

The Potential Of Red Roses Extract (*Rosa Damascena* Mill) As An Antiseptic Stomatitis In Snakes (*Python Reticulatus*) On The Total Number Leukocyte And Defferential Counting Of Leukocytes

Novi Setyaningrum¹, Dian Ayu Kartika Sari²
Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Wijaya Kusuma Surabaya¹
Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Wijaya Kusuma Surabaya²

ABSTRACT

*This study aimed to determine the effect of red roses extracts (*Rosa damascena* Mill) as an antiseptic stomatitis in snakes (*Python reticulatus*) on the total number leukocyte and defferential counting of leukocytes. Male snakes with an average weights 200 grams, length of ± 1 to 1.3 m, and derived from same parent, were used as experimental animals in the study. Statistical analysis method using ANOVA with five treatments and four repetitions were continued using HSD test if there were significant differences found in the study. The unhomogenous data processed by ANOVA were continuously processed using Kruskal Wallis test. The treatment groups consisted of the P0 (control +), the P1 (stomatitis control), the P2, P3, P4 (stomatitis treatment). P0 and P1 groups were given placebo the P2, P3, P4 each got a red rose flower extract 12,5%, 25%, 50%. Respectively medications were given topically, once a day, for two weeks. Blood sampling was performed after treatment, respectively counting number and type of leukocytes. Data were analyzed by ANOVA and Kruskal Wallis. Result showed there were no significant differences in leukocytes and all type of leukocytes cells, namely: heterophile, eosinophils, basophils, lymphocytes, and monocytes.*

Key word: leukocyte, *Python reticulatus*, *Rosa damascena* Mill, Stomatitis.

PENDAHULUAN

Ular (*Python reticulatus*) termasuk golongan reptil yang saat ini banyak dipelihara sebagai hewan peliharaan. Kurangnya pengetahuan tentang cara memelihara hewan yang satu ini mengakibatkan seringnya timbul masalah kesehatan seperti stomatitis atau *mouth-rot*. Stomatitis atau *mouth-rot* merupakan gejala infeksi sistemik pada reptil sehingga menyebabkan septikemia. Jika dibiarkan tidak diobati akan menyebabkan kerontokkan gigi dan kerusakan pada tulang rahang (Jacobson, 2007).

Pengobatan modern ternyata mengandung bahan-bahan bersifat sitotoksik, yang dapat merusak jaringan normal bersamaan dengan jaringan yang terluka, sehingga diperlukan tanaman herbal. Salah satu tanaman herbal yang mempunyai sifat antiseptik adalah bunga mawar merah (*Rosa damascena* Mill) (Wijayakusuma, 2008).

Penelitian ini mengamati pengaruh ekstrak bunga mawar merah (*Rosa damascena* Mill) sebagai antiseptik stomatitis pada ular (*Python reticulatus*) terhadap gambaran jumlah dan hitung jenis leukosit.

METODE PENELITIAN

Penelitian dilaksanakan mulai bulan Februari 2012 sampai Mei 2012. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Patologi dan Laboratorium Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Hewan Unair serta Laboratorium Fitokimia Fakultas Farmasi Unair Surabaya.

Bahan penelitian yang digunakan adalah Hewan coba ular (*Python reticulatus*) dengan jenis kelamin jantan, berat badan rata-rata 200-300 gram, dan panjang \pm 1-1,3 m; bunga mawar merah (*Rosa damascena* Mill); Metil Cellulosa (CMC) 0,5%; aquabides; EDTA, alcohol; Rees Ecker; dan Giemsa

Alat penelitian yang digunakan adalah 10 unit kandang ular dilengkapi dengan tempat minum, mortir, timbangan analitis, sendok plastik, gelas ukur, cotton bud, pinset, spuit 5 ml, spuit tuberkulin 1 ml, needle, tabung darah, glove, masker, pipet leukosit dari thoma, kamar hitung improved neubauer, blood cell counter, object glass, cover glass dan mikroskop.

Pembuatan Ekstrak Bunga Mawar Merah (*Rosa damascena* Mill)

Bunga mawar merah ditimbang seberat 500 gram kemudian bunga mawar merah digiling hingga hancur, lalu hasil gilingan dimasukkan ke dalam toples dan direndam dalam etanol 96%. Perendaman dalam etanol 96% dilakukan selama tiga hari dan tiap hari dilakukan penyaringan serta penggantian etanol 96%. Proses berikutnya adalah ekstrak etanol 96% dipekatkan dalam penguap putar (Rotary Vacuum Evaporator) pada suhu 30°C - 40°C, tujuannya adalah untuk memisahkan etanol 96% dari senyawa yang telah berhasil ditariknya (Harborne, 1987).

