengan epitel selapis kuboid dengan *brush border*, dikelilingi sel-sel epitel selapis pipih yang membentuk kapsula Bowman. Inti sel tidak mengalami perubahan, sehingga batas sel dengan lumen tidak jelas. Jarak antar inti sel jauh.
- (B) Struktur tubulus ginjal dengan sel-sel mengalami degenerasi melemak. Beberapa inti sel mengalami piknotik dan karioreksis.

Gambar 1B dan Gambar 2B masing-masing adalah struktur jaringan glomerulus dan tubulus ginjal hewan coba dengan perlakuan larutan senyawa daidzein. Sel-sel glomerulus mengalami nekrosis, dengan ciri adanya piknotik dan karioreksis. Peristiwa nekrosis merupakan salah satu indikasi bahwa sel tidak dapat melakukan fungsi homeostasis dengan baik. Tanda-tanda lain pada glomerulus ginjal, yaitu beberapa bagian mengalami degenerasi melemak, sehingga kapsula Bowman mengalami ketidakteraturan. Tubulus ginjal terdiri dari tubulus konvulus proksimal, tubulus konvulus distal, dan tubulus kolektivus. Sitoplasma sel lumen tubulus hampir tidak ada, karena adanya lemak yang memadati tiap bagian sel. Vakuola lemak tampak memadati sitoplasma sel lumen tubulus, sehingga inti sel memadat ke tepi sel. Degenerasi melemak ginjal menyebabkan lumen tubulus ginjal lebih menyempit, ukuran sel tubulus ginjal tampak membesar. Uji statistik menunjukkan perbedaan jumlah sel nekrosis glomerulus hewan coba pada pemberian larutan daidzein murni dan larutan biji kacang gude (Tabel 1).

**Tabel 1 Uji one way anova perlakuan pemberian larutan daidzein murni dan larutan biji kacang gude terhadap nekrosis glomerulus**

	<i>Sum of Squares</i>	<i>df</i>	<i>Mean Square</i>	<i>F</i>	<i>Sig.</i>
<i>Between Groups</i>	207.389	1	207.389	22.122	.002
<i>Within Groups</i>	74.998	8	9.375		
<i>Total</i>	282.387	9			

Keterangan:

Nilai sig (0.002) < 0.05; terdapat pengaruh antara perlakuan terhadap nekrosis glomerulus, maka  $H_0$  ditolak

Hasil uji statistik menunjukkan adanya perbedaan jumlah sel nekrosis tubulus ginjal hewan coba pada pemberian larutan daidzein murni dan larutan biji kacang gude (Tabel 2).

**Tabel 2. Uji one way anova perlakuan pemberian larutan daidzein murni dan larutan biji kacang gude terhadap tubulus ginjal**

	<i>Sum of Squares</i>	<i>df</i>	<i>Mean Square</i>	<i>F</i>	<i>Sig.</i>
<i>Between Groups</i>	206.661	1	206.661	14.174	.006
<i>Within Groups</i>	116.645	8	14.581		
<i>Total</i>	323.306	9			

Keterangan:

Nilai sig (0.006) < 0.05; terdapat pengaruh antara perlakuan terhadap tubulus ginjal, maka  $H_0$  ditolak

Hasil uji anova menunjukkan adanya pengaruh pemberian larutan fitoestrogen biji kacang gude terhadap nekrosis glomerulus dan tubulus ginjal. Sel-sel pada glomerulus dan tubulus ginjal merupakan sel sangat peka terhadap senyawa-senyawa bersifat toksik maupun bahan kimia, terutamanya bahan sintetis. Degenerasi melemak terjadi kemungkinan disebabkan karena senyawa sintetis daidzein tidak mampu mengalami proses filtrasi secara sempurna. Senyawa sintetis dapat menyebabkan kerusakan jaringan apabila diberikan jangka waktu lama. Senyawa sintetis merupakan struktur kimia dengan satu senyawa tunggal, bekerja pada organ target.

