

PENGARUH PEMAKAIAN JANGKA PANJANG FORMULA ANTIKOLESTEROL YANG MENGANDUNG EKSTRAK BUAH LABU SIAM (*Sechium edule* Sw.) TERHADAP FUNGSI ORGAN GINJAL TIKUS PUTIH

Kurnia Agustini, Lestari Rahayu dan Elly Sanfiany

Pusat Teknologi Farmasi dan Medika, BPPT, Jakarta

Fakultas Farmasi, Universitas Pancasila, Jakarta

ABSTRAK

Ekstrak buah labu siam (*Sechium edule* Sw.) telah diketahui dapat menurunkan kadar kolesterol dan trigliserida darah. Untuk membuat obat alami yang berkualitas, perlu dilakukan pengujian keamanan dari formula obat alami antikolesterol yang mengandung ekstrak buah labu siam ini. Penelitian lanjutan ini dilakukan untuk mengetahui pemakaian jangka panjang formula ekstrak tersebut terhadap kerusakan fungsi ginjal pada tikus putih jantan dan betina yang terbagi dalam tiga kelompok (Kelompok normal, dosis dan pemulihan), dengan metode mengacu pada protokol WHO. Campuran ekstrak diberikan per-oral dalam tiga variasi dosis, yaitu 80 mg/200 gBB, 400 mg/200 gBB dan 2000 mg/200 gBB selama 16 minggu. Pada minggu ke 16 tikus diambil darahnya dan diautopsi untuk diambil organ ginjalnya. Sedangkan kelompok pemulihan dibiarkan selama 2 minggu tanpa perlakuan. Analisis kimia darah dilakukan pada minggu ke 0, 8, dan 16 (serta minggu ke 18 bagi kelompok pemulihan) dengan parameter kreatinin dan urea darah. Data diolah dengan uji ANAVA dua arah ($\alpha=0,05$) dan uji beda nyata terkecil (BNT). Hasil menunjukkan bahwa campuran ekstrak pada ketiga dosis (pada kelompok dosis maupun pemulihan) tidak menyebabkan perbedaan yang bermakna ($\alpha=0,05$) terhadap kadar urea dan kreatinin serta gambaran histopatologi ginjal tikus putih dengan waktu pemberian selama empat bulan.

Kata kunci : Buah Labu Siam, Ginjal, Kreatinin, Urea, *Sechium edule* Sw.

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara yang kaya akan tanaman berkhasiat obat, akan tetapi sebagian besar pemakaiannya masih terbatas pada pengalaman yang diwariskan secara turun temurun. Saat ini penggunaan tanaman obat perlu dibina agar dapat dipertanggungjawabkan khasiat dan keamanannya secara medis. Untuk itu perlu dilakukan suatu usaha pengembangan tanaman yang tidak lagi hanya berdasarkan pengalaman namun didukung oleh pengujian praklinis, seperti uji khasiat dan uji keamanan obat, sehingga suatu obat alami dapat terjamin. Kami membagi hal ini menjadi tiga aspek penting dalam peningkatan obat alami untuk dapat diterima dalam pengobatan modern yaitu aspek Fitokimia, Farmakologi dan Farmasetika.

Uji toksisitas merupakan bagian dari aspek farmakologi untuk mengetahui keamanan obat, dibagi dalam tiga kategori yaitu uji toksisitas akut, uji toksisitas jangka pendek (subkronik) dan uji toksisitas jangka panjang (kronik). Berdasarkan protokol yang dikeluarkan oleh WHO (2000) dan Depkes. (2000), beberapa ketentuan percobaan toksisitas kronik telah diatur antara lain penggunaan jenis hewan, jenis kelamin hewan, pembagian kelompok perlakuan, cara dan lama pemberian sampel, hingga parameter pengamatan yang harus

dilakukan.

