

**Uji Aktivitas Antilithiasis ekstrak etanol daun Belimbing wuluh
(*Averrhoa bilimbi* L.) pada Mencit Putih (*Mus musculus*)
(*Test Activity Antilithiasis of leaf ethanol extract Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi*
L.) to white mice***

Recky Patala¹, Nurlina Ibrahim², dan Akhmad Khumaidi³

¹Lab. Farmakognosi-Fitokimia Program Studi Farmasi Fakultas MIPA, Universitas Tadulako

²Lab. Farmakologi-Biofarmasi Program Studi Farmasi Fakultas MIPA, Universitas Tadulako

³Lab. Kesehatan Kota Palu

Email/Telp: Reckyfarmasi@gmail.com/ 085262897312

ABSTRAK

Pada penelitian ini telah dilakukan pengujian aktivitas antilithiasis ekstrak etanol daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) pada mencit putih (*Mus musculus*). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui adanya aktivitas antilithiasis dari ekstrak etanol daun belimbing wuluh pada mencit, serta menentukan dosis yang efektif sebagai antilithiasis. Daun belimbing wuluh diekstraksi secara maserasi dengan pelarut etanol 70 % kemudian dipekatkan dengan *Rotary Evaporator*. Selanjutnya ekstrak etanol daun belimbing wuluh dibuat dalam beberapa dosis yaitu 16,6 mg/Kg BB, 25 mg/Kg BB dan 33 mg/Kg BB. Parameter pengukuran yang digunakan yaitu bobot badan, bobot ginjal, rasio bobot ginjal terhadap bobot badan mencit serta kadar kalsium. Analisis kadar kalsium dilakukan dengan Spektrofotometer Serapan Atom pada panjang gelombang 422,7 nm. Hasil menunjukkan kadar kalsium pada kelompok ekstrak etanol daun belimbing wuluh secara signifikan lebih rendah dibandingkan kelompok induksi ($p < 0,05$). Ini membuktikan bahwa pemberian ekstrak etanol daun belimbing wuluh pada mencit yang diinduksi batu ginjal memiliki aktivitas sebagai antilithiasis dan dosis yang paling efektif sebagai antilithiasis yaitu pada dosis 16,6 mg/Kg BB.

Kata kunci: *Averrhoa Bilimbi* L., antilithiasis, kadar kalsium.

ABSTRACT

In this research, it has been conducted the testing of Ethanol Extract Antilithiasis activity of Averrhoa bilimbi L. leaf on white mice (Mus musculus). The objective of the research was to find out ethanol extract antilithiasis activity of Averrhoa bilimbi L. on white mice and determine the effective dosage as the antilithiasis. The leaf of Averrhoa bilimbi L. extracted masserative using ethanol solution as 70 % then it concentrated with. Rotary Evaporator. Furthermore, the ethanol extract was made in some dosage namely 16,6 mg/Kg BW, 25 mg/Kg BW and 33 mg/Kg BW. The measurement used was body weight, kidney weight,

*ratio of kidney weight toward mice weight and calcium concentration. The analysis of calcium concentration was done with Atomic Absorption Spectrophometer on the wave length of 422,7 nm. The research result showed that calcium concentration on the ethanol extract group significantly was lower than induction group ($p < 0,05$). It proved that the giving of ethanol extract of *Averrhoa bilimbi L.* on white mice induced with kidney have activity as the antilithiasis and the most effective dosage as the antilithiasis was as 16,6 mg/Kg BW.*

Key words: *Averrhoa bilimbi L.*, Antilithiasis, Calcium concentration.

