

Pengaruh Pemberian Kombinasi Ekstrak Etanol Brotowali, Sambiloto, Meniran dan Kayu Manis Terhadap Histopatologi Glomerulus Tikus Model Hiperglikemia

Dhadhang Wahyu Kurniawan^{1*}, Novianti Dian Lestari¹, Hidayat Sulisty² dan Cac³

¹Jurusan Farmasi, Fakultas Ilmu-Ilmu Kesehatan, Universitas Jenderal Soedirman, Jl. Dr. Soeparno No. 41, Karangwangkal, Purwokerto, Banyumas, Indonesia, 53123.

²Departemen Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran, Universitas Jenderal Soedirman, Jl. Dr. Gumbreg No. 1, Mersi, Purwokerto, Banyumas, Indonesia, 53147.

³Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Jenderal Soedirman, Jl. Dr. Soeparno No. 61, Karangwangkal, Purwokerto, Banyumas, Indonesia, 53123.

*email korespondensi: dhadhang.kurniawan@unsoed.ac.id

Received 26 May 2021, Accepted 10 August 2022, Published 15 November 2022

Abstrak: Brotowali, sambiloto, meniran, dan kayu manis merupakan tanaman unggulan Indonesia yang diketahui memiliki kandungan metabolit sekunder yang efektif dalam menurunkan kadar glukosa darah. Keempat tanaman tersebut telah banyak diteliti dan digunakan untuk mengatasi kondisi hiperglikemia namun keamanan kombinasi keempat tanaman tersebut belum diketahui. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian kombinasi ekstrak etanol keempat tanaman tersebut terhadap perubahan histopatologi glomerulus tikus wistar jantan yang mengalami hiperglikemia akut. Tikus Wistar jantan diinduksi hiperglikemia dengan glukosa 2 gram/kgBB kemudian diberi kombinasi ekstrak etanol brotowali, sambiloto, meniran, dan kayu manis dengan dosis terendah (100 gram/kgBB , 100 gram/kgBB , 200 gram/kgBB , dan 300 gram/kgBB) dan tertinggi (500 gram/kgBB , 400 gram/kgBB , 400 gram/kgBB , dan 600 gram/kgBB) pada fase akut selama 24 jam. Perubahan histopatologi yang diamati berupa degenerasi albumin, degenerasi vakuolar, dan perubahan ruang Bowman. Data hasil pengamatan dianalisis menggunakan uji Kruskal-Wallis dan Mann-Whitney dengan taraf kepercayaan 95%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian kombinasi ekstrak memberikan pengaruh terhadap perubahan histopatologi glomerulus tikus hiperglikemia dengan *p value* 0,001 untuk degenerasi albumin dan degenerasi vakuolar; 0,048 untuk pelebaran ruang Bowman; dan 0,020 untuk penyempitan ruang Bowman. Pemberian kombinasi ekstrak dosis rendah memberikan pengaruh terhadap kerusakan glomerulus yang lebih ringan dibandingkan pemberian kombinasi ekstrak dosis tinggi.

Kata kunci: brotowali; histopatologi glomerulus; kayu manis; meniran; sambiloto

Abstract. The Effect of Brotowali, Sambiloto, Meniran, and Cinnamon Extract Combination on Rat Glomerular Histopathology. Brotowali, sambiloto, meniran, and kayu manis are Indonesia's main commodities that have secondary metabolites as hypoglycemic activity. That plants have been used and studied for resolving hyperglycemic condition. However, its safety was remained unknown. The objective of this study was to explore effect of brotowali, sambiloto, meniran, and kayu manis extracts combination against rat glomerular histopathology in acute hyperglycemia. Male wistar rat was induced to hyperglycemia using 2 gram/kg bw glucose following with combination of brotowali, sambiloto, meniran, and kayu manis extracts using lowest dose (100 mg/kgbw, 100 mg/kgbw, 200 mg/kgbw, dan 300 mg/kgbw) and highest dose (500 mg/kgbw, 400 mg/kgbw, 400 mg/kgbw, and 600 mg/kgbw) in acute periode for 24 hour. Histopathological change such albumin and vacuolar degeneration and change in Bowman space were observed. Data of observation were analyzed using Kruskal-Wallis and Mann-Whitney test with 95% Confident Interval (CI). The result showed there are

some effects of administering extracts combination to glomerular histopathological change with p value 0,001 for albumin and vacuolar degeneration; 0,048 for increasing Bowman space; and 0,020 for decreasing Bowman space.