Dari penelitian terdahulu dinyatakan bahwa formula yang mengandung ekstrak buah labu siam dapat menurunkan kadar kolesterol total dan trigliserida pada tikus putih jantan yang diberi diet tinggi kolesterol tinggi dan lemak (Marlina, 2003). Labu siam mengandung pektin yang berkadar metoksil rendah sebesar 0,38% sampai 2,61%, sehingga buah labu siam dapat dijadikan salah satu sumber serat makanan (Usman, 1996). Pektin merupakan serat makanan yang dapat larut (*soluble dietary fibers*), yang diketahui dapat mencegah hiperkolesterol, kanker usus besar dan diabetes (Koseki, 1990). Penelitian Soebrata *et al.* (1995) menunjukkan bahwa pektin buah labu siam sebanyak 5gr/100gr pakan standar dapat menurunkan kolesterol serum dengan nyata pada tikus putih jantan. Mekanisme kerja pektin menurut Leveille (1966), efek pektin yang terpenting adalah penurunan absorpsi asam-asam empedu dan hanya memberikan penurunan yang kecil terhadap penurunan absorpsi kolesterol, dimana perubahan pada mikroflora usus tidak mempengaruhi efek hipokolesterol pektin pada tikus.

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh penggunaan jangka panjang formula antikolesterol yang mengandung ekstrak buah labu siam terhadap fungsi ginjal, dengan parameter kadar urea dan kreatinin plasma serta gambaran histologi ginjal tikus putih. Fungsi utama ginjal adalah untuk menyaring zat-zat yang tidak diperlukan lagi oleh tubuh atau zat-zat yang bersifat toksik terhadap tubuh. Sebagian besar hasil metabolisme protein adalah urea dan kreatinin, yang harus segera dikeluarkan dari tubuh melalui proses filtrasi. Apabila terjadi kerusakan pada ginjal, maka kadar urea dan kreatinin dalam darah akan meningkat sehingga dengan mengukur kedua kadar tersebut dapat diketahui apakah ginjal berfungsi dengan baik atau tidak. Data diharapkan dapat menjadi pelengkap klarifikasi ilmiah toksisitas sediaan obat dari bahan alami, khususnya dari aspek farmakologi.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Sampel uji formula antikolesterol yang mengandung ekstrak buah labu siam, pakan tikus, CMC Na, akuades, Na-EDTA, Eter, Reagen kit untuk pemeriksaan kadar urea (Rajawali Nusindo®) dan kreatinin (Dyasis®), Larutan BOUIN, Etanol 70%, beberapa larutan untuk pembuatan preparat histologi serta pewarna hematoksin-eosin. Hewan coba tikus putih *Rattus norvegicus* galur *Sprague Dawley*, dengan berat badan antara 150-250 gram sebanyak 40 ekor jantan dan 40 ekor betina untuk kelompok uji serta 15 ekor jantan dan 15 ekor betina untuk kelompok pemuliharaan, yang diperoleh dari Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM), Jakarta.

Alat

Timbangan hewan, timbangan analitik, kandang hewan, sonde lambung, alat bedah, mikropipet, sentrifugator, eppendorf Multipette, ultrasonikasi,

spektrofotometer single beam, mikrotom, hot plate, oven, kuvet, alat gelas.

Persiapan hewan coba (aklimatisasi)

Hewan coba diadaptasikan dalam lingkungan laboratorium selama satu minggu, untuk membiasakan hidup pada perlakuan dan lingkungan yang baru.

