

EFEK ANTINEFROTOKSISITAS EKSTRAK ETANOL DAUN PANDAN WANGI (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) DENGAN PARAMETER KADAR UREUM TIKUS PUTIH

Sukmawati^{1*}, Rahmawati¹, Kenanga Isyanda A.¹

¹Fakultas Farmasi, Universitas Muslim Indonesia, Makassar
Email: sukmawati.sukmawati@umi.ac.id

Article Info:

Received: 2021-11-07
Review: 2021-11-14
Accepted: 2022-01-14

Keywords:

Gentamicin; nephrotoxicity;
pandan wangi; *Pandanus amaryllifolius* roxb; ureum.

Corresponding Author:

Sukmawati
Fakultas Farmasi, Universitas
Muslim Indonesia
Makassar
Indonesia
email:
sukmawati.sukmawati@umi.ac.id

ABSTRACT

*Nephrotoxicity caused by chemical compounds such as drugs. This condition can cause an increase in urea levels. Antioxidants used to inhibit nephrotoxicity by protect and repair cells. One of the plants as antioxidant is the pandan wangi leaf (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) which contains phenolic to absorb and neutralize free radicals or decompose peroxides. This study aimed to examine the antinephrotoxicity effect of the ethanolic extract of pandan wangi leaf (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) on kidney damage with parameters of urea level in rats. Eighteen male Wistar rats were divided into 6 groups. Group 1 as a naive group, group 2 as a negative control by Gentamicin, group 3 as a positive control by amino acid supplement, and groups 4, 5, and 6 were given ethanol extract of pandan wangi leaves at a dose by 125 mg/kgBW, 250 mg/kgBW and 500 mg/kgBW respectively. Nephrotoxicity condition was induced by Gentamicin 100 mg/kgBW (ip) for seven days. The blood samples were taken and measured the serum creatinine levels on days 0, 8th and 21st by Human Analyzer. The results study showed that ethanol extract of pandan wangi leaves at 125 mg/kgBW have the effect as antinephrotoxicity based on decreased ureum levels.*



Copyright © 2020 Journal As-Syifaa Farmasi by Faculty of Pharmacy, Muslim University. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International License.

PENDAHULUAN

Ginjal merupakan organ utama yang berfungsi untuk membuang sisa metabolisme yang tidak diperlukan oleh tubuh. Produk-produk ini meliputi urea (dari metabolisme asam amino), kreatinin (dari kreatinin otot), asam urat (asam nukleat), produk akhir pemecahan hemoglobin (seperti bilirubin), dan metabolit sebagai hormon.¹

Ginjal bertanggung jawab mengeliminasi zat-zat sisa dalam tubuh termasuk obat yang dikonsumsi. Mengonsumsi obat secara terus menerus dapat menurunkan fungsi ginjal

bahkan dapat bersifat merusak ginjal.² Nefrotoksitas merupakan kerusakan ginjal yang disebabkan oleh senyawa kimia atau zat seperti obat.³ Kerusakan ginjal atau nefrotoksitas dapat menyebabkan peningkatan kadar ureum.⁴ Peningkatan kadar ureum atau BUN (*Blood Urea Nitrogen*) darah disebut Azotemia biasanya mencerminkan penurunan glomerulus laju filtrasi (GFR).⁵ Salah satu obat yang dapat menimbulkan kerusakan ginjal adalah gentamisin.² Gentamisin dapat menimbulkan efek toksik jika diberikan secara terus-menerus seperti

nefrotoksisitas.⁴ Toksisitas gentamisin melibatkan *reactive oxygen species* atau ROS yang terjadi pada ginjal. Peningkatan ROS menginaktivasi enzim antioksidan endogen seperti *superoksida dismutase* (SOD) dan *Glutathione peoxidases* (GSH-Px).⁶

