

**Pengaruh Pemberian Subkronik Ekstrak Metanolik
Scurrula atropurpurea (Bl) Dans Terhadap Kadar Kreatinin
Tikus Wistar**

***Sub-Chronic Present Effect of Scurrula atropurpurea (Bl) Dans
Methanolic Extract toward Creatinine Levels in Wistar rats***

Nurhidayah Indah Prastika^{1 *}, Nour Athiroh AS^{2, **}, Hari Santoso^{3 ***})

¹²³Jurusan Biologi FMIPA UNISMA, Indonesia

ABSTRAK

Kadar kreatinin dalam darah merupakan salah satu indikator mendiagnosis fungsi ginjal. Makin tinggi kadarnya berarti makin besar kemungkinan terjadinya disfungsi ginjal, karena menunjukkan bahwa kemampuan ginjal mengeluarkan zat tersebut sudah mulai berkurang. Salah satu penyebab tingginya kadar kreatinin adalah adanya radikal bebas. Maka dari itu perlu dilakukan pencegahan terhadap radikal bebas dengan menggunakan zat aktif kuersetin yaitu antioksidan yang berasal dari daun benalu teh yang bekerja menstabilkan radikal bebas. Tujuan pada penelitian ini adalah untuk mengetahui efek pemberian ekstrak metanolik benalu teh *Scurrula atropurpurea* Bl. Dans (EMSA) terhadap kadar kreatinin pada hewan uji tikus wistar (*Rattus norvegicus*). Penelitian ini menggunakan metode *True Experimental Design* Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan empat perlakuan yang diberikan sebanyak 5 kali dalam satu minggu selama 28 hari yaitu kontrol, EMSA dosis 250 mg/Kg BB, 500 mg/Kg BB, 1000 mg/Kg BB. Berdasarkan Hasil penelitian ini pada semua perlakuan, pemberian EMSA tidak berpengaruh terhadap kadar kreatinin darah pada tikus wistar *Rattus norvegicus* selama 28 hari (subkronik), hal ini diduga bahwa EMSA tidak bersifat toksik sehingga tidak menyebabkan kerusakan pada fungsi ginjal.

Kata kunci : Ekstrak, Kreatinin, Subkronik.

ABSTRACT

Levels of creatinine in the blood is one indicator of the diagnosis of kidney function. The higher the levels mean a higher likelihood of kidney dysfunction, because it shows that the ability of the kidneys to excrete these substances has begun to diminish. One of the causes of high creatinine levels is the presence of free radicals. Thus it is necessary for the prevention of free radical substance using active antioxidants of quercetin derived from the leaves of tea parasite that work to stabilize free radicals. The purpose of this research was to determine the of Extract of methanolic of tea parasite *Scurrula atropurpurea* Bl. Dans (EMSA) effect to creatinine levels in test animals Wistar rats (*Rattus norvegicus*). This study uses *True Experimental Design* completely randomized design (CRD) with four treatments were given as much as five times a week for 28 days, control, EMSA dose of 250 mg/Kg BW, 500 mg/Kg BW, 1000 mg / Kg BW. Based on the results of this study on all treatments, after giving EMSA has no effect on blood creatinine levels in rats *Rattus norvegicus* Wistar during 28 days (Sub-Chronic), it is suspected that EMSA not toxic so it does not cause damage to kidney function.

Keywords : Extract, Kreatinin, Sub-Chronic

^{*)} Nurhidayah Indah Prastika, Jurusan Biologi FMIPA UNISMA, Jl. Mt Haryono 193, Malang 65144, 082257728334 and e-mail:nurhidayahindahprastika94@gmail.com

^{**) Dr.Nour Athiroh AS, S. Si., M.Kes. Jurusan Biologi FMIPA UNISMA, Jl. Mt Haryono 193, Malang 65144, 081330017206 and e-mail:nur_athiroh_mlg@yahoo.co.id}