1. PENDAHULUAN

Ilmu pengetahuan dalam bidang pengobatan saat ini telah mengalami perkembangan. Ini menunjukkan bahwa kemajuan dalam bidang teknologi sangat berkembang pesat. Namun, banyak masyarakat lebih cenderung memilih untuk kembali kepada alam (*back to nature*). Obat tradisional merupakan cara pengobatan yang banyak dipilih masyarakat. Selain penggunaannya yang mudah, harga yang relatif murah, memiliki efek samping yang lebih kecil, serta bahan baku yang mudah diperoleh di lingkungan sekitarnya (Kamal dkk, 2003). Salah satu penyakit yang memiliki angka kejadian yang cukup tinggi yaitu batu ginjal. Gangguan kesehatan yang dapat ditimbulkan oleh batu ginjal antara lain gangguan fungsi ginjal, infeksi saluran kemih, infeksi ginjal, kerusakan ureter dan urethra serta gagal ginjal.

Masalah kesehatan yang menempati urutan ketiga setelah infeksi saluran kemih dan kelainan prostat pada sebagian besar penyakit saluran kemih adalah batu ginjal (Soemardji A, dkk, 2004). Obat tradisional yang telah digunakan untuk mengobati batu ginjal antara lain Benalu Mindi, Tempuyung, Kumis Kucing, Meniran, Keji Beling, Bonsai, dan Akar Tinggal Sengkuang (Puswaningrum, dkk, 2009).

Batu ginjal merupakan penyakit kronis yang banyak dialami oleh masyarakat di Indonesia, khususnya masyarakat kota Palu. Angka kejadian batu ginjal pada tahun 2011 dan 2012 berdasarkan data yang dilaporkan di Rumah Sakit Umum Kota Palu yaitu sebesar 68 dan 270 pasien yang di rawat inap (Dinkes Kota Palu, 2011 dan 2012). Akibat yang ditimbulkan dari penyakit ini adalah terjadinya obstruksi, infeksi, dan rasa nyeri pada

saluran kemih. Obstruksi dan infeksi apabila berlangsung lama akan menyebabkan gangguan fungsi ginjal bahkan sampai taraf kegagalan ginjal.

Pengobatan terhadap penyakit batu ginjal yang telah banyak digunakan oleh masyarakat Indonesia yaitu dengan cara operasi pengeluaran batu, dan penghancuran batu dengan sinar radiasi yang memiliki resiko efek samping yang cukup tinggi dan harga yang relatif mahal, serta pemakaian obat-obatan modern yang hanya mencegah agar batu tersebut tidak bertambah besar dan tidak membantu pengeluaran batu ginjal secara spontan. Daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) merupakan tanaman yang banyak digunakan oleh masyarakat sebagai obat. Secara empiris tanaman ini dapat digunakan untuk mengobati sakit perut, rematik serta mengurangi gejala gangguan ginjal. Penelitian Bipat *et al.*, (2008) menunjukkan bahwa ekstrak daun belimbing wuluh dapat menurunkan tekanan darah melalui *stimulasi diuretik* pada hewan babi karena dari hasil analisis, daun belimbing wuluh memiliki kadar kalium yang cukup tinggi, yaitu 1,90 %. Kalium tersebut merupakan mineral yang dapat melancarkan pengeluaran air seni (*diuretik*) sehingga dapat menurunkan tekanan darah (Hidayati, 2007 dan Sinambella, 2003).

2. BAHAN DAN METODE

A. Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah timbangan analitik, gunting, blender, oven, botol vial, erlemeyer, cawan penguap, gelas ukur, spatula, tabung reaksi, rak tabung reaksi, pipet tetes, batang pengaduk, corong kaca, *rotary vacuum evaporator*, spektroskopi IR- Shimadzu dan spektrum ¹H NMR 500 MHz.

Sampel daun pirdot diambil di Desa Silangkitang, Kecamatan Sipoholon, Kabupaten Tapanuli Utara. Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah aquades, metanol, etil asetat, *n*-heksana, pereaksi Liberman Burchard, kloroform, etanol, H₂SO₄ pekat, dan silika gel.

