



Efek Kombinasi Ekstrak Etanol Herba Sambiloto (*Andrographis Paniculata*) Dan Daun Kelor (*Moringa Oleifera*) Terhadap Kadar Ureum dan Kreatinin pada tikus wistar yang Diinduksi Streptozotocin

Nurwani Purnama Aji ^{1,2)}, Moch.Saiful Bachri²⁾, Nurkhasanah²⁾

¹⁾ Akademi Farmasi Al-Fatah, Bengkulu

²⁾ Universitas Ahmad Dahlan, Yogyakarta

nurwanip@yahoo.com

ABSTRAK

Diabetes mellitus merupakan penyakit akibat kekurangan produksi insulin oleh pankreas yang menyebabkan tingginya konsentrasi glukosa dalam darah, sehingga terjadi kerusakan pada pembuluh darah di ginjal yang dapat menimbulkan gangguan pada filtrasi glomerulus, dimana kerusakan ini dilihat dari peningkatan kadar ureum dan kreatinin dalam darah. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui pengaruh pemberian kombinasi ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera*) dan ekstrak etanol daun sambiloto (*Andrographis paniculata*) dalam mencegah peningkatan kadar ureum dan kreatinin pada tikus Wistar yang diinduksi streptozotocin. Tikus dibagi menjadi 8 kelompok yang terdiri dari kelompok 1 (tikus normal), kelompok 2 (Hiperglikemik), kelompok 3 (ekstrak etanol daun kelor), kelompok 4 (Ekstrak etanol herba sambiloto), kelompok 5 (Kombinasi 1,5:1,5), kelompok 6 (Kombinasi 2:1), dan kelompok 7 (Kombinasi 1:2) kelompok 8 (Gliclazid). Penelitian dilakukan selama 28 hari, parameter yang diamati adalah kadar ureum dan kreatinin pada hari pra-induksi, hari ke-14 dan hari ke -28. Hasil penelitian menunjukkan ekstrak etanol daun kelor dan ekstrak etanol herba sambiloto dapat menurunkan kadar ureum dan kreatinin pada tikus Wistar yang berbeda signifikan terhadap kontrol normal dan kontrol negatif ($P > 0,05$), tetapi tidak berbeda signifikan antar perlakuan ($P < 0,005$), dimana pada kelompok 7 kombinasi 1:2 menurunkan kadar ureum menjadi $49,58 \pm 4,38$ dan kreatinin $1,45 \pm 0,17$ ($P < 0,05$). Pemberian

kombinasi ekstrak etanol daun kelor dan herba sambiloto dapat mencegah peningkatan kadar ureum dan kreatinin pada tikus Wistar yang diinduksi STZ.

Kata kunci : Sambiloto ; kelor ; ureum ; kreatinin

PENDAHULUAN

Diabetes mellitus berdasarkan World Health Organization (WHO) adalah penyakit kronis yang disebabkan oleh kekurangan produksi insulin yang diturunkan dan atau didapat dalam produksi insulin oleh pankreas, atau oleh ketidak efektifan insulin yang dihasilkan. Kekurangan tersebut menyebabkan terjadinya hiperglikemik, yang pada gilirannya merusak banyak sistem tubuh, khususnya pembuluh darah dan saraf. Bila gejala-gejala tersebut tidak diobati dan berlangsung lama dapat menyebabkan komplikasi jangka panjang misalnya kerusakan ginjal (Geurin J.C., and Reveillere H.P., 2011). Dari data yang dikumpulkan oleh Indonesia Renal Registry (IRR) pada tahun 2016 didapatkan penyebab kedua pasien yang gagal ginjal yang mendapatkan hemodialisis adalah diabetes mellitus (Nefropati Diabetik) sebanyak 4404 jiwa atau 25 %.