Diterima Tanggal 11 Agustus 2016 – Disetujui Tanggal 22 Agustus 2016

Pendahuluan

Scurrula atropurpurea Bl. Dans merupakan salah satu jenis tanaman parasit tanaman teh, yang telah lama diketahui khasiatnya dapat digunakan sebagai obat herbal untuk berbagai macam penyakit [1]. Kandungan bioaktif pada tanaman benalu teh enam senyawa asam lemak, dua senyawa *santin*, dua *glikosida avonol*, satu monoterpen glikosida, satu glikosida lignan dan empat *flavonoid* [2,3]. Kandungan bioaktif tersebut telah diuji di beberapa penelitian Secara invitro *Scurrula Atropurpurea* Bl. Dans dapat menurunkan kontraktilitas pembuluh darah arteri ekor tikus melalui peran endotel setelah pemberian ekstrak metanolik benalu teh (EMSA) [4,5]. Secara invivo telah diuji efek pemberian EMSA mampu meningkatkan NO, menurunkan *Malondialdehyde* dan sebagai perbaikan stress oksidatif serta disfungsi endotel [6,7,8].

Secara farmakokinetik, zat yang masuk kedalam tubuh akan mengalami absorpsi, distribusi, metabolisme, dan ekskresi. Ginjal merupakan organ ekskresi utama yang sangat penting untuk mengeluarkan sisa-sisa metabolisme tubuh, diantaranya salah satu sisa metabolisme dalam tubuh yang berakibat buruk bagi fungsi ginjal adalah kadar kreatinin yang berlebih [9].

Berdasarkan kandungan bioaktif *Scurrula atropurpurea* yaitu enam senyawa asam lemak, dua senyawa *santin*, dua *glikosida avonol*, satu monoterpen glikosida, satu glikosida lignan dan empat *flavonoid* bertindak sebagai antioksidan. Telah terdapat beberapa riset yang menguji toksisitas dari benalu teh yaitu uji akut pada mencit *mus musculus*, kadar SOD (*Superoxide dismutase*) dan MDA (*Malondialdehyde*) tidak berbeda nyata dengan kontrol (*inpress*), dan uji subkronik pemberian EMSA pada tikus putih *Rattus norvegicus* selama 28 hari, dihasilkan bahwa EMSA tidak menyebabkan adanya gangguan serum biokimia klinis pada liver tikus (fungsi hati) [10]. Berdasarkan latar belakang, maka perlu dilakukan uji analisa biokimia klinis analisis kadar kreatinin pada darah tikus putih betina (*Rattus norvegicus*) setelah pemberian EMSA selama 28 hari (subkronik).

Material dan Metode

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah pakan tikus, akuades untuk minum tikus, *Scurrula atropurpurea* (Bl) Dans yang telah diidentifikasi di Balai Materia Medica Batu, Malang, Jawa timur, metanol 90%, anastesi eter, tikus strain wistar betina (*Rattus norvegicus*) umur 2 bulan, dengan berat badan 200-300 gram.

Alat yang digunakan adalah kandang tikus ukuran 40x30 cm, penutup kandang dari anyaman kawat, botol minuman tikus, timbangan digital, blender, oven, *freezer*, botol, gelas *beaker*, gelas erlenmeyer, corong gunting, pinset, papan tempat pembedahan tikus, jarum untuk fiksasi tikus, mikrosentrifus, tempat sampah, *handscoon*.

Metode

Penelitian ini merupakan penelitian dengan menggunakan *True Experimental Design* dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL).

Cara Kerja

Ekstraksi Maserasi

Scurrula atropurpurea yang telah diidentifikasi di Balai Materia Media Batu, Jawa timur. Daun *S. atropurpurea* dicuci dan dikeringkan menggunakan oven dengan suhu 40-60°C kemudian di blender hingga menjadi bubuk. 100 mg bubuk *S. atropurpurea* kemudian dimasukkan bersama metanol dalam erlenmeyer 1L, dan dihomogenkan dengan cara dikocok selama 30 menit hingga homogen, dan didiamkan semalam hingga mengendap dan

diambil supernatan dengan zat aktif yang sudah tercampur. Larutan EMSA kemudian dievaporasi dan siap diberi label [6,7,8]. EMSA selain kontrol, diberikan secara sonde selama 28 hari dengan dosis 250 mg/kg BB, 500 mg/kg BB, 1000 mg/kg BB [7,9,10]. Volume Sonde EMSA diberikan 1ml/100g BB setiap harinya, berat badan ditimbang dua kali satu minggu ^[9]. Pada hari ke-29 tikus dikorbankan dan diambil darahnya untuk diperiksa kadar kreatinin serum.