Beberapa bahan antioksidan telah digunakan untuk menghambat nefrotoksisitas baik melindungi dan memperbaiki sel akibat bahan toksik seperti obat.⁶ Salah satu tanaman yang memiliki aktivitas antioksidan adalah daun pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.). Pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb) mengandung alkaloida, saponin, flavonoida, tanin, polifenol, dan zat warna.⁷ Senyawa antioksidan dalam ekstrak etanol daun pandan wangi memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC₅₀ 39,700 µg/ml yang memiliki aktivitas sebagai antioksidan yang aktif.⁸ Aktivitas antioksidan dalam ekstrak air daun pandan wangi berdasarkan hasil penelitian Prameswari (2014) menunjukkan adanya aktivitas yang besar yaitu 66.82%.⁹

Indonesia telah lama mengenal dan menggunakan tanaman yang berkhasiat sebagai obat dan merupakan salah satu upaya dalam menanggulangi masalah kesehatan. Penggunaan obat herbal selama ini hanya bersifat empiris artinya hanya berdasarkan dosis dan efek yang didapat dari pengalaman yang bervariasi tiap-tiap orang.¹⁰ Salah satu penggunaan daun pandan wangi secara empiris adalah dengan dibuat sediaan infusa. Sediaan infusa daun pandan wangi digunakan untuk melarutkan kalsium batu ginjal. Namun sediaan infusa hanya dapat menyari zat-zat yang bersifat polar, penyarian dengan cara ini menghasilkan sari yang tidak stabil dan mudah tercemar oleh kuman dan kapang, oleh karena itu sari yang diperoleh tidak boleh disimpan lebih dari 24 jam.¹¹

Berdasarkan uraian diatas, maka akan dilakukan penelitian guna untuk menguji efek antinefrotoksisitas dari ekstrak etanol daun pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) terhadap kerusakan ginjal dengan parameter kadar ureum pada tikus putih.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan adalah seperangkat alat maserasi, *rotary vacuum evaporator*, Human Analyzer Microlab 300, kuvet, mikropipet, sentrifuge, tabung eppendorf, timbangan hewan, timbangan analitik. Sedangkan bahan yang digunakan adalah daun pandan wangi, pakan hewan uji (pellet), aquadest, aqua pro injeksi, etanol 96%, Natrium CMC, gentamisin, kapas, suplemen asam amino dan reagen uji ureum.

Pembuatan ekstrak etanol daun Pandan Wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.)

Ekstrak dibuat dengan metode maserasi yaitu masing-masing serbuk daun sebanyak 500-gram dimasukkan dalam wadah maserasi kemudian ditambahkan etanol 96% hingga simplisia terendam sempurna, ditutup rapat dan dibiarkan selama 3 hari pada suhu kamar terlindung dari cahaya, sambil berulang-ulang diaduk. Dipisahkan maserat dari residu dengan cara filtrasi atau penyaringan. Maserasi ini dilakukan sebanyak 2 kali dengan jenis dan jumlah pelarut yang sama hingga diperoleh maserat terakhir yang lebih jernih. Hasil penyarian yang diperoleh kemudian dikumpulkan dan di uapkan dengan menggunakan *Rotary vacuum evaporator* hingga diperoleh ekstrak etanol yang kental.¹²

Pemilihan dan Penyiapan Hewan uji

Hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) dewasa, sehat, dan bersih dengan berat badan 100-200 gram. Sebelum

perlakuan, hewan uji diadaptasikan selama kurang lebih 2 minggu. Sebanyak 18 ekor tikus dibagi menjadi 6 kelompok perlakuan. Setelah itu hewan uji ditimbang berat badannya dan diberikan penandaan.