Hiperglikemik merupakan faktor awal dalam pengembangan komplikasi diabetes kronik termasuk nefropati diabetik akibat kerusakan pada pembuluh darah di ginjal sehingga menimbulkan gangguan pada

filtrasi glomerulus sebagai penyaring darah, hiperglikemik yang terjadi akan membuat struktur ginjal berubah sehingga fungsinya pun terganggu, perubahan fungsi ini dapat dilihat dari peningkatan kadar ureum dan kreatinin (Edmund, L, 2010)

Peningkatan kadar ureum dan kreatinin disebabkan adanya kerusakan pada filtrasi glomerulus (Wintarsih, I.R dkk, 2012), Kerusakan ini dapat terjadi karena adanya paparan zat yang bersifat toksik seperti halnya Streptozotocin (STZ) yang merupakan agen diabetagonik yang dapat menghancurkan sel β pankreas (Reza, H., dan John, A, 2013), STZ memproduksi NO yang tinggi sehingga meningkatkan aktivitas iNOS (Include Nitric Oxide Synthase) dan menyebabkan supresi dari eNOS (Endothelial Nitric Oxide Synthase) hilangnya anti trombogenik endotel, terjadi vasokonstriksi pembuluh darah dan meningkatkan adesi neutrofil, dimana aktivitas iNOS menyebabkan cedera pada sel tubular dan peningkatan motilitas neutrofil sehingga terjadi iskemik pada ginjal dan glomerulonefritis akibat adanya aktivitas dari NO (Sharma, S.P., 2004). STZ dapat

meningkatkan produksi radikal bebas berlebih dan menyebabkan stress oksidatif (Tandi J., 2017) oleh sebab itu dibutuhkan senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan untuk mencegah terjadinya stress oksidatif.

Beberapa tanaman yang memiliki senyawa antioksidan antara lain adalah Herba sambiloto (*Andrographis paniculata*) dan juga daun kelor (*Moringa oleifera*). ekstrak daun kelor mengandung senyawa aktif kuersetin dan koempferol, yang berperan sebagai antioksidan melindungi sel β pankreas dari kerusakan, meningkatkan pertahanan antioksidan seluler, dan meminimalkan hiperglikemia pada diabetes (Gupta,R., 2009). Sementara itu pada herba sambiloto mengandung senyawa andrografolid yang dapat berperan dalam perbaikan sel-sel β -insulin langerhans dan dapat meningkatkan sekresi insulin (Yulinah, E., Sukrasno, Fitri, M.A., 2011), sehingga kombinasi kedua ekstrak ini sebagai nefroprotektor dengan mekanisme kerja yang berbeda dapat bekerja secara sinergis dalam menurunkan hiperglikemia serta memperbaiki struktur histologi jaringan ginjal tikus Wistar yang diinduksi STZ.

METODA PENELITIAN

Bahan

Tanaman segar sambiloto dan kelor diperoleh dari daerah Tasikmadu, Karanganyar, Jawa

Tengah dan dilakukan determinasi di Laboratorium Biologi, FMIPA, Universitas Ahmad Dahlan, Yogyakarta, Streptozotocin (Sigma-Aldrich®), reagen Ureum Fs (Dyasis®), reagen Kreatinin FS (Dyasis®).

Metoda

Pembuatan Ekstrak Etanol Herba sambiloto dan Daun Kelor

Simplisia dicuci, dikeringkan menggunakan oven pada suhu 50°C, kemudian dihaluskan dan diayak dengan mesh No.12. serbuk kering ditimbang dan diekstrak dengan cara maserasi, diekstraksi selama 24 jam dengan menggunakan pelarut etanol 70% (perbandingan serbuk dan pelarut 1:5), kemudian disaring menggunakan kertas saring sehingga diperoleh filtrat (sari). Selanjutnya filtrat diuapkan dengan vacum rotary evaporator pada suhu 60°C sampai pelarutnya sudah tidak menetes dan dilanjutkan dengan waterbath pada suhu 50°C sehingga diperoleh ekstrak kental. Kemudian dilakukan penetapan kadar kandungan andrografolida dalam ekstrak etanol herba sambiloto dan kuersetin dalam ekstrak etanol daun kelor menggunakan KLT Densitometri serta pemeriksaan ekstrak menggunakan GC-MS untuk mengetahui ada tidaknya kandungan alkohol di dalam ekstrak tersebut.

Hewan Uji

Tikus jantan galur Wistar usia 2-3 bulan, diadaptasikan di kandang hewan uji selama 1 minggu di kandang plastik yang ditutup dengan anyaman kawat di Laboratorium hewan uji kampus 3 Universitas Ahmad Dhalan (UAD). Tikus dipelihara dan diberi pakan, minum yang sama dan telah mendapat persetujuan penelitian dari komite etik penelitian di UAD Dengan nomor 011801014.