B. Metode

Tahap preparasi sampel

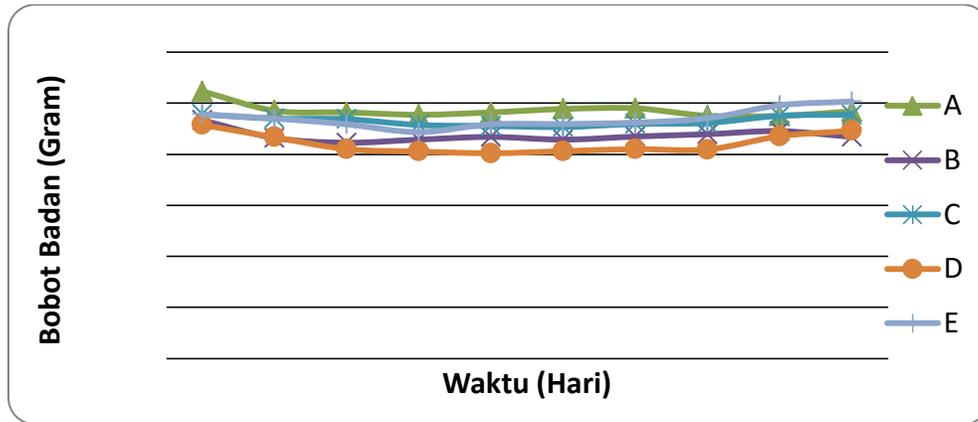
Daun belimbing wuluh diperoleh dari pohon belimbing wuluh yang masih segar yang terletak di Desa Mpanau Kecamatan Biromaru Kabupaten Sigi. Dilakukan determinasi di Unit Pelaksana Teknis (UPT) Sumber Daya Hayati Sulawesi *Herbarium Celebense* (CEB) Universitas Tadulako Palu. Serbuk daun belimbing wuluh dimaserasi dengan palarut etanol 70% selama 3 x 24 jam dan dilakukan pengadukan selama 1x 24 jam. Hasil maserasi di evaporasi dengan *rotary evaporator*. Temperatur yang digunakan selama evaporasi yaitu 60⁰C pada 50 rpm untuk mendapatkan ekstrak kental daun belimbing wuluh.

Sebanyak 18 ekor hewan coba mencit putih jantan (20-30 g) yang digunakan dalam penelitian ini. Hewan coba diaklimasi selama 7 hari serta diberi pakan *ad libitum*. Hewan coba dibagi secara acak dalam 5 kelompok (n = 3). Kelompok A diberi induksi etilen glikol 0,75 % dan ammonium klorida 2 % (kontrol negatif), Kelompok B diberi induksi yang sama dan sediaan jamu dengan kombinasi ekstrak (*Orthosipon stamineus*, *Strobilantus crispus*, *Sonchus arvensis*, *Phyllantus niruri*, *Plantago mayor*) secara peroral dengan dosis 12,03 mg/20 g (Kontrol Positif). Kelompok C, D, E, diberi induksi yang sama dan diberi larutan ekstrak daun belimbing wuluh secara peroral dengan dosis 16,6 mg/Kg bb, 25 mg/Kg bb, dan 33 mg/Kg bb. Pemberian dilakukan selama 10 hari. Setelah 10 hari hewan coba dianastesi kemudian dibedah dan diambil sampel ginjalnya untuk dianalisis. Ginjal hewan coba dikeringkan pada suhu 100⁰C selama 24 jam kemudian ditimbang dan dimasukkan ke dalam gelas piala. Sampel ginjal tersebut ditambahkan asam nitrat pekat 0,4 N 5 ml kemudian dipanaskan sampai cairan berubah kekuningan, ditambahkan aquades hingga 20 ml kemudian disaring dan dianalisis kadar kalsiumnya dengan Spektrofotometer Serapan Atom pada panjang gelombang 422,7 nm.

2. HASIL DAN PEMBAHASAN

Bobot badan, bobot ginjal, dan ratio.