Sampel Darah

Sejumlah 50µL serum uji direaksikan dengan 1000 µL pereaksi uji untuk pemeriksaan kreatinin dalam tabung reaksi 5mL, dihomogenkan dengan bantuan vortex. Absorbansi diukur dengan spektrofotometer pada suhu 37°C setelah tepat pada detik ke-60 dan pada panjang gelombang 492 nm (A1), diukur lagi absorbansi tepat setelah 120 detik (A2). Hal yang sama juga dilakukan terhadap blangko (pereaksi+aquades) dan standar (pereaksi+standar kreatinin). Kadar kreatinin dapat dihitung dengan membandingkan absorbansi sampel dengan absorbansi kreatinin standar yang dikalikan dengan konsentrasi kreatinin standar [11].

Analisis Data

Data yang diperoleh diolah dengan program SPSS17 menggunakan metode uji *One way Anova* untuk menguji hipotesis yang ada. Hasil dikatakan bermakna bila $P < 0,05$.

Ethical Clearance

Penelitian ini telah mendapatkan persetujuan dari Komisi Etik Penelitian FK UB (*Ethical Clearance*) nomor :369/EC/KEPK/06/2015.

Hasil dan Diskusi

Hasil Penelitian

Tabel 1. Hasil Uji *ANOVA* kadar kreatinin *Rattus norvegicus* setelah diberi Ekstrak Metanolik Daun Benalu Teh *Scurrula atropurpurea* [B1] Dans Selama 28 Hari (Subkonik).

No	Perlakuan	Kadar Kreatinin (mg/dL)					Rerata ± SD
		Kelompok ke-					
		1	2	3	4	5	
1	K	0,35	0,4	0,28	0,46	0,37	0,372 ± 0,06611 ^a
2	P1	0,4	0,36	0,4	0,32	0,2	0,336 ± 0,08295 ^a
3	P2	0,31	0,28	0,32	0,37	0,3	0,316 ± 0,03362 ^a
4	P3	0,34	0,41	0,35	0,41	0,46	0,394 ± 0,04930 ^a

Keterangan :

K (Kontrol) : Tikus tanpa diberi EMSA

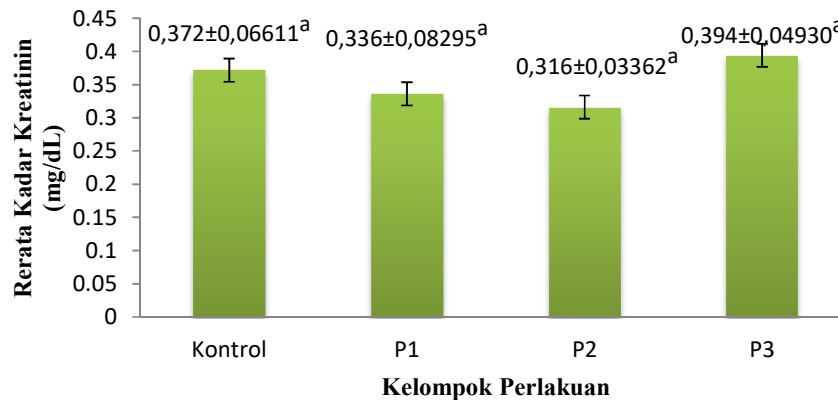
P1 (Perlakuan 1) : Tikus Perlakuan EMSA dengan dosis 250 mg/KgBB

P2 (Perlakuan 2) : Tikus Perlakuan EMSA dengan dosis 500 mg/KgBB

P3 (Perlakuan 3) : Tikus Perlakuan EMSA dengan dosis 1000 mg/KgBB

^a) secara signifikan semua perlakuan P1, P2, P3 tidak berbeda nyata dengan kontrol.

Berdasarkan hasil analisis kadar kreatinin menunjukkan bahwa kadar kreatinin relatif normal berdasarkan biomarker ginjal. Terdapat peningkatan yang tidak signifikan di semua kelompok di setiap perlakuan. Hasil uji statistik terhadap ketiga variasi dosis tidak menunjukkan adanya perbedaan kemampuan EMSA dalam mempengaruhi kadar kreatinin darah, dan simbol a yang terdapat pada semua perlakuan menyatakan bahwa hasil penelitian pada uji kadar kreatinin *Rattus norvegicus* tidak berbeda nyata dengan kontrol.