Tikus jantan galur Wistar sebanyak 32 ekor dibagi menjadi 8 kelompok secara acak (random). Setiap kelompok terdiri dari 4 ekor tikus. Kelompok 1 (kelompok normal), kelompok 2 (diberi induktor diabetes STZ i.p dan CMC-Na..0,5 % p.o), Kelompok 3 (Diinduksi STZ i.p dan diberi suspensi ekstrak EEDK 300 mg/ kg BB per oral), kelompok 4 (Diinduksi STZ i.p dan diberi suspensi EEHS 300 mg/ kg BB per oral), kelompok 5 (diinduksi STZ i.p dan diberi suspensi kombinasi EEDK 150 mg/ kg BB.+ EEHS 150 mg/ kg BB per oral), kelompok 6 (Diinduksi STZ i.p dan diberi suspensi kombinasi EEDK 200 mg/ kg.BB.+ EEHS

100 mg/ kg BB per oral) dan kelompok 7 (Diinduksi STZ i.p dan diberi suspensi kombinasi EEDK 100 mg/ kg BB + EEHS 200 mg/ kg BB per oral), kelompok 8 (Sebagai kontrol positif, diinduksi STZ i.p dan diberi suspensi Gliclazide 5 mg/ kg BB per oral).

Analisi Data

Data yang diperoleh dianalisis dengan SPSS 16 untuk data pengukuran kadar ureum dan kreatinin dianalisa dengan menggunakan metoda analisis ANOVA repeated measure dilanjutkan dengan Bonferroni untuk mengetahui adanya perbedaan antar waktu dan antar kelompok.

Hasil Penetapan Kadar Kreatinin

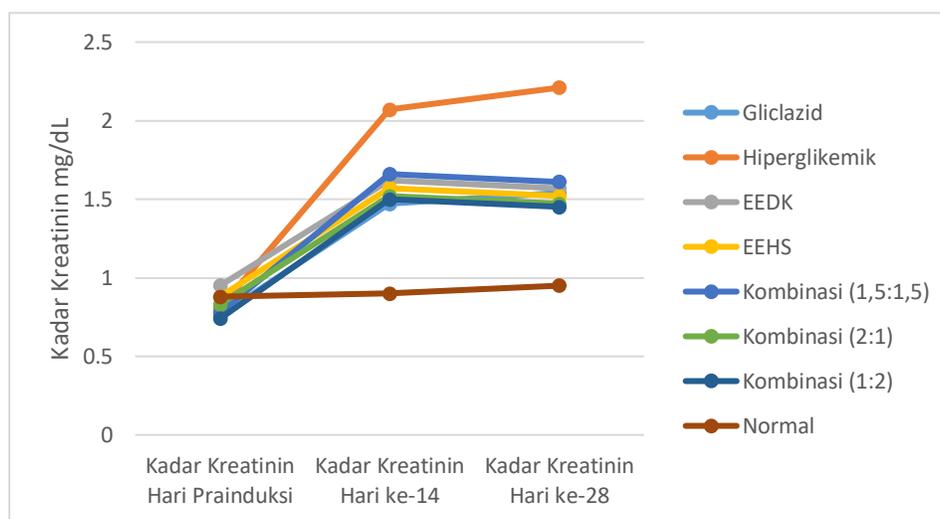
Kadar Kreatinin yang diinduksi STZ setelah 28 hari perlakuan mengalami penurunan namun belum signifikan dibandingkan dengan normal. Kelompok yang mengalami penurunan terbesar adalah kelompok 7 (Kombinasi EEDK 100mg/KgBB dan EEHS 200mg/KgBB). kadar kreatinin selama perlakuan dapat dilihat pada Tabel 1 dan gambar 1.

Tabel 1. Efek Kombinasi EEHS dan EEDK Terhadap Kadar Kreatinin Pada Tikus Diabetes Yang Diinduksi STZ

Kelompok	Hari Pra induksi	Hari ke-14	Hari ke-28
Normal	0.88±0.12 ^{aA}	0.92±0.89 ^{aB}	0.95±0.77 ^{bB}
Hiperglikemik	0.81±0.12 ^{cA}	2.07±0.54 ^{cB}	2.21±0.21 ^{cB}
EEDK	0.95±0.10 ^{bA}	1.62±0.15 ^{bB}	1.57±0.12 ^{bB}
EEHS	0.88±0.22 ^{bA}	1.57±0.25 ^{bB}	1.52±0.17 ^{bB}
Kombinasi (1,5 : 1,5)	0.78±0.21 ^{bA}	1.66±0.12 ^{bB}	1.61±0.20 ^{bB}
Kombinasi (2:1)	0.83±0.11 ^{bA}	1.52±0.29 ^{bB}	1.47±0.25 ^{bB}
Kombinasi (1:2)	0.74±0.90 ^{bA}	1.50±0.15 ^{bB}	1.45±0.17 ^{bB}
Gliclazide	0.76±0.19 ^{bA}	1.47±0.22 ^{bB}	1.54±0.16 ^{bB}

Ket : ^{abc} pada kolom yang sama dengan huruf kecil yang berbeda menunjukkan perbedaan signifikan antar perlakuan.