Pembuatan Stomatitis Kronis pada ular (*Python reticulatus*)

Mula-mula ular diadaptasikan dahulu di kandang dan diberi pakan yang disediakan selama satu minggu agar ular tersebut dapat beradaptasi dengan lingkungannya. Manipulasi stomatitis dilakukan dengan metode sebagai berikut :

1. Membuat luka goresan pada mukosa mulut pada bagian *pallatum molle* hingga mukosa bibir sepanjang 0,5 cm.
2. Menutup mulut ular dengan isolasi dengan tujuan menciptakan suasana anaerob pada rongga mulut. Selanjutnya dipelihara didalam kandang tanpa dibersihkan dan diletakkan pada tempat yang gelap. Perlakuan ini diberikan selama 2 minggu, dan dievaluasi untuk memastikan terjadinya stomatitis.

Perlakuan Terapi pada Ular (*Python reticulatus*)

Terapi dilakukan secara topikal dengan perlakuan masing-masing ular sebagai berikut :

- P0 : Ular sehat + placebo (kontrol)
 - P1 : Ular dengan stomatitis kronis + placebo
 - P2 : Ular dengan stomatitis kronis + ekstrak bunga mawar merah 12,5 %
 - P3 : Ular dengan stomatitis kronis + ekstrak bunga mawar merah 25 %
 - P4 : Ular dengan stomatitis kronis + ekstrak bunga mawar merah 50 %
- Pengobatan diberikan topikal, satu hari sekali, selama dua minggu.

Pada penelitian ini digunakan Rancangan Acak Lengkap dengan lima macam perlakuan dan empat macam ulangan. Data yang diperoleh disusun dalam satu

tabel, selanjutnya dilakukan uji ANOVA, bila terdapat perbedaan yang nyata dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Jujur (BNJ) (Kusriningrum, 2008). Data yang telah diolah dengan ANOVA, apabila hasilnya tidak homogen perlu diolah secara Kruskal Wallis. Seluruh proses analisis tersebut dikerjakan dengan program SPSS 13 for Windows.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Bunga mawar merah (*Rosa damascena* Mill) diyakini berkhasiat dalam penyembuhan luka karena memiliki kandungan *limonene*. Senyawa ini selain berpotensi sebagai antiseptik, juga memiliki efek vasokonstriksi pada kapiler (Rukmana, 1995). Vasokonstriksi pembuluh darah merupakan tahapan awal yang penting pada proses penyembuhan luka dan merupakan respon fisiologis yang bertujuan untuk menghentikan perdarahan (Mc Gavin and Zachary, 2007).

Khasiat vasokonstriktor pembuluh darah dan kandungan senyawa *limonene* yang berperan sebagai antiseptik, merupakan kombinasi yang sinergik dan ampuh dalam menekan perkembangan bakteri (Legowo dkk, 2012). Mekanisme kerja antiseptik terhadap mikroorganisme berbeda-beda, misalnya saja dengan mendehidrasi (mengeringkan) bakteri, mengoksidasi sel bakteri, mengkoagulasi (menggumpalkan) cairan di sekitar bakteri, atau meracuni sel bakteri (Antika, 2011).

Tabel 1. Rata-rata persentase dan Standar Deviasi (SD) Jumlah leukosit pasca perlakuan

Perlakuan	± SD
P0	44113 ± 5151a
P1	38100 ± 7548a
P2	40650 ± 5479a
P3	46500 ± 2469a
P4	44200 ± 1937a

Keterangan : Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan nyata ($p < 0,05$)

Berdasarkan hasil penelitian pada tabel diatas, pengaruh pemberian ekstrak bunga mawar merah (*Rosa damascena* Mill) terhadap dalam jumlah leukosit ular (*Python reticulatus*) tidak didapatkan perbedaan yang nyata. Hasil ini diakibatkan karena reaksi

radang atau inflamasi yang terjadi pada mukosa mulut dan proses penyerapan ekstrak bunga mawar merah (*Rosa damascena* Mill) secara topikal memberikan pengaruh penyembuhan pada stomatitis.