Keywords: brotowali; glomerular histopathology; kayu manis; meniran; sambiloto

1. Pendahuluan

Diabetes Melitus (DM) merupakan salah satu penyakit metabolik yang ditandai dengan kondisi hiperglikemia kronis akibat gangguan sekresi insulin, abnormalitas kerja insulin atau kombinasi keduanya (Sari & Purnama, 2019). Prevalensi nasional DM berdasarkan pemeriksaan gula darah penduduk usia di atas 15 tahun di daerah perkotaan sebesar 5,7% atau sekitar 12 juta orang. Penyakit ini menduduki ranking ke-2 penyebab kematian di daerah perkotaan dan ke-6 untuk daerah pedesaan. Secara epidemiologi diperkirakan bahwa pada tahun 2030 prevalensi DM di Indonesia mencapai 21,3 juta orang (Kemenkes, 2021).

Terapi yang diberikan untuk penderita diabetes melitus adalah dengan mengontrol kadar glukosa darah dengan menggunakan insulin maupun obat hipoglikemi oral (OHO). Akan tetapi, OHO memiliki keterbatasan penggunaan pada pasien dengan disfungsi ginjal yang merupakan salah satu komplikasi diabetes karena dapat meningkatkan terjadinya efek samping yang tidak diinginkan, memperberat kerja ginjal, dan memperparah kondisinya (Djaya *et al.*, 2011). Fakta tersebut kemudian menjadikan masyarakat lebih memilih pengobatan dengan bahan alam menggunakan tanaman obat karena dianggap tidak memiliki efek samping yang berbahaya seperti obat kimia sintetis (Farida & Claudia Putri, 2016).

Tanaman tropis telah diteliti kemampuannya untuk mengatasi kondisi hiperglikemia, diantaranya mimba (*Azadirachta indica*), cempedak (*Artocarpus champeden*), manggis (*Garcinia mangostana*), rambutan (*Nephelium lappaceum*), sogu (*Peltophorum pterocarpum*), jambu air (*Syzygium aqueum*), jamblang (*Syzygium cumini*), dan anggur (*Vitis vinifera*) (Manaharan *et al.*, 2012). Selain itu, beberapa tanaman yang telah digunakan sebagai agen antihiperglikemia yaitu brotowali (*Tinospora crispa*) (Pramudya *et al.*, 2020; Purnamasari, 2021; Warsinah *et al.*, 2020), sambiloto (*Andrographis paniculata*) (Syukri *et al.*, 2015; Nugroho *et al.*, 2016), kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) (Damayanti, 2014; Mila, 2016; Anna & Firdus, 2017; Cheng *et al.*, 2012), dan meniran (*Phyllanthus niruri*) (Iswahyudi *et al.*, 2018).

Brotowali, kayu manis dan sambiloto merupakan komoditi tanaman binaan Direktorat Jenderal Perkebunan, Direktorat Jenderal Tanaman Pangan, dan Direktorat Jenderal Hortikultura sesuai dengan Keputusan Menteri Pertanian Nomor 511/Kpts/PD.310/9/2006. Sambiloto merupakan satu dari sembilan tanaman unggulan Indonesia yang dikembangkan untuk uji klinik oleh Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM) (Jadid *et al.*, 2020; Yanti,

2020). Sambiloto menjadi tanaman unggulan Indonesia karena dapat tumbuh dengan baik di wilayah Indonesia yang teduh dan agak lembab. Brotowali sendiri telah banyak diteliti khasiat dan mekanismenya sebagai agen penurun glukosa darah (Nugroho *et al.*, 2016). Penggunaan kayu manis pada pasien diabetes juga menunjukkan bahwa pemberian kayu manis dapat menurunkan kadar glukosa darah penggunanya (Djaya *et al.*, 2011). Meniran merupakan salah satu tanaman obat Indonesia yang telah dikembangkan menjadi fitofarmaka sebagai imunomodulator. Penggunaan meniran selain dapat memodulasi imunitas tubuh dapat juga menurunkan kadar glukosa darah (Okoli *et al.*, 2011).