^{AB} pada pada baris yang sama dengan huruf kapital berbeda menunjukkan perbedaan signifikan dengan waktu pengukuran.



Gambar 1. Grafik Kadar Kreatinin Tikus Selama Perlakuan Dari Prainduksi, Hari Ke-14 Dan Hari Ke-28

Kadar kreatinin pada tikus Wistar yang diinduksi SZT dengan dosis 45mg/KgBB menunjukkan peningkatan kadar kreatinin yang signifikan dibandingkan dengan kelompok kontrol normal, hal ini disebabkan pemberian injeksi STZ yang menyebabkan

pankreas membengkak terjadi degenerasi hingga nekrosis pada pulau langerhans sel β pankreas yang dapat menyebabkan kerusakan metabolisme pada hati dan ginjal (Akbarzadeh et al, 2007), kerusakan yang terjadi pada ginjal mengakibatkan penurunan

fungsi filtrasi ginjal sehingga kadar kreatinin dalam serum akan meningkat (Rodrigue, W.F, et.al, 2014) dari hasil statistik adanya perbedaan bermakna ($p < 0,05$) antara kontrol negatif terhadap kontrol positif, kontrol normal dan kelompok perlakuan.

Hasil analisis kadar kreatinin pada tikus Wistar pada kelompok 3 diberi EEDK dengan dosis 300 mg/KgBB, kelompok 4 diberi EEHS dengan dosis 300 mg/KgBB, pada kelompok 5 diberi kombinasi EEDK 150 mg/KgBB dan EEHS 150 mg/KgBB, pada kelompok 6 diberi kombinasi dengan dosis EEDK 200mg/KgBB dan EEHS 100 mg/KgBB, dan kelompok 7 diberi kombinasi EEDK 100 mg/KgBB dan EEHS 200 mg/KgBB, mampu menurunkan kadar kreatinin secara signifikan dibandingkan dengan kontrol negatif dan penurunan kadar kreatinin tidak signifikan terhadap kontrol positif, dari hasil perlakuan tersebut dapat dilihat bahwa pemberian ekstrak dalam bentuk tunggal maupun dalam bentuk kombinasi dengan dosis yang berbeda dapat memberikan efek penurunan kadar kreatinin yang berbeda antar perlakuan meskipun penurunan ini tidak berbeda signifikan ($p > 0,05$).

Penurunan kadar kreatinin pada penelitian ini menunjukkan bahwa EEDK dan EEHS dapat memberikan pengaruh terhadap kadar

kreatinin, Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Adeyemi dan Elebiyo (2014) (Adeyemi, O.S., Elebiyo, T.C., 2014) yang menyatakan bahwa daun kelor dapat mengurangi kadar ureum dan kreatinin dalam darah

Dari hasil pengujian menunjukkan bahwa dengan pemberian STZ dengan dosis 45 mg/KgBB, dapat menyebabkan terjadinya kematian sel pada sel β pankreas sehingga berakibat pada kenaikan gula darah dalam meningkatkan ROS (Reza,H., dan John,A., 2013), keadaan gula darah yang meningkat menyebabkan terjadinya stress oksidatif, dalam kondisi tersebut produksi NO meningkat sehingga menyebabkan pelepasan mediator-mediator vasokonstriksi yang akan mempengaruhi fungsi ginjal yaitu terjadinya penurunan laju filtrasi glomerulus yang akan mengakibatkan peningkatan kadar ureum dan kreatinin.