Perlakuan terhadap hewan uji

Tikus putih yang telah diadaptasi selama kurang lebih 7 hari, kemudian dipuasakan selama 6-12 jam sebelum perlakuan, untuk meminimalisir pengaruh makanan, sehingga tidak mempengaruhi hasil yang dicapai kemudian diambil darah tikus putih untuk pengukuran kadar ureum awal. Sebanyak 18 ekor tikus yang dibagi menjadi 6 kelompok. Kelompok 1 sebagai kelompok normal (Na CMC), kelompok 2 sebagai kontrol negatif (Gentamisin), kelompok 3 sebagai kontrol positif (suplemen asam amino), dan kelompok 4, 5, dan 6 yaitu kelompok uji dengan pemberian ekstrak etanol daun pandan wangi dengan dosis berturut-turut 125 mg/kgBB, 250 mg/kgBB dan 500 mg/kgBB. Semua kelompok perlakuan kecuali kelompok normal diinduksi gentamisin dengan dosis 100 mg/kgBB selama 7 hari secara intraperitoneal (IP), semua pemberian sediaan uji dilakukan selama 14 hari yaitu pada hari ke-8 sampai hari ke-21. Tahap akhir dilakukan pengukuran kadar ureum setelah terapi.

Pengambilan sampel darah hewan uji

Pengambilan sampel darah dilakukan melalui vena lateralis ekor. Sampel darah diambil sebanyak 0,5 ml kemudian ditampung dalam tabung Eppendorf. Kemudian, sampel darah disentrifuge 10.000 rpm selama 10 menit kemudian diambil serumnya kemudian diukur kadar ureum.¹³

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ginjal merupakan organ utama yang berfungsi untuk membuang sisa metabolisme yang tidak diperlukan oleh tubuh seperti ureum

(dari metabolisme asam amino). Ureum dapat dijadikan sebagai salah satu indikator untuk menentukan normal tidaknya sebuah fungsi ginjal (Guyton 2007). Penelitian ini bertujuan untuk menentukan efek antinefrotoksitas dari ekstrak etanol daun pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) dengan parameter kadar ureum pada tikus putih.

Tahapan awal yang dilakukan adalah penyiapan sampel. Sampel yang telah dikumpulkan, kemudian dicuci bersih dengan menggunakan air mengalir kemudian dipotong-potong kecil dan dikeringkan dengan cara diangin-anginkan dan tidak terkena matahari langsung, setelah kering sampel dihaluskan. Sebanyak 500 gram serbuk kering daun pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) diekstraksi dengan metode maserasi. Alasan pemilihan metode ini karena merupakan metode yang sederhana dan cocok digunakan untuk sampel lunak seperti daun. Serbuk dimasukkan dalam wadah maserasi kemudian ditambahkan etanol 96% hingga simplisia terendam sempurna, ditutup rapat dan dibiarkan selama 3 hari pada suhu kamar terlindung dari cahaya, sambil berulang-ulang diaduk. Dipisahkan maserat dari residu dengan cara filtrasi atau penyaringan. Maserasi ini dilakukan sebanyak 2 kali dengan jenis dan jumlah pelarut yang sama hingga diperoleh maserat terakhir yang lebih jernih. Alasan dilakukan remaserasi. Hasil penyarian yang diperoleh kemudian dikumpulkan dan diuapkan dengan menggunakan *Rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak etanol kental dengan berat 50,347 gram ekstrak etanol daun pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.).

Pada penelitian ini menggunakan 18 ekor hewan coba tikus (*Rattus norvegicus*) jantan yang dibagi menjadi 6 kelompok. Alasan

pemilihan jenis kelamin jantan karena kondisi hormonalnya lebih stabil dibandingkan dengan tikus betina. Sebelum dilakukan penelitian, tikus terlebih dahulu diadaptasikan selama kurang lebih 7 hari untuk penyesuaian lingkungan, mengontrol kesehatan dan berat badan. Hewan uji yang digunakan dibagi menjadi 6 kelompok, yaitu kelompok 1 sebagai kelompok normal (Na CMC), kelompok 2 sebagai kontrol negatif (Gentamisin), kelompok 3 sebagai kontrol positif (suplemen asam amino), dan kelompok 4, 5, dan 6 yaitu kelompok uji dengan pemberian ekstrak etanol daun pandan wangi dengan dosis berturut-turut 125 mg/kgBB, 250 mg/kgBB dan 500 mg/kgBB. Kemudian dilakukan pengukuran kadar ureum awal hari ke-0 untuk ada tidaknya kerusakan ginjal. Hasil diperoleh menunjukkan bahwa semua tikus memiliki kadar ureum normal yaitu 5-29 mg/dL. Selanjutnya, semua hewan uji diinduksi gentamisin dengan dosis 100 mg/kgBB selama 7 hari secara intraperitoneal (IP) kecuali kelompok normal. Menurut Sharma, et al (2011), mengemukakan bahwa gentamisin merusak ginjal dengan cara meningkatkan ROS (*reactive oxygen species*)