Brotowali, kayu manis dan sambiloto telah banyak diteliti dan terbukti memiliki kandungan metabolit sekunder yang efektif menurunkan kadar glukosa darah. Brotowali dengan kandungan borapetoside telah terbukti mampu menurunkan kadar glukosa darah. Tanaman ini juga mampu memberikan efek proteksi terhadap progresifitas kerusakan ginjal (Lam *et al.*, 2012; Sharma *et al.*, 2015). Sambiloto dengan kandungan andrografolid juga telah terbukti efektif menurunkan kadar glukosa darah (Li *et al.*, 2015). Meniran dengan kandungan phyllanthin dan hypophyllanthin serta kayu manis dengan kandungan polifenolnya mampu memberikan efek penurunan glukosa darah dengan mempengaruhi enzim pemetabolisme karbohidrat (Muqsita *et al.*, 2015; Oktavidiati *et al.*, 2011).

Ekstrak tanaman pada penggunaan secara tunggal sudah diteliti keamanannya. Ekstrak brotowali diketahui dapat meningkatkan serum kreatinin tanpa adanya perubahan histopatologi pada ginjal (Klangjareonchai *et al.*, 2015). Konsumsi 2 g/kgBB ekstrak sambiloto dan 100 gram/kgBB ekstrak meniran diklaim aman dan tidak menimbulkan toksisitas pada glomerulus ginjal (Nugroho *et al.*, 2016; Tambunan *et al.*, 2019). Ekstrak kayu manis dilaporkan tidak mengakibatkan terjadinya perubahan diameter glomerulus pada tikus yang diinduksi dengan aloksan (Damayanti, 2014). Keempat tanaman tersebut telah banyak diteliti khasiat dan keamanannya untuk pengobatan DM secara tunggal, akan tetapi khasiat dan keamanan kombinasi keempat tanaman tersebut belum diteliti kemampuannya untuk bekerja secara sinergis dengan aman.

Penelitian ini merupakan bagian dari studi efektifitas kombinasi ekstrak brotowali, sambiloto, meniran, dan kayu manis sebagai agen penurun glukosa darah. Paparan glukosa diberikan untuk menginduksi kondisi hiperglikemia hewan uji yaitu tikus wistar jantan sesuai dengan prosedur tes toleransi glukosa oral. Tujuan penelitian ini adalah untuk memastikan bahwa penggunaan kombinasi ekstrak brotowali, sambiloto, meniran, dan kayu manis tidak mengakibatkan terjadinya perubahan pada gambaran histopatologi glomerulus tikus model hiperglikemia. Pejanan glukosa secara akut tidak mengakibatkan terjadinya disfungsi seluler

sehingga jika terjadi perubahan histopatologi pada organ yang diamati maka dapat dipastikan bahwa perubahan tersebut adalah akibat dari pemberian ekstrak.

2. Bahan dan Metode

2.1. Bahan dan alat

Bahan penelitian terdiri dari serbuk batang brotowali, herba sambiloto, batang kayu manis, dan herba meniran (Toko Jamu Ting Bao, Purwokerto), tikus jantan galur Wistar berumur 2–3 bulan dengan bobot badan 150-200 gram, pakan tikus berupa pelet AD2 (PT. COMFED, Surabaya), tablet glibenklamid (Apotik Purwokerto), glukosa teknis, akuades, CMC-Na 1%, etanol 70% (Merck), formalin 10%, dan parafin.

Alat yang digunakan pada penelitian terdiri dari timbangan hewan uji, sonde, spuit injeksi 5 mL, kandang tikus beserta tempat makan dan minumannya dan mikroskop cahaya.

2.2. Rancangan penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium dengan rancangan *post-test only control group design* yang menganalisis pengaruh pemberian kombinasi ekstrak etanol brotowali, sambiloto, meniran, dan kayu manis terhadap histopatologi glomerulus ginjal tikus wistar jantan hiperglikemia yang diinduksi dengan satu kali pemberian glukosa pada fase akut, yaitu 24 jam setelah pemberian perlakuan. Hewan uji yang digunakan adalah tikus wistar jantan usia 2-3 bulan dengan berat bada 150-200 gram. Seluruh eksperimen menggunakan hewan uji tikus ini telah mendapatkan ethical approval dari Komisi Etik Penelitian Kedokteran (KEPK) Fakultas Kedokteran Unsoed bernomor 101/KEPK/VI/2015.