Hasil Penetapan Kadar Ureum

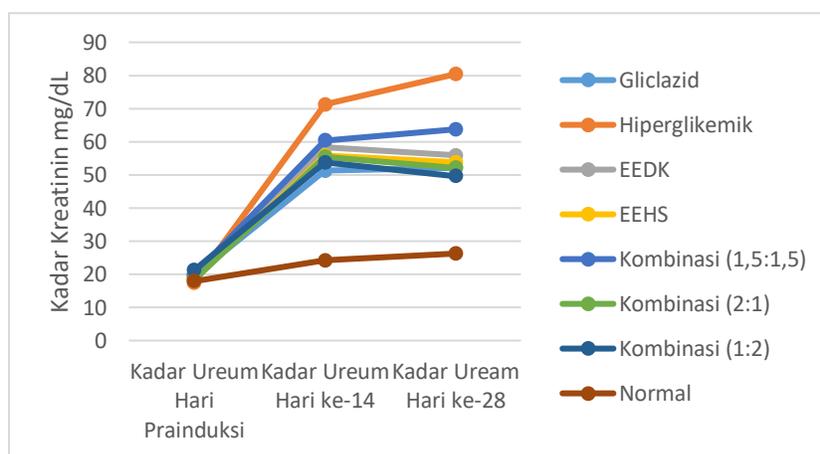
Kadar Ureum yang diinduksi STZ setelah 28 hari perlakuan mengalami penurunan namun belum signifikan dibandingkan dengan normal. Kelompok yang mengalami penurunan terbesar adalah kelompok 7 (Kombinasi EEDK 100mg/KgBB dan EEHS 200mg/KgBB), kadar kreatinin selama perlakuan dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Efek Kombinasi EEHS dan EEDK Terhadap Kadar Ureum Pada Tikus Diabetes Yang Diinduksi STZ

Kelompok	Hari Pra induksi	Hari ke-14	Hari ke-28
Normal	17.91±2.49 ^{Aa}	24.16±7.75 ^{Ba}	26.25±6.57 ^{Ba}
Hiperglikemik	17.50±2.15 ^{Ad}	71.25±7.62 ^{Bd}	80.41±3.69 ^{Bd}
EEDK	19.16±3.19 ^{Abc}	58.33±6.23 ^{Bbc}	55.83±7.38 ^{Bbc}
EEHS	18.75±2.84 ^{Abc}	55.83±7.51 ^{Bbc}	53.75±9.56 ^{Bbc}
Kombinasi (1,5 : 1,5)	20.00±3.59 ^{Ac}	60.41±8.96 ^{Bc}	63.75±6.14 ^{Bc}
Kombinasi (2:1)	18.33±3.59 ^{Abc}	55.41±7.74 ^{Bbc}	52.08±5.16 ^{Bbc}
Kombinasi (1:2)	21.25±1.59 ^{Ab}	53.75±11.16 ^{Bb}	49.58±4.38 ^{Bb}
Gliclazide	19.58±3.34 ^{Ab}	51.25±12.57 ^{Bb}	52.08±7.98 ^{Bb}

Ket : ^{abc} pada kolom yang sama dengan huruf kecil yang berbeda menunjukkan perbedaan signifikan antar perlakuan.

^{AB} pada pada baris yang sama dengan huruf kapital berbeda menunjukkan perbedaan signifikan dengan waktu pengukuran.



Gambar 2. Kadar Ureum Tikus Selama Perlakuan Dari Hari Prainduksi, Hari Ke-14 Dan Hari Ke-28

Berdasarkan data ureum yang diperoleh setelah diberikan perlakuan dapat dilihat pada tabel 2 dan gambar 2 menunjukkan peningkatan kadar ureum tikus Wistar yang diinduksi STZ dengan dosis 45mg/KgBB secara signifikan dibandingkan dengan kelompok kontrol normal hal ini disebabkan STZ dapat menyebabkan terjadinya kematian

sel pada sel β pankreas sehingga berakibat pada kenaikan kadar gula darah dan menyebabkan peningkatan ROS (Reza,H., dan John,A., 2013), peningkatan ROS dapat menyebabkan terjadinya glomerulosklerosis sehingga kadar ureum meningkat (Almaghrabi dan abdulhakeem, O.A., 2015).

Hasil analisis kadar ureum pada tikus Wistar bahwa dengan memberi perlakuan pada kelompok 3 diberi EEDK 300 mg/KgBB, kelompok 4 diberi EEHS dengan dosis 300 mg/KgBB, pada kelompok 5 diberi kombinasi EEDK 150 mg/KgBB dan EEHS 150 mg/KgBB, pada kelompok 6 diberi kombinasi dengan dosis EEDK 200mg/KgBB dan EEHS 100 mg/KgBB, dan kelompok 7 diberi kombinasi EEDK 100 mg/KgBB dan EEHS 200 mg/KgBB, mampu menurunkan kadar ureum secara signifikan dibandingkan dengan kelompok hiperglikemik tetapi tidak signifikan terhadap gliclazid, dari hasil perlakuan tersebut dapat dilihat bahwa pemberian ekstrak dalam bentuk tunggal maupun dalam bentuk kombinasi dengan dosis yang berbeda dapat memberikan efek penurunan kadar ureum yang berbeda antar perlakuan meskipun penurunan ini tidak berbeda signifikan ($p>0,05$).