Pada pengukuran bobot badan terlihat bahwa terjadi penurunan dan kenaikan bobot badan mencit (gambar 1) pada kelompok negatif, kelompok positif, dan kelompok dosis ekstrak. Namun, secara statistik pengukuran bobot badan tidak memberikan pengaruh yang signifikan ($p > 0,05$). Hasil statistik pada pengukuran bobot ginjal (Tabel 1) juga tidak menunjukkan pengaruh yang signifikan ($p > 0,05$) tetapi jika dilihat pada (Gambar 2) bobot ginjal pada kelompok negatif cenderung lebih besar bila dibandingkan dengan kelompok positif dan kelompok dosis ekstrak. Hasil pengukuran ratio atau perbandingan antara bobot badan dengan bobot ginjal relatif (Gambar 2) menunjukkan terjadi peningkatan pada kelompok negatif, bila dibandingkan dengan kelompok positif dan kelompok dosis ekstrak. Pada kelompok negatif, bobot badan 24,416 gram dengan bobot ginjal 0,15 gram akan memiliki ratio 0,123, sedangkan pada kelompok positif bobot badan 21,829 gram dengan bobot ginjal 0,10 gram akan memiliki ratio 0,092, begitupun pada kelompok dosis 16,6 mg/kg bb, bobot badan 23,280 gram dengan bobot ginjal 0,12 memiliki ratio 0,103, kelompok dosis 25 mg/kg bb, bobot badan 21,173 gram dengan bobot ginjal 0,10 gram memiliki ratio 0,095, kelompok dosis 33 mg/kg bb, bobot badan 23,500 gram dengan bobot ginjal 0,13 gram memiliki ratio 0,111. Hasil statistik pada pengukuran ratio juga tidak menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan ($p > 0,05$)



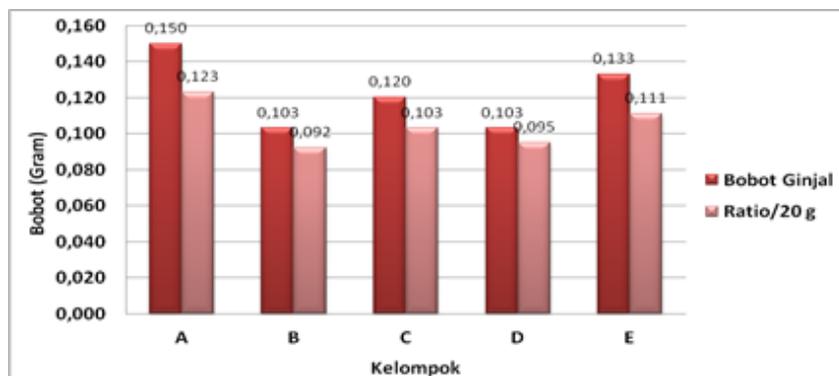
Gambar 1. Grafik rerata bobot badan mencit

Keterangan: A: Kontrol Negatif; B: Kontrol Positif; C: Kontrol Dosis 16,6 mg/Kg bb;
D:Kontrol Dosis 25 mg/Kg bb; E: Kontrol Dosis 33 mg/Kg bb.

Tabel 1. Rerata bobot badan, bobot ginjal dan ratio

Kelompok	Parameter		
	Bobot badan (gram)	Bobot Ginjal (gram)	Ratio
A	24,416 ± 0,682	0,15 ± 0,030	0,123 ± 0,025
B	21,829 ± 0,611	0,10 ± 0,028	0,092 ± 0,027
C	23,280 ± 0,470	0,12 ± 0,026	0,103 ± 0,023
D	21,173 ± 1,160	0,10 ± 0,035	0,095 ± 0,097
E	23,500 ± 0,912	0,13 ± 0,058	0,111 ± 0,113

Keterangan: A: Kontrol Negatif; B: Kontrol Positif; C: Kontrol Dosis 16,6 mg/Kg bb;
D:Kontrol Dosis 25 mg/Kg bb; E: Kontrol Dosis 33 mg/Kg bb.



Gambar 2. Grafik rerata bobot ginjal dan rasio

Keterangan: A: Kontrol Negatif; B: Kontrol Positif; C: Kontrol Dosis 16,6 mg/Kg bb;
D: Kontrol Dosis 25 mg/Kg bb; E: Kontrol Dosis 33 mg/Kg bb.