2.3. Pembuatan ekstrak

Serbuk brotowali, sambiloto, meniran, dan kayu manis masing-masing dimaserasi menggunakan etanol 70% dengan perbandingan 1:5 (500 gram serbuk : 2500 mL etanol) selama 3x24 jam. Maserat diuapkan di atas *waterbath* hingga diperoleh ekstrak kental.

2.4. Perlakuan hewan uji

Hewan uji dibagi ke dalam 4 kelompok dengan masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor hewan uji (Ayu *et al.*, 2014). Perlakuan untuk masing-masing kelompok adalah kelompok I (kontrol sehat) dengan tidak diberi perlakuan, kelompok II (kontrol hiperglikemia) dengan diberi glukosa 400 mg / 200 g bb dan 30 menit kemudian diukur kadar gula darahnya, setelah itu diberi Na-CMC 1% dengan rute oral, kelompok III dengan diberi glukosa 400 mg / 200 g bb dan 30 menit kemudian diukur gula darahnya lalu diberi kombinasi ekstrak dosis rendah (Tabel 1) dalam Na-CMC 1% dengan rute oral, serta kelompok IV dengan diberi glukosa 400 mg/200 g bb dan 30 menit kemudian diukur gula darahnya sesudah itu diberi kombinasi ekstrak dosis tinggi (Tabel 1) dalam Na-CMC 1% dengan rute oral.

Tabel 1. Dosis ekstrak tanaman unggul Indonesia yang diberikan melalui rute oral pada tikus wistar jantan (Ahmad *et al.*, 2013).

Ekstrak	Dosis (gram/kgBB)	Dosis pemberian	
		Rendah (mg/g bb)	Tinggi (mg/g bb)
Brotowali	100-500	20/200	100/200
Sambiloto	100-400	20/200	80/200
Meniran	200-400	40/200	80/200
Kayu manis	300-600	60/200	120/200

2.5. Pembuatan preparat histopatologi

Hewan uji diterminasi 24 jam setelah pemberian kombinasi ekstrak dengan cara dislokasi servikalis. Organ ginjal hewan uji difiksasi menggunakan netral buffer formalin (NBF) 10%. Selanjutnya, preparat dipotong dan dimasukkan ke dalam cetakan parafin cair (blok parafin) yang kemudian dipotong kembali dengan potongan sagital menggunakan mikrotom (*sectioning*). Preparat yang sudah dipotong kemudian diulas (*staining*) menggunakan *hematoxylin* dan *eosin* (Prahanarendra, 2015; Warsinah *et al.*, 2020).

2.6. Pemeriksaan histopatologi

Sel-sel glomerulus diamati secara histopatologi dengan dilakukan pada 100 glomerulus dan terdapat lesi yang berupa degenerasi albumin, degenerasi vakuolar, serta pelebaran serta penyempitan ruang Bowman. Hasil pengamatan dituangkan dalam bentuk skor sebagaimana tertera pada Tabel 2.

Tabel 2. Parameter skoring histopatologi glomerulus dengan terbentuknya lesi pada tikus wistar jantan (Canales *et al.*, 2012).

Skor	Keterangan
0	Tidak terjadi lesi
+1	Terjadi lesi kurang dari 10 %
+2	Terjadi lesi sebesar 10-25 %
+3	Terjadi lesi sebesar 26-50 %
+4	Terjadi lesi lebih dari 50 %

2.7. Analisis data

Hasil pemeriksaan berupa data skoring yang merupakan data ordinal diolah secara statistik non parametrik univariat. Uji beda antar kelompok perlakuan dilakukan dengan menggunakan uji Kruskal-Wallis yang membandingkan semua kelompok untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan yang signifikan. Parameter perubahan yang menunjukkan adanya perbedaan signifikan selanjutnya dianalisis menggunakan uji lanjut untuk mengetahui kelompok perlakuan mana saja yang memberikan perbedaan signifikan. Uji lanjut yang digunakan adalah uji Mann-Whitney yang hanya membandingkan dua kelompok perlakuan. Uji Kruskal-Wallis dan Mann-Whitney dipilih karena variabel penelitian yang diukur berasal dari kelompok sampel yang independent.