Perlakuan

Pemberian sampel uji yang terbagi dalam tiga tingkatan dosis dan pemberian sampel normal diberikan setiap hari secara per-oral selama 16 minggu perlakuan kepada semua hewan coba, meliputi tiga kelompok :

1. Kelompok normal : diberikan suspensi CMC-Na 0,5% sebanyak 1 mL/200gBB
2. Kelompok dosis terdiri dari :
 - a) Kelompok dosis I, 1x dosis terapi : 80mg/200gBB
 - b) Kelompok dosis II, 5x dosis terapi : 400mg/200gBB
 - c) Kelompok dosis III, 25x dosis terapi : 2000mg/200gBB
3. Kelompok pemulihan terdiri dari :
 - a) Kelompok pemulihan dosis I, 1x dosis terapi : 80mg/200gBB
 - b) Kelompok pemulihan dosis II, 5x dosis terapi : 400mg/200gBB
 - c) Kelompok pemulihan dosis III, 25x dosis terapi : 2000mg/200gBB

Hewan coba ditimbang berat badannya sebelum perlakuan, satu kali seminggu selama tiga bulan pertama dan satu kali sebulan pada bulan keempat sampai selesai perlakuan. Pengambilan sampel darah dilakukan tiga kali yaitu pada saat sebelum perlakuan, di tengah-tengah perlakuan (minggu ke-8) dan akhir perlakuan (minggu ke-16). Untuk kelompok pemulihan, pengambilan sampel darah juga dilakukan pada minggu ke-18. Pada hari terakhir, semua hewan diautopsi untuk diambil organnya.

Pengukuran kadar Urea dan Keratinin

Sampel darah disentrifuse hingga didapatkan plasma bening. Kemudian diukur kadar urea dengan menggunakan reagen kit metode enzimatis, diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 578 nm. Sedangkan kadar kreatinin plasma dianalisa menggunakan reagen kit metode reaksi warna dengan larutan pikrat alkali pada suhu kamar dan diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 492 nm.

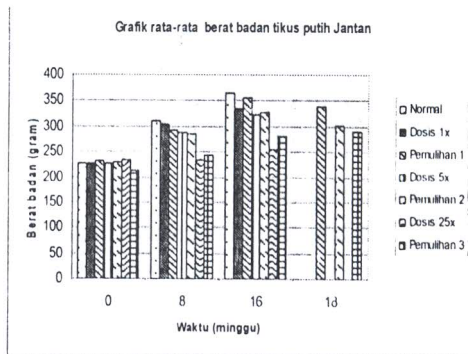
Pengolahan data

Data yang diperoleh dianalisa kenormalan dan homogenitasnya, kemudian dianalisa menggunakan metoda statistik analisis varian (ANAVA). Data yang berbeda bermakna dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT).

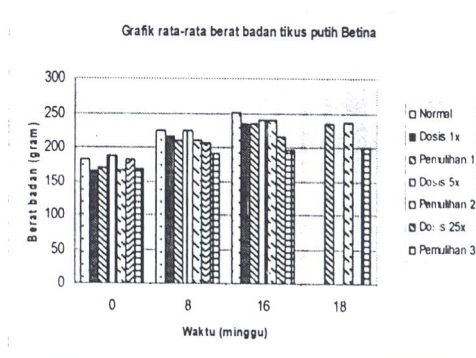
HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian terdahulu membuktikan bahwa formula yang mengandung ekstrak buah labu siam dengan dosis 80 mg/200 g BB yang terbagi dalam dua dosis dapat menurunkan kadar kolesterol total dan trigliserida tikus putih yang

diberi diit tinggi kolesterol dan lemak (Marlina,2003). Penelitian ini merupakan lanjutan untuk mengetahui efek toksisitas kronik formula ini terhadap fungsi ginjal, terutama kadar urea dan kreatinin plasma, serta gambaran histologi ginjal.