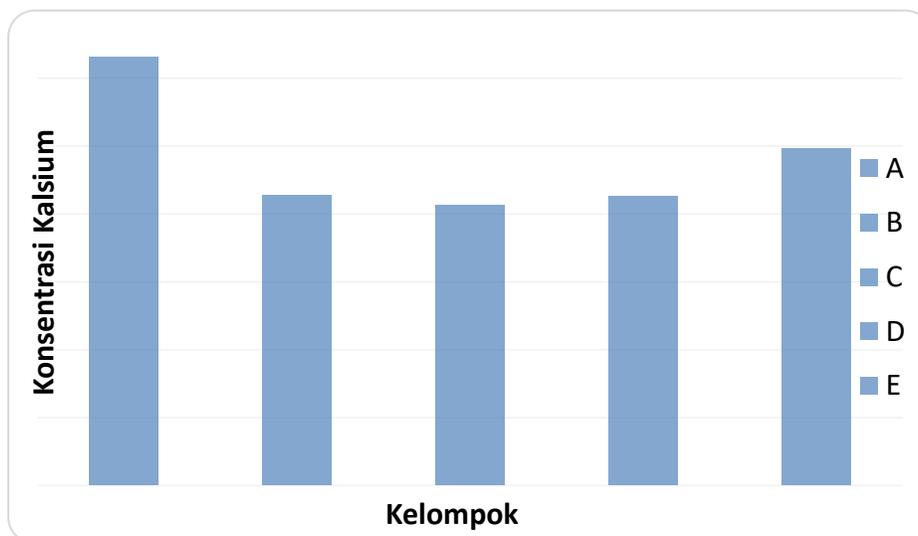
Konsentrasi kalsium.

Dari hasil analisis kadar kalsium (Tabel 2), secara statistik menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$). Pada kelompok positif dan kelompok dosis ekstrak, sedikit memberikan pengaruh pada penurunan kadar kalsium bila dibandingkan dengan kelompok negatif yang diinduksi dengan etilen glikol 0,75 % dan ammonium klorida 2 % (gambar 2).

Tabel 2. Rerata kadar kalsium (mg/L)

Kelompok	Parameter
	Kadar Kalsium (mg/L)
Kontrol Negatif	$6,323 \pm 0,947^1$
Kontrol Positif	$4,271 \pm 0,020^3$
Dosis ekstrak 16,6 mg/Kg bb	$4,129 \pm 0,100^3$
Dosis ekstrak 25 mg/Kg bb	$4,263 \pm 0,027^3$
Dosis ekstrak 33 mg/Kg bb	$4,961 \pm 0,016^2$

Keterangan: Superskrip yang berbeda menunjukkan hal yang berbeda nyata ($p < 0,05$).



Gambar 3. Grafik rerata konsentrasi kalsium

Keterangan: A: Kontrol Negatif; B: Kontrol Positif; C: Kontrol Dosis 16,6 mg/Kg bb; D: Kontrol Dosis 25 mg/Kg bb; E: Kontrol Dosis 33 mg/Kg bb.

PEMBAHASAN

Nefrotoksik atau cedera yang terjadi pada bagian tubulus secara otomatis dapat meningkatkan bobot ginjal karena pembengkakan yang timbul akibat reaksi radang selain kadar mineral kalsium dan oksalat yang tinggi dalam ginjal. Pada kelompok ekstrak terjadi penurunan bobot ginjal karena dipengaruhi oleh aktivitas anti radang dari ekstrak daun belimbing wuluh sehingga dapat menurunkan bobot ginjal relatif akibat adanya *nefrotoksik* tersebut. Asam sitrat merupakan salah satu faktor penghambat batu ginjal yang dapat memecah kristal dengan mengikat kalsium menjadi kalsium sitrat yang lebih mudah larut dalam air, sehingga pertumbuhan kristal kalsium oksalat yang dapat mengobstruksi lumen tubulus akan terhambat. Oksalat dapat mencegah proliferasi sel epitel tubulus renalis melalui peningkatan reaksi oksidatif sel yang memproduksi radikal bebas yang dapat menyebabkan kerusakan sel tersebut (Atmani *et al.*, 2004 dan Han *et al.*, 2004).