Penurunan kadar ureum pada penelitian ini menunjukkan bahwa EEDK dan EEHS dapat memberikan pengaruh terhadap kadar ureum. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Adeyemi dan Elebiyo (2014) (Adeyemi, O.S., Elebiyo, T.C., 2014) yang menyatakan bahwa daun kelor dapat mengurangi kadar ureum dan kreatinin dalam darah, dimana kandungan metabolit sekunder

dalam daun kelor adalah kuersetin. Yang memiliki kemampuan dalam menurunkan kadar ureum (Almaghrati dan Abdulhakem, 2015).

KESIMPULAN

Pemberian kombinasi ekstrak etanol daun kelor dan ekstrak etanol herba sambiloto dapat mencegah peningkatan kadar ureum dan kreatinin pada tikus Wistar yang diinduksi STZ dengan dosis 45 mg/KgBB.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Akfar Al-fatah Bengkulu yang telah memberikan sumber dana selama dalam penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- Geurin J.C., and Reveillere H.P., 2011, Orthosiphon Stamineus as a Potent Source of Methylpariario Chromene A, J. Nat. Prod., 52(1): 171-173.
- Edmund, L., 2010, Kidney function tests. Clinical chemistry and molecular diagnosis. 4th ed, Elsevier, Amerika p.797-831
- Wintarsih,I.R., Madyastuti, B.F., Prasetyo dan Firmanda, D., 2012, Gambaran Serum Ureum dan Kreatinin pada Tikus Putih yang diberi Fraksi Etil Asetat daun alpukat, Jurnal Veteriner B(1);57-62
- Reza,H., dan John,A., 2013, Streptozotocin- Induced Cytotoxicity, Oxidative stress

- and Mitochondrial Dysfunction in Human Hepatoma Hep62 Cells, International Journal of Molecular Science, (13):5751-5767
- Sharma, S.P., 2004 Naric Oxide and Kidney. Indian Journal of Nephrology, 14:77-84
- Tandi J., 2017. Pengaruh Ekstrak Etanol Daun Jambu Air (*SyzigiumAqueum* (burm F) Alston) Terhadap Glukosa Darah, Ureum, Kreatinin Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*). Journal of Tropical Pharmacy and Chemistry 4(2). Hal:43-51
- Gupta,R., 2009, Hypolipidemic Activity of *Pterocarpus Marsupium* in Streptozotocin Induced Diabetes. J Complementary Integrative Med (6): 1–28.
- Yulinah, E., Sukrasno, Fitri, M.A., 2011, Aktivitas Antidiabetika Ekstrak Etanol Herba Sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees (Acanthaceae)), JMS ITB Vol. 6.
- Akbarzadeh,A.D.,Noronzian,M.R.,Mehrabi, S.H.,Jamshidi.A,Farhangi,A.,verdi,A., 2007. Induction of Diabetes by Streptozotocin In Rats, Indian Journal of Clinical Biochem.22(2):60-64
- Rodrigue, W.F., Miguel, C.B., Napimoga, M.H. Jose C, Oliveira F. Lazo-Chica, J.E., 2014, Establishing Standards For Studying Renal Function in mice Though Measurements of Bady Sre-Adjusted Creatinine and Urea Levels. Biomed Res Int;1-8
- Adeyemi, O.S., Elebiyo, T.C., 2014 *Moringa oleifera* Supplemented Nephrotoxicity in Wistar Rats. J Nutr metab (Internet). :1-8.
- Oshiro,Y.,Lee,Y., King,G.L.Y., 2005, Mechanism of Diabetic Nephropathy: Role of Protein Kinase-C Activation.
- Almaghrabi dan abduhakeem, O.A., 2015, Molecular and Biochemical Investigation on the Effect of Quercetin on oxidative stress includ by Cisplatin in Rat kidney, Saudi Journal Of Biological Sciences, 22 (2)