3. Hasil dan Pembahasan

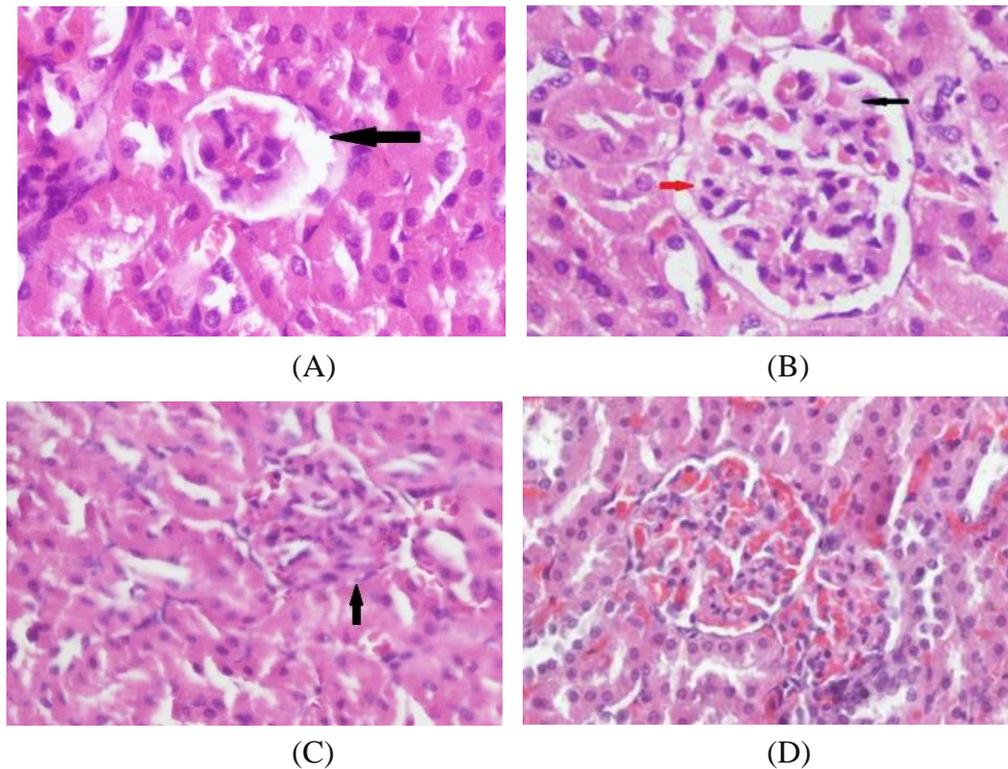
Histopatologi glomerulus diamati perubahannya secara mikroskopik dan dilakukan oleh dua orang observer untuk meminimalkan subyektivitas dalam pengamatan. Hasil pengamatan kedua observer kemudian diolah sehingga diperoleh persentase kesepakatan kedua observer dalam pengamatan. Data pengamatan yang diperoleh dari studi ini menunjukkan nilai kesepakatan sebesar 0,725 atau 72,5%. Nilai kesepakatan ini menunjukkan bahwa pengamatan yang dilakukan oleh kedua observer termasuk ke dalam level kesepakatan yang cukup kuat sehingga hasil pengamatan dapat digunakan lebih lanjut dalam analisis secara statistik. Hasil pengamatan skor perubahan histopatologi glomerulus ditunjukkan pada Tabel 3.

Tabel 3. Skor perubahan histopatologi glomerulus tikus model hiperglikemia. Keterangan: Kelompok I : Kontrol sehat, Skor 0 : Kerusakan 0%; Kelompok II : Kontrol hiperglikemia, Skor 1 : Kerusakan <10%; Kelompok III : Kombinasi ekstrak dosis rendah, Skor 2 : Kerusakan 10-25%; Kelompok IV : Kombinasi ekstrak dosis tinggi, Skor 3 : Kerusakan 26-50%, Skor 4 : Kerusakan >50%.