Gambar 1. Uji ANOVA kadar kreatinin pada darah *Rattus norvegicus* setelah diberi ekstrak metanolik daun benalu teh *Scurrula atropurpurea* Bl. Dans selama 28 hari (subkronik)

Ekstrak metanolik *Scurrula atropurpurea* (Bl) Dans yang diberikan selama 28 hari pada hewan uji menghasilkan nilai mean $\pm$ SD dan warna yang sama pada histogram yang menunjukkan bahwa dari semua perlakuan 250 mg/Kg BB, 5000 mg/Kg BB, 1000 mg/Kg BB, secara signifikan tidak berbeda nyata dengan kontrol, $P \geq 0,05$.

Pembahasan

Kadar kreatinin dalam darah dapat digunakan untuk mendiagnosis adanya gangguan ginjal yaitu dengan menilai laju filtrasi glomerulus. Pengukuran kadar kreatinin serum relatif tidak terpengaruh terhadap makanan, umur, jenis kelamin, senam ataupun diet. Kadar kreatinin serum normal pada tikus betina adalah $\leq 0,4$ mg/dL, kreatinin diekskresikan seluruhnya dalam urin melalui filtrasi glomerulus [12]. Kreatinin (*Kreatin anhidrida*) terbentuk didalam otot dari kreatin fosfat melalui proses dehidrasi nonenzimatik yang irreversibel dan hilangnya fosfat. *Glisin*, *arginin* dan *metionin* seluruhnya turut serta pada biosintesis kreatin. Pemindahan gugus guanidine dari *arginin* kepada *glisin*, yang membentuk senyawa *guanidoasetat* (*glikosiamina*), berlangsung didalam ginjal tetapi tidak dihati ataupun otot jantung. Sintesis kreatin diselesaikan lewat reaksi metilasi *guanidoasetat* oleh senyawa *S-adenosimetionin* dihati, dan pada proses enzimatik berlangsung di otot [13].

Kadar kreatinin dalam darah dapat dijadikan salah satu indikator untuk mendiagnosis adanya gangguan ginjal. Kadar kreatinin serum normal pada tikus betina adalah berkisar $\leq 0,4$ mg/dL, kreatinin diekskresikan seluruhnya dalam urin melalui filtrasi glomerulus [12]. Kreatinin berasal dari pemecahan kreatin (*Kreatin anhidrida*) yang terbentuk didalam otot dari kreatin fosfat melalui proses dehidrasi nonenzimatik yang irreversibel dan hilangnya fosfat. *Glisin*, *arginin* dan *metionin* seluruhnya turut serta pada biosintesis kreatin. Pemindahan gugus guanidine dari *arginin* kepada *glisin*, yang membentuk senyawa *guanidoasetat* (*glikosiamina*), sintesis kreatin diselesaikan lewat reaksi metilasi *guanidoasetat* oleh senyawa *S-adenosimetionin* dihati, dan pada proses enzimatis berlangsung di otot [13].

Data penelitian pada gambar 1. setelah diuji *Anova* menunjukkan bahwa pemberian EMSA dengan dosis 250 mg/Kg BB, 500 mg/Kg BB, 1000 mg/Kg BB tidak berpengaruh terhadap kadar kreatinin sehingga tidak menyebabkan kerusakan pada aspek biokimia klinis ginjal tikus wistar betina *Rattus norvegicus* selama 28 hari. pada dosis 1000 mg/kg BB yaitu 0,394 mg/dL lebih tinggi dibandingkan perlakuan yang lain, peningkatan tersebut tidak menunjukkan adanya suatu peningkatan kreatinin yang bermakna karena tingginya rerata kadar kreatinin tersebut masih dalam batas normal kreatinin tikus wistar betina *Rattus norvegicus* [12].