Pencegahan proliferasi sel epitel tubulus renalis oleh oksalat melalui reaksi oksidatif sel dapat terhambat, ini disebabkan karena adanya aktivitas antioksidan dari ekstrak daun belimbing wuluh. Aktivitas tersebut dipengaruhi oleh adanya kandungan enzim *peroksidase* dan senyawa flavonoid. Potensi aktivitas antioksidan dari flavonoid dan enzim *peroksidase* adalah kemampuannya dalam mengumpulkan radikal bebas serta radikal peroksidasi lemak yang kemudian mengkatalis dan mencegah proses oksidasi reduksi senyawa peroksida (Painter, 2000 dan Biworo dkk, 2007). Mekanisme lain dari flavonoid sebagai peluruh kalsium batu ginjal yaitu dengan cara membentuk senyawa kompleks khelat yang stabil antara logam-logam dengan senyawa flavonoid membentuk Ca-Flavanoid sehingga senyawa kompleks tersebut lebih mudah larut dalam urin. Sinambela (2003) menyebutkan bahwa daun belimbing wuluh memiliki kadar kalium yang cukup tinggi yaitu 1,90%. Kandungan mineral kalium tersebut, juga memiliki aktivitas dalam melarutkan kalsium

yaitu dengan memisahkan ikatan kalsium dengan oksalat sehingga kalsium batu ginjal menjadi terlarut bersama urin (Suharjo dan Cahyono, 2009).

Berdasarkan hasil analisis statistik *post hoc* Duncan kadar kalsium yang diperoleh pada tabel (Tabel 2), dapat terlihat pada kontrol negatif, kadar kalsium yang terukur dalam satuan (mg/L) yaitu 6,323 mg/L menunjukkan adanya perbedaan yang nyata ($p < 0,05$) dengan kelompok sediaan perbandingan (jamu) dan kelompok dosis ekstrak. Seperti yang terlihat pada grafik (Gambar 3), kadar kalsium pada kelompok negatif lebih besar tingkat kenaikannya dari kelompok-kelompok sediaan perbandingan (jamu) dan kelompok dosis ekstrak. Kadar kalsium yang terukur pada kelompok perbandingan (jamu) B 4,271 mg/L dengan kelompok dosis ekstrak C 4,263 mg/L dan D 4,961 mg/L tidak menunjukkan perbedaan yang nyata ($p > 0,05$), tetapi bila dibandingkan dengan kelompok negatif menunjukkan adanya perbedaan secara signifikan ($p < 0,05$). Begitupun kadar kalsium yang terukur pada kelompok dosis ekstrak E 4,129 mg/L menunjukkan adanya perbedaan yang nyata bila dibandingkan dengan kelompok negatif ($p < 0,05$) tetapi tidak menunjukkan perbedaan yang nyata bila dibandingkan dengan kelompok sediaan perbandingan (jamu) B dan kelompok dosis ekstrak C dan D.

Kelompok (jamu) dan ekstrak cenderung mengalami proses pembentukan kadar kalsium oksalat yang menyebabkan adanya kelainan pada ginjal, yang menyebabkan terjadinya kenaikan kadar kalsium, namun dengan adanya pemberian ekstrak dan jamu yang dapat mengurangi proses tersebut dengan mekanisme pelarutan kalsium oksalat dalam ginjal, sehingga kadar kalsium oksalat pada ginjal mulai berkurang.

Dari hasil analisis kadar kalsium, kelompok yang diberi ekstrak etanol daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) memberikan pengaruh yang cukup besar dalam menghambat dan mengurangi pembentukan kalsium oksalat batu ginjal (*nefrolithiasis*) seperti yang terlihat pada gambar 3.