Pengaruh pemberian terapi ekstrak bunga mawar merah (*Rosa damascena* Mill) juga berpengaruh menyembuhkan stomatitis apabila diperiksa secara histopatologis pada mukosa mulut ular dengan pemberian ekstrak bunga mawar merah dengan dosis 25%, karena dosis 25% ekstrak mawar merupakan dosis optimal karena terbukti efektif dalam mereduksi perkembangan bakteri pada luka sehingga merangsang proses penyembuhan (Legowo dkk, 2012).

Pada P0 (kontrol sehat diterapi dengan placebo) dan P1 (kontrol stomatitis diterapi dengan placebo) tidak terdapat perbedaan yang nyata. Hasil ini terjadi karena kemungkinan pada hewan coba P1 peradangan mulai berhenti karena antibodi yang telah dibentuk pada tubuhnya sendiri.

Terapi topikal merupakan metode yang nyaman dan aman. Keuntungan utamanya adalah dapat memintas jalur metabolisme obat pertama (*first-pass metabolism*) di hati. Terapi topikal juga dapat menghindari risiko dan ketidaknyamanan seperti pada terapi yang diberikan secara intravena, serta berbagai hal yang mempengaruhi penyerapan obat pada terapi peroral, misalnya perubahan pH, aktivitas enzim, dan pengosongan lambung (Asmara dkk, 2012).

Ada beberapa metode yang digunakan untuk menghitung jumlah total leukosit (WBC) pada reptil, karena adanya eritrosit berinti dan trombosit. Metode tersebut antara lain: metode *Natt and Herrick*, metode Rees Eckers, metode dengan larutan Ammonium Oksalat, dan metode semidirect menggunakan larutan phloxine (Waters, 2012). Jumlah leukosit akan menurun selama hibernasi dan meningkat karena adanya peradangan, infeksi dan neoplasia haemopoietik (Waters, 2012).

Penghitungan jumlah sel leukosit menurut metode *Natt and Herrick* berbeda dengan metode Rees Eckers. Salah satunya yang membedakan adalah pengenceran dan rumus penghitungan jumlah total leukositnya. Pada metode Rees Eckers perbandingan pengencerannya 1:20 dengan rumus jumlah total leukositnya $(N) \times 50 =$

Jumlah leukosit per μ l darah (Bijanti dkk, 2010). Menurut Bijanti (2013) pada metode *Natt and Herrick* perbandingan pengencerannya 1:200 dengan rumus jumlah total leukosit per μ l darah adalah:

Total leukosit di 9 bidang besar + (10% jumlah total leukosit) X 200

Lima jenis sel leukosit yang diidentifikasi dalam darah perifer ular (*Python reticulatus*) adalah heterofil, eosinofil, basofil, limfosit dan monosit.

Jumlah heterofil dan eosinofil tidak menunjukkan perbedaan yang nyata antara kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol. Menurut Waters (2012) peningkatan yang signifikan dalam jumlah heterofil akan terjadi apabila adanya inflamasi karena infeksi parasit dan mikroba. Peningkatan jumlah heterofil juga dapat terjadi dengan adanya reaksi non-inflamasi seperti stres.

Menurut Jacobson (2007), Ular mengalami kesulitan dalam menjaga keseimbangan tubuhnya apabila terkena stres. Stres pada ular biasanya diakibatkan oleh perlakuan dan faktor lingkungan seperti: adanya getaran, temperatur yang berubah-ubah, perpindahan kandang, dan birahi. Kegagalan dalam menjaga stabilitas kondisi tubuh inilah yang mengakibatkan penurunan sistem kekebalan tubuh ular.

Selama terjadinya stres, hormon yang berasal dari hipotalamus ikut berperan. Hipotalamus mensekresikan *Corticotropin Releasing Faktor* (CRF) ke hipofisa anterior. Selanjutnya hipofisa anterior mensintesa *Adrenocorticotropin Hormon* (ACTH) dan kemudian disekresikan ke seluruh pembuluh darah. Adaptasi fisiologi tubuh ular selama stres dicirikan oleh meningkatnya hormon ACTH. Korteks adrenal akan terangsang mensekresikan corticosteroid yang akan mempengaruhi membran sel-sel hati. Selama stres, jumlah ACTH yang disekresikan oleh hipofisa anterior melebihi jumlah ACTH yang diperlukan untuk menimbulkan pengeluaran glukokortikoid (Davis, *et all.*, 2008).