Farmakokinetika dan farmakodinamikanya berbeda dengan senyawa kompleks dengan struktur lebih dari satu senyawa. Senyawa kompleks bersifat lebih dinamis dan bersifat “menyeimbangkan” antara satu senyawa dengan senyawa lain.

Kontrol kualitas dengan analisis secara kualitatif dan kuantitatif selalu dilakukan terhadap metode pengobatan menggunakan senyawa kompleks. Adanya senyawa multi komponen yang berperan dalam pengobatan herbal (obat tradisional) masing-masing senyawa akan memberikan kontribusi terhadap metabolisme jaringan. Senyawa kompleks dalam obat tradisional akan berperan saling melengkapi, sehingga terjadi keseimbangan dan homeostasis. Pengobatan herbal terjadi interaksi berbagai komponen dan multi target dibandingkan dengan satu senyawa tunggal (Liang *et al.*, 2010).

#### 4. KESIMPULAN

Pemberian daidzein murni 0,024 mg/g dapat menyebabkan perubahan/kerusakan struktur jaringan glomerulus dan tubulus ginjal adanya nekrosis dan degenerasi melemak ginjal. Pemberian larutan biji kacang gude 0,024 g/ml tidak menyebabkan kerusakan struktur jaringan ginjal. Uji anova menunjukkan jumlah sel nekrosis glomerulus adalah  $F = 22,122$  dan sel nekrosis tubulus  $F = 14,174$ .

#### UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih disampaikan kepada Ristek Dikti dalam program hibah penelitian dasar, serta terimakasih kepada bapak Johar Wahyudi yang telah membantu dalam pelaksanaan penelitian ini.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Gaete, L., Tchernitchin, A.N., Bustamante, R., Villena, J., Lemus, I., Gidekel, M., Cabrera, G., and Astorga, P. (2012). Daidzein-Estrogen Interaction in the Rat Uterus and Its Effect on Human Breast Cancer Cell Growth. *J. Med. Food.* 15(12):1081-1090.
- Kim, M., Han, J., and Kim, S.U. (2008). Isoflavone Daidzein: Chemistry and Bacterial Metabolism. *J Appl Biol Chem.* 51(6):253-261.
- Liang, Y., Hao, H. Xie, L., Kang A., Xie, T., Zheng X., Dai, C., Hao, K., Sheng L., and Wang, G., (2010). Development of a Systematic Approach to Identify Metabolites for Herbal Homologs Based on Liquid Chromatography Hybrid Ion Trap Time of Flight Mass Spectrometry: Gender Related Difference in Metabolism of *Schisandra* Ligands in Rats. *Drug Metabolism and Disposition.* 38(10):1747-1759.
- National Research Council. (2011). *Guide for The Care and Use of Laboratory Animals.* The National Academies Press: Washington, D.C.
- Nynca, A., Jablonska, O., Slomczynska, M., Petroff, B.K., and Ciereszko, R.E. (2009). Effects of Phytoestrogen Daidzein and Estradiol on Steroidogenesis and Expression of Estrogen Receptors in Porcine Luteinized Granulosa Cells from Large Follicles. *J Physiol Pharm.* 60(2):95-105.
- Primiani, C. N., & Pujiati, P. (2016, November). Characteristics of Pigeon Pea (*Cajanus Cajan*) Isoflavones Daidzein in Blood on Ovarian And Mammary Tissue Structure Rat Female. In *Prosiding Seminar Biologi* (Vol. 13, No. 1, pp. 593-597).
- Primiani, C. N., & Pujiati, P. (2017, February). LEGUMINOCEAE KACANG GUDE (*Cajanus cajan*) DAN MANFAATNYA UNTUK KESEHATAN. In *Prosiding Seminar Nasional Hasil Penelitian LPPM Universitas PGRI Madiun* (pp. 31-35).