3. KESIMPULAN

Hasil uji statistik menunjukkan bahwa kelompok dosis ekstrak C cenderung memberikan tingkat penurunan kadar kalsium yang cukup besar dari kelompok dosis

ekstrak D dan E. Hal ini dapat diasumsikan bahwa dengan pemberian dosis ekstrak 16,6 mg/Kg bb dan 25 mg/Kg bb dapat memberikan pengaruh yang sama secara statistik, sehingga dosis ekstrak yang paling efektif yaitu dosis ekstrak 16,6 mg/Kg bb. Sehingga dari hasil perhitungan statistik yang diperoleh, kelompok dosis ekstrak C lebih baik dalam menghambat dan mengurangi pembentukan kalsium oksalat dibanding kelompok dosis ekstrak D dan E.

5. UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada BPOM kota Palu untuk penggunaan spektrofotometri serapan atom.

DAFTAR PUSTAKA

- Anggara, A., Febram, B.P., and Madyastuti, R., 2012. *Antilithiasis Activity of Avocado (Persea americana Mill) Leaves Extract in White Male Rats*. Bogor. Hayati Journal of Biosciences March 2012 Vol. 19 No. 1, p 49-52.
- Atmani, F., Gerald, F., John, L., 2004. *Extract From Herniaria Hirsuta Coats Calcium Oxalate Monohydrate Crystals And Blocks Their Adhesion To Renal Epithelial Cells*. The Journal of Urology. 172(4 Pt 1):1510-4.
- Bipat, R., J.R. Tolsie, R.F. Joemnanbaks, J.M. Gummels, J. Klavermeide, N. Jhanjan, S. Orie, K. Rarajiawan, A. van Brusel, R.C. Soekhoe and D.R.A. Mans, 2008. *Effects Of Plants Populary Used Against Hypertension On Nornepherineprine-Stimulated Guinea Pig Atria*. Pharmacognosy, 4 (13) : 12-19.
- Biworo, A., Suhartono, E., Setiawan, B., 2007, *Aktivitas Antioksidan Enzimatik Infus Daun Belimbing Wuluh (Averrhoa Bilimbi Linn) Dan Potensinya Sebagai Analgetik*. MKB Volume xxxix No.2.
- Green, ML., Hatch M., Freel RW., 2005. *Ethylene Glycol Induces Hyperoxaluria Without Metabolic Acidosis In Rats*. AJP-Renal Physiology. 289(3):536-543.
- Grover, PK., Thurgood, LA., Fleming, DE., Bronswijk, W., Wang, T., Ryall, RL., 2007. *Intracrystalline Urinary Proteins Facilitate Degradation And Dissolution Of Calcium Oxalate Crystals In Cultured Renal Cells*. AJP-Renal Physiology. 294:355-36.

- Han, HJ., Lim, MJ., Lee, YJ., 2004. *Oxalate Inhibits Renal Proximal Tubule Cell Proliferation Via Oxidative Stress, P38 MAPK/JNK, And Cpla2 Signaling Pathways*. AJP-Renal Physiology. 287:1058-1066.
- Painter, FM. 2000. *Antioxidant Flavonoids: Structure, Function And Clinical Usage*. Alternative Medicine Review. 1(2):103-111.
- Puswaningrum, K., dkk, 2009, *Aktivitas Sari Lobak (Raphanus sativus L.) Terhadap kelarutan Batu ginjal kalsium secara in vitro*, Jurnal Bahan Alam Indonesia Vol. 7, No.1 : 32-35, Depok.
- Sinambela, J.M., 2003, *Standarisasi sediaan obat herba*, Prosiding seminar dan Pameran Nasional Tumbuhan Obat Indonesia XXIII : 36-43.
- Suharjo, B., Cahyono, Sp. PD, 2009. *Batu Ginjal*, Kanisius, Yogyakarta, Hal: 27, 30-31, 48-49, 82.
- Sumoerdji, A., Soediro, I., Padmawinata, K., Dhianawaty, D., 2004, *Isolasi, Karakterisasi dan Uji Aktivitas Antikalkuli Apigenin 7-o-glukosida dari daun Sonchus arvensis L., pada Tikus dengan Metode Matriks-Asam glikolat*, Jurnal Bahan Alam Indonesia ISSN 1412-2855 Vol. 3, No. 1, Bandung.