Gambar 1. Grafik rata-rata berat badan tikus putih jantan

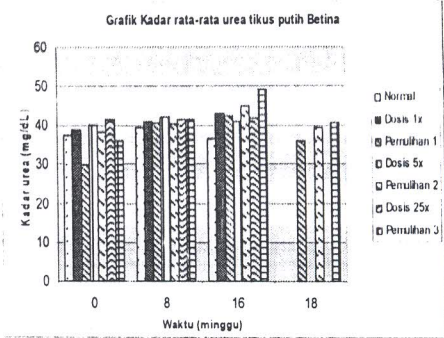
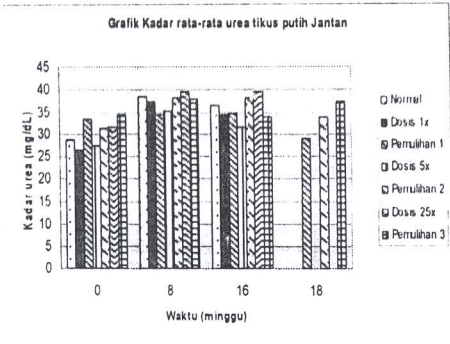


Gambar 2. Grafik rata-rata berat badan tikus putih betina

Berdasarkan data berat badan (Gambar 1 dan 2) diketahui terdapat hubungan antara berat badan dengan besarnya dosis yang diberikan, dimana kenaikan berat badan pada tikus putih jantan dan betina kelompok dosis (terutama mulai dosis 5x dan 25x) dan kelompok pemulihan lebih kecil secara bermakna ($\alpha = 0,05$) dibandingkan kenaikan berat badan tikus kelompok kontrol normal. Berdasarkan data ini diperkirakan bahwa pemberian ekstrak buah labu siam, selain dapat menurunkan kolesterol dan trigliserida, juga dapat menurunkan berat badan seiring dengan peningkatan dosis.

Kadar urea darah atau lengkapnya, Nitrogen Urea Darah (*BUN/Blood Urea Nitrogen*), diperoleh dari metabolisme protein normal dan diekskresikan melalui urin. Biasanya *BUN* yang meningkat menunjukkan kerusakan glomerulus. Namun kadar *BUN* yang dapat dipengaruhi oleh kurangnya zat makanan dan hepatotoksitas yang merupakan efek umum beberapa toksikan.

Hasil Pengukuran urea plasma tikus putih jantan dan betina dapat dilihat pada Gambar 3 dan 4. Uji kenormalan dan uji homogenitas terhadap kadar urea menunjukkan bahwa data normal dan homogen, sehingga data dapat dianalisis dengan statistik parametrik menggunakan metode ANAVA dua arah. Hasil menunjukkan bahwa terdapat perbedaan bermakna ($\alpha = 0,05$) antar waktu (Tabel 1). Peningkatan yang berbeda bermakna terjadi pada minggu ke-8, 16 dan 18 terhadap minggu ke-0 (normal). Akan tetapi terhadap kelompok dosis tidak terdapat perbedaan yang bermakna. Perbedaan yang terjadi masih masuk dalam batas normal, yaitu nilai yang berada dalam dua standar deviasi pada kisaran normal (kelompok normal).



Gambar 3. Grafik rata-rata kadar urea plasma tikus putih jantan

Gambar 4. Grafik rata-rata kadar urea plasma tikus putih betina

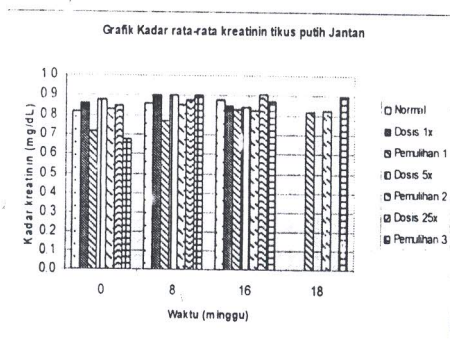
Tabel 1. Uji BNT kadar urea tikus putih jantan (Waktu)

Waktu	Rerata	Minggu ke-0	Minggu ke-8	Minggu ke-16	Minggu ke-18
		29,757	37,425	35,537	34,690
Minggu ke-0	29,757	-	-	-	-
Minggu ke-8	37,425	7,668*	-	-	-
Minggu ke-16	35,537	5,780*	1,888	-	-
Minggu ke-18	34,690	4,933*	2,735	0,847	-