sehingga menginaktivasi enzim antioksidan endogen seperti *superoksida dismutase* (SOD) sehingga menginduksi stress oksidatif atau keadaan dimana tubuh tidak mampu menangkal radikal bebas. Peningkatan radikal bebas menyebabkan terjadinya kematian sel dan isi-isi sel yang keluar akan berikatan dengan protein fibronectin di dalam lumen tubular menyebabkan penyumbatan sehingga ureum tidak dapat dikeluarkan. Pada hari ke-8 dilakukan pengukuran kadar ureum untuk menunjukkan adanya peningkatan kadar ureum setelah diinduksi dengan gentamisin 100 mg/kgBB selama 7 hari. Selanjutnya, hewan uji diberi perlakuan selama 14 hari sesuai dengan kelompok masing-masing, kemudian diukur kadar ureum setelah terapi menggunakan alat *Human Analyzer* (Microlab 300). Hasil pengukuran menunjukkan kelompok uji (kecuali kelompok kontrol negatif) mengalami penurunan kadar ureum.

Hasil penelitian dari pemberian ekstrak etanol daun pandan wangi (*Pandanum amaryllifolius* Roxb.) dengan parameter kadar ureum pada tikus putih, diperoleh data sebagai berikut:

Tabel 1. Data rata-rata hasil pengukuran ureum serum tikus putih (*Rattus norvegicus*)

Kelompok Perlakuan	Rata-Rata Kadar Ureum Pada Hari Ke- (mg/dL± SD)		
	0	8	21
Kelompok I (Normal) ^a	25,43 ± 3,92	25,43 ± 3,92	24,16 ± 3,90
Kelompok II (Kontrol Negatif) ^a	27,30 ± 4,07	152,40 ± 21,06	224,9 ± 31,38
Kelompok III (Kontrol Positif) ^b	22,33 ± 1,55	312,3 ± 50,26	21,73 ± 1,23
Kelompok IV (EEDPW 125 mg/kgBB) ^b	19,70 ± 2,36	244,16 ± 5,96	21,56 ± 0,15
Kelompok V (EEDPW 250 mg/kgBB) ^b	25,73 ± 2,05	229,13 ± 9,98	29,26 ± 0,73
Kelompok VI (EEDPW 500 mg/kgBB) ^b	27,33 ± 6,37	202,43 ± 14,59	37,36 ± 1,49

Keterangan: (EEDPW): Ekstrak Etanol Daun Pandan Wangi. Data disajikan dalam bentuk Mean ± SD: (°): P < 0.05 berbeda nyata antara sebelum dan sesudah perlakuan (*Paired t test*); (°): P > 0.05 tidak berbeda nyata antara sebelum dan sesudah perlakuan (*Paired t test*)