Tingginya kadar kreatinin disebabkan karena tingginya radikal bebas dalam tubuh yang disebabkan oleh *Shear stress* [14]. Kandungan bioaktif EMSA yang bersifat antioksidan mampu menstabilkan radikal bebas, karena senyawa *flavonoid*, *fenolik* dan *tanin* pada EMSA merupakan senyawa fenol, yaitu senyawa gugus -OH yang terikat pada karbon cincin aromatik [15]. Senyawa fenol mempunyai kemampuan untuk menyumbangkan atom hidrogen dengan cara mendonorkan satu elektronnya kepada senyawa yang bersifat oksidan (radikal) [16]. Selain itu antioksidan ini juga memperbaiki kerusakan membran sel melalui mekanisme *scanger* sehingga kerusakan sel-sel glomerulus dapat dicegah dan kreatinin dapat diekskresikan dengan baik oleh ginjal melalui filtrasi glomerulus [17].

Salah satu penyebab jika terjadi peningkatan kadar kreatinin adalah radikal bebas. Radikal merupakan suatu molekul yang memiliki satu elektron yang tidak berpasangan di orbital atau senyawa yang sangat tidak stabil karena struktur atom atau molekul tersebut. Akibatnya, radikal bebas yang ada menjadi sangat reaktif dikarenakan berusaha mencoba untuk berpasangan dengan atom atau molekul lain, atau bahkan elektron tunggal untuk menciptakan senyawa yang stabil. Radikal bebas juga merupakan mekanisme nefrotoksik dari sisplatin dan antioksidan dapat melindungi dari nefrotoksik. Radikal bebas dan ROS (*Reactive Oxygen Species*) menginduksi stress oksidatif dalam ginjal. Peningkatan radikal bebas dan ROS akan menyebabkan terjadinya kematian sel dimana isi-isi sel yang keluar akan berikatan dengan protein fibronektin didalam lumen tubular. Hal ini akan menyebabkan penyumbatan berupa silinder sehingga kreatinin tidak dapat dikeluarkan dengan baik [18].

Pemberian EMSA selama 28 hari tidak menimbulkan adanya ketoksikan. Hal ini diduga karena tidak adanya ditemukan kematian, keracunan seperti *hyperirritability* selama periode penelitian akibat pemberian EMSA 28 hari [10]. EMSA yang dipaparkan memberikan adanya peningkatan berat badan, namun hal ini bukan merupakan efek dari pemberian asupan makanan dan minuman. Penelitian lainnya, Amin, *et. al* menunjukkan bahwa ekstrak etanolik *Phyllanthus niruri* and *Melastoma malabathricum* mampu meningkatkan fungsi hati dan meningkatkan sistem imun [19].

Kesimpulan

Berdasarkan hasil analisa data dan pembahasan dalam penelitian ini, menunjukan bahwa kadar kreatinin dari semua perlakuan dosis 250 mg/Kg BB, dosis 500 mg/Kg BB, dan dosis 1000 mg/Kg BB setelah pemberian EMSA selama 28 hari (subkronik) pada tikus wistar betina *Rattus norvegicus*, tidak berpengaruh terhadap kadar kreatinin. Peningkatan kreatinin dijumpai pada dosis EMSA 1000 mg/kg BB yaitu dengan kadar 0,394 mg/dL, namun peningkatan tersebut masih dalam batas normal kreatinin tikus wistar betina *Rattus norvegicus*.

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Kementrian Pendidikan dan Kebudayaan, sesuai dengan surat perjanjian pelaksanaan penugasan Hibah nomor: 018/SP2H/P/K7/KM/2015, tanggal 2 april 2015. Skim Strategis Nasional (Stranas) a.n. Dr. Nour Athiroh Abdoes Sjafoer. S. Si., M.Kes. yang telah menugaskan penulis untuk melakukan penelitian ini.