Jumlah basofil tidak menunjukkan perbedaan yang nyata antara kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol. Hal ini dapat dijelaskan berdasarkan pendapat Bijanti dkk (2010), bahwa basofil jarang sekali ditemukan dalam darah kebanyakan

hewan secara normal. Waters (2012) melaporkan bahwa jumlah basofil tidak dipengaruhi oleh faktor musiman dan basofil akan terlihat meningkat apabila adanya infeksi parasit.

Limfosit, terlibat dalam berbagai fungsi imunologi seperti produksi imunoglobulin dan kekebalan tubuh (Davis, *et all*, 2008). Jumlah limfosit sangat variabel dan dipengaruhi oleh faktor fisiologis, termasuk spesies, usia (reptil muda cenderung memiliki angka sedikit lebih tinggi), jenis kelamin (reptil betina dari beberapa spesies memiliki jumlah limfosit lebih tinggi dari reptil jantan), musim (umumnya jumlah terendah di musim dingin dan tertinggi di musim panas) dan peningkatan *ecdysis*. Penurunan jumlah limfosit dapat terjadi dengan adanya malnutrisi dan beberapa infeksi virus akut (Waters, 2012). Monosit umumnya terjadi dalam jumlah yang rendah dalam darah perifer reptil paling dan umumnya berkisar antara 0% dan 3% . Fungsi utama monosit memfagosit partikel besar dan umumnya terdapat dalam jumlah yang rendah dalam darah perifer reptil (Waters, 2012).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil yang telah diteliti, maka dapat disimpulkan :

Pemberian ekstrak bunga mawar merah (*Rosa damascena* Mill) terhadap jumlah dan hitung jenis leukosit mampu menyembuhkan stomatitis pada ular (*Python reticulatus*).

DAFTAR PUSTAKA

- Antika, L.T. 2011. Uji daya antimikroba dari antiseptik. <http://linda-haffandi.blogspot.com/2011/11/uji-daya-antimikroba-dari-aseptik.html>. [23 Februari 2013]
- Asmara, A., S.F Daili., T. Noegrohowati., Ida Zubaedah. 2012. Vehikulum dalam Dermatoterapi Topikal. FK Universitas Indonesia dan RS. dr. Cipto Mangunkusumo Jakarta Vol.39, No.1.
- Bijanti R, M.G.A Yuliani, R.S Wahjuni, R.B Utomo. 2010. Buku Ajar

- Patologi Klinik Veteriner, Edisi Pertama. Surabaya: Airlangga University Press.
- Bijanti R. 2013. Hematologi Reptil (Teknik Pengambilan Darah dan Pemeriksaan Hematologi Reptil). Laboratorium Patologi Klinik Veteriner, Departemen Kedokteran Dasar Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.
- Davis, A.K., D. L. Maney., J. C. Maerz. 2008. *The use of leukocyte profiles to measure stress in vertebrates: a review for ecologists*. Journal compilation © 2008 British Ecological Society, *Functional Ecology*, 22, 760–772.
- Harborne, J.B. 1987. Metode Fitokimia. Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan. Penerbit ITB. Bandung.
- Jacobson, E. R. 2007. *Infectious Diseases and Pathology of Reptiles*. United State of America: CRC Press Taylor & Francis Group.
- Kusriningrum. 2008. Perancangan Percobaan. Airlangga University Press. Surabaya.
- Legowo, D., N. Setyaningrum., F.D Prabayuda., R.M Safitrianti., W.S Safitri. 2012. Efektifitas Ekstrak Bunga Mawar Merah (*Rosa damascena* Mill) sebagai Antiseptik terhadap Pengobatan Stomatitis Kronis pada Ular Python (*Python reticulatus*). Veterinaria Medika Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Vol 5, No.2.
- Mc Gavin and Zachary. 2007. *Pathologic Basis Veterinary Disease*. Missouri: Mosby Elseiver.
- Rukmana, R. 1995. Mawar. Yogyakarta: Kanisius.
- Waters, M. 2012. *Reptile Hematology*. Department of Pathology and Infectious Diseases. Royal Veterinary College, University of London.
- Wijayakusuma, H. M. H. 2008. Ramuan Lengkap Herbal Taklukkan Penyakit. Jakarta: Pustaka Bunda.