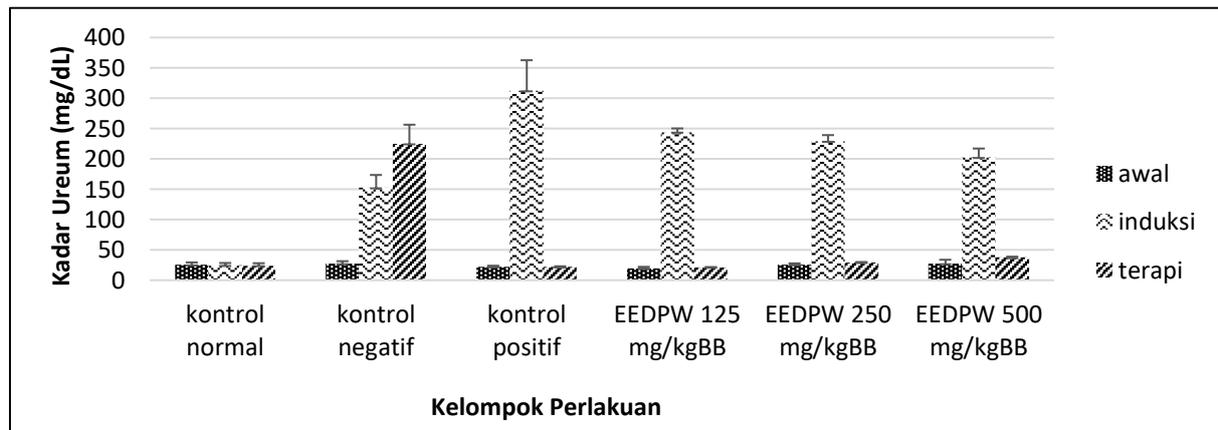
Tabel diatas, pada hari ke-0 menunjukkan bahwa semua tikus memiliki kadar ureum serum yang normal (5-29 mg/dL). Setelah diinduksi dengan gentamisin selama 7

hari (kecuali kelompok normal), kelompok perlakuan mengalami peningkatan kadar ureum dan setelah pemberian sediaan uji

selama 14 hari, kadar ureum menurun menjadi normal kecuali kelompok kontrol negatif.

Setelah semua hasil data pengukuran kadar ureum didapatkan, dilakukan uji statistik t berpasangan atau *Paired t test*. Uji ini dilakukan untuk mengukur perbedaan kadar ureum sebelum dan setelah perlakuan. Pengukuran ini juga untuk melihat fungsi ginjal setelah perlakuan yaitu pemberian gentamisin pada kelompok 2, suplemen asam amino pada kelompok 3, dan ekstrak etanol daun pandan

wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) pada kelompok 4, 5, dan 6. Hasil dari pengujian pada kelompok kontrol normal dan kelompok kontrol negatif diperoleh nilai $p < 0,05$ yang artinya terdapat perbedaan bermakna antara sebelum dan setelah perlakuan, dapat dilihat pada tabel 1. Nilai rata-rata kadar ureum pada hari ke-0, ke-8 dan ke-21 yang diperoleh pada tabel 1 kemudian diplot dalam sebuah diagram yang dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 1. Diagram nilai rata-rata hasil pengukuran kadar ureum awal, setelah induksi dan setelah terapi

Tabel 2. Rata-rata persen penurunan kadar ureum induksi-terapi pada tikus.

Kelompok Perlakuan	Rata-rata Persen Penurunan Kadar Ureum (%)
Kelompok I (Normal)	5,04 ^a
Kelompok II (Kontrol Negatif)	-47,55 ^a
Kelompok III (Kontrol Positif)	92,96 ^b
Kelompok IV (EEDPW 125 mg/kgBB)	91,16
Kelompok V (EEDPW 250 mg/kgBB)	87,20
Kelompok VI (EEDPW 500 mg/kgBB)	81,51

Keterangan: (-): Menunjukkan tidak adanya penurunan kadar ureum; (^a): $P < 0,05$ dengan semua kelompok perlakuan (LSD test); (^b): $P > 0,05$ dengan kelompok IV dosis 125 mg/kgBB (LSD test).

Hasil uji tersebut menunjukkan bahwa kelompok kontrol normal dan kontrol negatif memberikan efek yang berbeda dengan semua kelompok perlakuan dengan nilai $p < 0,05$ (tabel 2.). Hal ini membuktikan bahwa Na-CMC yang digunakan sebagai pensuspensi dan

gentamisin tidak memiliki efek sebagai antinefrotoksisitas.