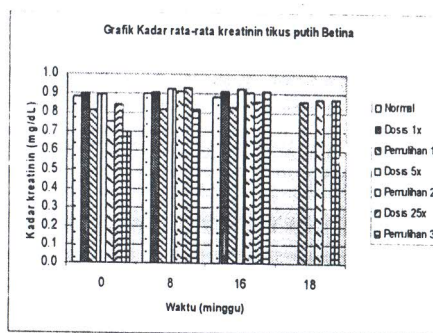
*Berbeda bermakna pada $\alpha = 0,05$

Sedangkan data kadar urea pada tikus putih betina dapat dilihat pada Gambar 4. Hasil uji ANAVA pada tikus putih betina, kadar urea tidak menunjukkan perbedaan bermakna ($\alpha = 0,05$) terhadap waktu maupun kelompok, sehingga tidak perlu dilanjutkan dengan uji BNT. Berdasarkan data ini diketahui bahwa pemberian dosis hingga 25 kali dosis terapi selama 16 minggu, tidak memberikan kerusakan pada glomerulus ginjal.

Kreatinin adalah suatu metabolit keratin dan disekresi seluruhnya dalam urin melalui filtrasi glomerulus. Dengan demikian, meningkatnya kadar kreatinin dalam darah merupakan indikasi rusaknya fungsi ginjal. Selain itu, data kadar kreatinin dalam darah dan jumlahnya dalam urin dapat digunakan untuk memperkirakan laju filtrasi glomerulus. Data kadar kreatinin plasma (Gambar 5 dan 6) menunjukkan bahwa data terdistribusi normal dan homogen, serta tidak ada perbedaan bermakna antar kelompok dosis dan pemulihan dibandingkan dengan kelompok normal.

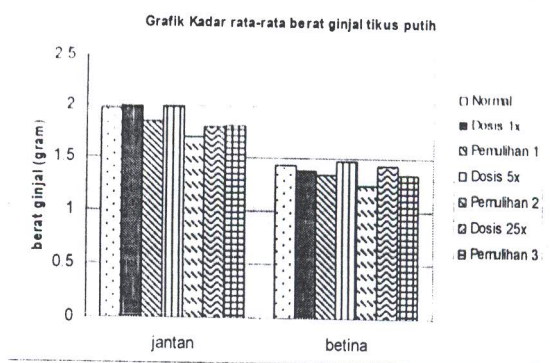


Gambar 5. Grafik rata-rata kadar kreatinin plasma tikus putih jantan



Gambar 6. Grafik rata-rata kadar kreatinin plasma tikus putih betina

Selama perlakuan, seluruh kelompok diberikan makanan dan minuman standar dan kondisi percobaan diatur agar hanya perlakuan saja yang mempengaruhi hasil percobaan. Kadar urea dan kreatinin dari kelompok dosis dan pemulihan yang tidak mengalami peningkatan secara bermakna dibandingkan dengan kelompok normal diduga karena kadar pektin dan senyawa lainnya dalam buah labu siam tidak menyebabkan kerusakan organ filtrasi. Oleh karenanya ekskresi urea dan kreatinin oleh ginjal; tidak terpengaruh sehingga tidak menyebabkan peningkatan kadar urea dan kreatinin didalam darah.