Daftar Pustaka

- [1] Murtini, S., R. Murwani, F. Satrija dan Malole. 2006. Penetapan Rute Inokulasi dan dosis inokulasi pada telur ayam berembrio sebagai media uji khasiat ekstrak benalu teh. *JITV*. **II**: 137-143
- [2] Agung, J, S. Pujiyanto, I. Rukmi. 2014. Flavonoid Production Capability Test of Tea Mistletoe (*Scurrula atropurpurea* Bl. Dans) Endophytic Bateria Isolates. ISSN. *Diponegoro University* Vol. 22 (4): 89-96..
- [3] Athiroh dan Nur Permatasari. 2012. Mekanisme kerja benalu teh pada pmebuluh darah *Jurnal kedokteran Brawijaya* Vol. 27 No. 1.
- [4] Athiroh N., M.A. Widodo dan E.nWidjajanto 2000. *Efek Scurrula oortiana (Benalu Teh) dan Macrosolen Vaskular javanus (Benalu Jambu Mawar) terhadap Kontraktilitas Pembuluh Darah Arteri Ekor Tikus*. Universitas Brawijaya. Malang, 1998; hal. 6, 10-11. Terpisah dengan atau tanpa Endotel. [Tesis]. Universitas Brawijaya, Malang.
- [5] Athiroh N. 2009. *Kontraktilitas Pembuluh Darah Arteri Ekor Tikus Terpisah Dengan atau Tanpa Endotel Setelah Pemberian Esktrak Scurrula oortiana (Benalu Teh)*. Jurnal Berkala Hayati Edisi Khusus 3D.; 31-34
- [6] Athiroh, N., dan E. sulistryowati. 2013. *Scurrula atropurpurea increase nitric oxide and decrease malondialdehyde in hypertensiverats*. *Universa medicina* Vol.32 No.1.
- [7] Athiroh, N., N. Permatasari, D. Sargowo and M.A. Widodo, 2014. *Antioxidative and Blood Pressure Lowering Effects from Scurrula atropurpurea on DOCA-salt Hypertensive Rats. [Biomarkers and Genomic Medicine] Of*. 6(1): (32-36) ISSN 2214-0247.
- [8] Athiroh, N., N. Permatasari, D. Sargowo and M.A. Widodo, 2014. *Effect of Scurrula atropurpurea on Nitric Oxide, Endothelial Damage, and Endothelial Progenitor Cells of DOCA-salt Hypertensive Rats*. *Iran J Basic Med Sci.*, 17: 622-625.

- [9] Sjaifullah, M, N. 2010. *Evaluasi Fungsi Ginjal Secara Laboratorik (Laboratoric Evaluation on Renal Function)*. Lab SMF Ilmu Kesehatan UNAIR. RSU Dr. Soetomo Surabaya.
- [10] Athiroh, N., E. Sulistyowati. 2015. Evaluation Of Methanolic Extract of *Scurrula Atropurpurea* (Bl.) Dans Sub-Chronic Exposure On Wistar Rat Liver. AENSI Journals Advances in Enviromental Biology, 245-250
- [11] Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia (BPOM). 2014. Pedoman Uji Toksisias Nonklinik Secara In Vivo. Jakarta. Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia.
- [12] Sumarny R, Parodi D, Darmono. 2006. *Pengaruh pemberian ekstrak kering rimpang temu putih (Curcuma zedoria. Rosc.) per oral terhadap beberapa parameter gangguan ginjal pada tikus putih jantan*. Majalah Farmasi Indonesia. 17(1) : 19-24
- [13] Murry RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW 2003, *biokimia Harper, Edisi XXV*, Penerjemah Hartono Andry , Jakarta: EGC.
- [14] Bahorun, T., M.A. Soobratte, V. Luximon Ramma and Arouma, 2006. *Free radical and antioxidants in cardiovascular health and diseases*. Internet. J. Med. Update., 1: 1-17
- [15] Moskuag JO, Carlson H, Myhrstad M, *et al.*, 2004. *Molecular Imaging of The Biological Effects of Quercetin and Quercetin-rich Foods. Mechanism of Ageing and Development*;125:315-24
- [16] Bilfaqih, N. 2011. *Pengaruh Ekstrak Etanol Daun Seledri (Apium graveolens L) Terhadap Kadar Ureum dan Kreatinin Serum Darah Tikus Putih Tua Strain Wistar [Skripsi]*. Program Studi Pendidikan Dokter Universitas Islam Malang
- [17] Mohsen, M. 2007. *Environ. Res. Sec.* 87 (31-36).
- [18] Michael. 2013. *Pengaruh Ekstrak Daun Kesum (Polygonum minus Huds.) Terhadap Peningkatan Kadar Kreatinin dan Ureum Serum Tikus Putih Galur Wistar Terinduksi Sisplatin*. Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura: Pontianak.
- [19] Amin, Z.A., 2013. *Evaluation of hepatoprotective effects and bioactivities of Phyllanthus niruri and Melastoma malabathricum*. Thesis submitted in fulfillment of the requirements for the degree of doctor of philosophy faculty of Medicine University of Malaya Kuala Lumpur