Analisa statistik menunjukkan kelompok perlakuan ekstrak etanol daun pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) dosis 125 mg/kgBB menunjukkan hasil yang

tidak berbeda nyata dengan kelompok kontrol positif (suplemen asam amino) dengan nilai $p > 0,05$ yang artinya ekstrak dosis 125 mg/kgBB mampu memberikan efek yang sama baik dengan suplemen asam amino dalam menurunkan kadar ureum.

Penurunan kadar ureum ini diduga disebabkan karena adanya kandungan senyawa seperti alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, polifenol berfungsi sebagai zat antioksidan alami. Polifenol ialah turunan fenol yang memiliki aktivitas sebagai antioksidan. Senyawa *phenolic* berfungsi dalam menyerap dan menetralkan radikal bebas atau menguraikan peroksida. Antioksidan fenolat sebagai pencegah kerusakan akibat reaksi oksidasi (Dewanti & Sofian 2017).¹⁴

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) memiliki efek antinefrotoksisitas dengan menurunkan kadar ureum tikus (*Rattus norvegicus*). Dosis ekstrak etanol daun pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) 125 mg/kgBB paling efektif dalam menurunkan kadar ureum tikus (*Rattus norvegicus*).

DAFTAR PUSTAKA

1. Guyton AC, Hall JE. *Fisiologi Kedokteran*. Jakarta: EGC, 2007.
2. Goodman SL, Gilman A. *Farmakologi Dasar Terapi*. Jakarta: EGC, 2008.
3. Chandrasoma P, Taylor R. *Ringkasan Patologi Anatomi*. Jakarta: EGC, 2006.
4. Katzung BG. *Farmakologi Dasar dan Klinik volume 2*. Jakarta: EGC, 2013.
5. Kumar V, Abbas A, Aster. *Robbins basic pathology 10th Edition*. Philadelphia: Elsevier, 2018.
6. Sharma RK, Rajani GP, Sharma V, Komala N. Effect of ethanolic and aqueous extracts of *Bauhinia variegata* Linn. on Gentamicin-Induced Nephrotoxicity in Rats. *Ind J Pharm Edu Res*. 2011;45(2):192-198.
7. Dalimartha S. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia Jilid I*. Ungaran: Trubus Agriwidya, 1999.
8. Pamungkas DK, Retnaningtyas Y, Wulandari L. Pengujian aktivitas antioksidan kombinasi ekstrak metanol daun mangga gadung (*Mangifera indica* L. var. gadung) dan ekstrak etanol daun pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.). *e-Jurnal Pustaka Kesehatan*. 2017;5(1): 46-49.
9. Prameswari OM, Widjanarko SB. Uji efek ekstrak air daun pandan wangi terhadap penurunan kadar glukosa darah dan histopatologi tikus diabetes mellitus. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. 2018;2(2):16-27.
10. Yulinta NMR, Gelgel KTP, Kardena IM. Efek toksisitas ekstrak daun sirih merah terhadap gambaran mikroskopis ginjal tikus putih Diabetik yang diinduksi aloksan. *Buletin Veteriner Udayana*. 2013;5(2):114-121.
11. Kristianingsih I, Wiyono AS. Penggunaan infusa daun alpukat (*Persea americana* Mill.) dan ekstrak daun pandan (*Pandanus amaryllifolius* Roxb) sebagai peluruh kalsium batu ginjal secara In Vitro', *Jurna Wiyata*. 2015;2(1):93-101.
12. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. *Farmakope Herbal*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2010.
13. Sukmawati, Asmaliani I. Ekstrak etanol daun pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) sebagai Antinefrotoksisitas berdasarkan penurunan kadar kreatinin tikus. *As-Syifaa: Jurnal Farmasi*. 2019; 11(2): 93-98.
14. Dewanti NI, Sofian FF. Review artikel: Aktivitas farmakologi ekstrak daun pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.). *Farmaka*. 2017;15(2):186-193.