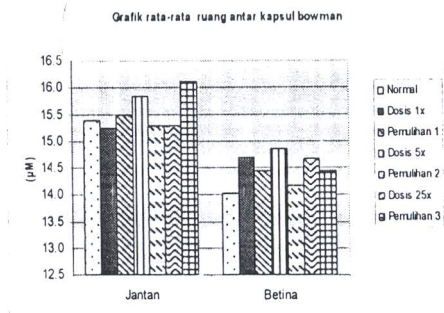
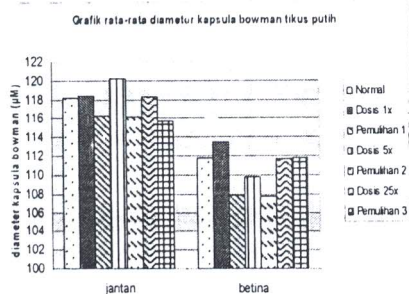


Gambar 7. Grafik rata-rata berat ginjal

Sebagai alat filtrasi, ginjal menerima 25% darah dari jantung sehingga menyebabkan tingginya aliran darah pada ginjal. Akibatnya zat toksik yang dibawa oleh darah akan masuk kedalam korteks, yaitu tempat terdapatnya glomerulus dan difiltrasi oleh kapiler-kapiler glomerulus. Jika sel-sel epitel dari lapisan parietal dan visceral rusak karena sifatnya yang sangat peka terhadap zat toksik, maka zat toksik yang tidak dapat difiltrasi oleh kapiler-kapiler glomerulus dapat menyebabkan kerusakan pada sel epitel glomerulus (Guyton, 1997).

Pada gambaran histopatologi organ ginjal, kerusakan dapat ditandai dengan kerusakan pada daerah tubulus berupa perbesaran pada rongga, pada

daerah glomerulus, akan terlihat sel-selnya mati serta terjadi pengerutan, maka diameternya akan lebih kecil, dan kerusakan pada ruang antar kapsula bowman, dimana terjadi dilatasi antara lapis visceral dengan lapis lateral sehingga ruang antar kapsul Bowman menjadi melebar (Sutisna, 1973).



Gambar 8. Grafik rata-rata diameter kapsula Bowman

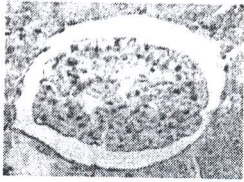
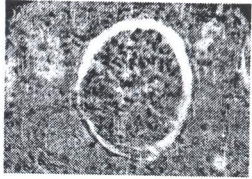
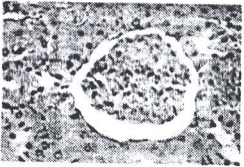
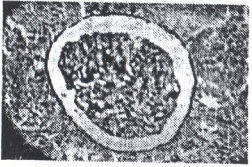
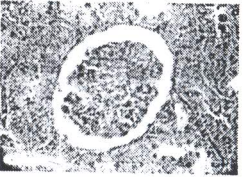
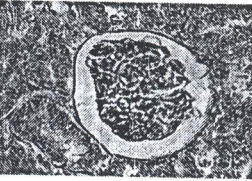
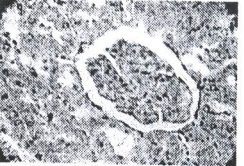
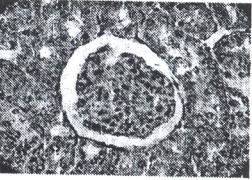
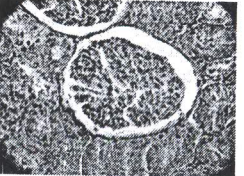
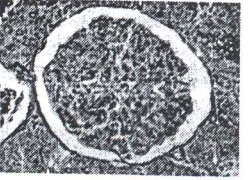
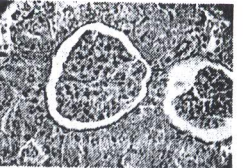
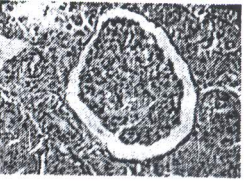
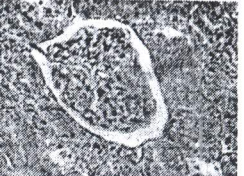
Gambar 9. Grafik rata-rata ruang antar kapsula Bowman

Data mengenai analisis histologi ginjal (Gambar 8, 9 dan 10) menunjukkan bahwa gambaran histologi organ ginjal tikus putih betina maupun jantan pada kelompok dosis dan pemulihan tidak menunjukkan kerusakan. Setelah dilakukan uji ANAVA terhadap data diameter kapsula *Bowman* dan data ruang antar kapsula *Bowman*, tidak terdapat perbedaan yang bermakna dalam hal perlakuan dosis antar kelompok perlakuan. Sehingga dapat dikatakan bahwa hingga 25 kali dosis terapi, pemberian selama 4 bulan tidak menunjukkan perubahan yang signifikan ($\alpha = 0,05$) pada struktur ginjal tikus putih jantan maupun betina.

Tidak adanya peningkatan yang bermakna dari diameter kapsul *Bowman* dan ruang antar kapsul *Bowman* pada kelompok dosis dan pemulihan dibandingkan dengan kelompok normal disebabkan karena pemberian formula yang mengandung ekstrak buah labu siam selama empat bulan tidak menyebabkan kerusakan pada glomerulus sehingga tidak terjadi dilatasi antara lapis parietal dan lapis viseral maupun atrofi dalam jumlah besar.

KESIMPULAN

Formula antikolesterol yang mengandung ekstrak buah labu siam hingga 25 kali dosis terapi atau hingga dosis 2000 mg/200 gBB, selama pemberian 16 minggu, tidak menyebabkan peningkatan kadar urea dan kreatinin diatas batas nilai normal, serta tidak menyebabkan kerusakan histologi ginjal pada tikus putih jantan dan betina.

Kelompok	Jantan	Betina
Normal		
Dosis 1x		
Dosis 5x		
Dosis 25x		
Pemulihan 1		
Pemulihan 2		
Pemulihan 3		

Gambar 10. Histologi ginjal tikus putih jantan dan betina pada berbagai kelompok perlakuan

DAFTAR PUSTAKA

- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2000. Pedoman Pelaksanaan Uji Klinik Obat Tradisional. BPOM Jakarta.
- Guyton AC., Hall JE. 1997. Buku Ajar Fisiologi Kedokteran. Edisi 9. Diterjemahkan oleh Setiawan Irawati, Tengadi KA., Santoso A. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC. hal. 397-400.
- Koseki, M. *et al.* 1990. Effect of Pectin and Lard on the Production of Shortchain Fatty Acids in the Cecum, on the Growth of Colonic Bacteria, and on Liver Cholesterol Level in Rats, *Agric. Biol. Chem.* 55 (6):1441-1448.
- Leveille, G.A. and H.E. Saubeuberlich. 1966. Mechanism of the Cholesterol-depressing Effect of Pectin in the Cholesterolfed Rat, *Journal Nutrition.* 88:209-214.
- Marlina, Shanti. 2003. Pengaruh Ekstrak Campuran Buah Labu Siam (*Sechium edule*) dan daun salam (*Eugenia polyantha* Wight.) terhadap Kadar Kolesterol dan Trigliserida Tikus Putih Jantan yang diberi Diit Tinggi Kolesterol dan Lemak, Skripsi Sarjana Farmasi, FMIPA UI.
- Soebrata, M.Betty. 1995. Dampak Pemberian Pektin Labu Siam (*Sechium edule* SW) Terhadap Penurunan Kadar Kolesterol Serum Darah Tikus, Skripsi Sarjana Kimia, FMIPA IPB.
- Sutisna H. 1973. Kumpulan Kuliah Patologi. Jakarta : FKUI. Hal.252-273.
- Usman. 1996. Variasi Beberapa Karakter Fisiko Kimia Pektin pada Berbagai Tingkat Umur Labu Siam (*Sechium edule* Sw), Skripsi Sarjana Kimia, FMIPA IPB.
- World Health Organization. 2000. General Guideline for Methodologies on Research and Evaluation of Traditional Medicine. Geneva.