Kelompok	Ulangan	Degenerasi albumin	Degenerasi vakuolar	Ruang Bowman melebar	Ruang Bowman menyempit
I	1	0	1	2	1
	2	0	1	1	1
	3	0	2	1	1
	4	0	1	1	1
	5	0	1	1	1
II	1	4	3	2	1
	2	4	3	1	2
	3	4	3	2	2
	4	4	3	2	1
	5	4	3	2	1
III	1	3	2	1	2
	2	3	2	1	2
	3	3	2	1	2
	4	3	2	1	2
	5	4	2	1	2
IV	1	4	4	2	1
	2	4	3	2	2
	3	4	4	2	1
	4	4	4	1	2
	5	4	3	1	2

Hasil pengamatan secara mikroskopik pada glomerulus tikus menunjukkan perubahan berupa degenerasi albumin, degenerasi vakuolar, dan perubahan ruang Bowman (Gambar 1). Degenerasi albumin merupakan suatu kondisi dimana terjadi perubahan permeabilitas membran sel akibat adanya jejas sehingga protein albumin dapat melintasi membran dan masuk ke dalam sel. Akibatnya, terjadi peningkatan volume cairan dalam sel yang mengakibatkan sel membesar atau mengalami udem dan warna sitoplasma tampak menjadi lebih pucat. Vakuola dalam sel glomerulus merupakan kelanjutan dari degenerasi albumin yang tampak akibat terjadinya pembengkakan retikulum endoplasma (Prahanarendra, 2015). Perubahan ruang Bowman

merupakan akibat dari sel-sel glomerulus yang mengalami degenerasi sehingga membengkak maupun akibat sel-sel glomerulus mengalami atrofi.



Gambar 1. Gambaran perubahan histopatologi glomerulus tikus model hiperglikemia hasil pewarnaan hematoxilin & eosin (H&E) pada perbesaran 400x. Keterangan: A = kelompok III, ruang Bowman melebar (panah hitam), B = kelompok IV (diberi glukosa 400 mg/200 g bb dan 30 sesudahnya diberi kombinasi ekstrak dosis tinggi), degenerasi albumin (panah hitam) dan degenerasi vakuolar (panah merah), C = kelompok II (kontrol hiperglikemia, diberi glukosa 400 mg/200 g bb), ruang Bowman menyempit (panah hitam) dan D = kelompok I (kontrol sehat, tidak diberi perlakuan), glomerulus normal.

Hasil perubahan histopatologi glomerulus dianalisis menggunakan uji Kruskal-Wallis menunjukkan adanya perbedaan degenerasi albumin yang bermakna antar kelompok uji. Uji lanjut menggunakan Mann-Whitney menunjukkan bahwa perbedaan yang signifikan terjadi antara kelompok I dan II, I dan III, I dan IV, II dan III, serta III dan IV. Degenerasi albumin yang diamati mencapai nilai 49% pada kelompok III dan lebih dari 80% pada kelompok II dan IV sedangkan kelompok I yang merupakan kontrol sehat tidak mengalami degenerasi albumin sama sekali. Perubahan yang terjadi pada kelompok II dan IV tidak mengalami perbedaan yang bermakna.

Degenerasi vakuolar yang terjadi mengalami perbedaan signifikan antar kelompok perlakuan. Berdasarkan uji Mann-Whitney, hanya pasangan kelompok II dan IV yang tidak mengalami perbedaan signifikan. Meskipun secara statistik kedua kelompok ini tidak mengalami perbedaan yang signifikan namun terdapat perbedaan persentase rata-rata

glomerulus yang mengalami degenerasi vakuolar, yaitu sebesar 37,6% pada kelompok II dan 50,7% pada kelompok IV. Hasil ini menunjukkan bahwa pemberian kombinasi ekstrak dosis tinggi memberikan pengaruh terhadap peningkatan persentase glomerulus yang mengalami degenerasi vakuolar. Pemberian kombinasi ekstrak dosis rendah memberikan pengaruh terhadap persentase degenerasi vakuolar yang lebih ringan dibandingkan kontrol hiperlikemi. Persentase rata-rata glomerulus yang mengalami degenerasi albumin dan vakuolar disajikan dalam Tabel 4.

Tabel 4. Persentase rata-rata degenerasi albumin dan vakuolar. Keterangan: kelompok I: kontrol sehat, tidak diberi perlakuan; kelompok II: control hiperglikemia, diberi glukosa 400 mg/200 g bb; kelompok III: diberi glukosa 400 mg/200 g bb, 30 menit kemudian diberi kombinasi ekstrak dosis rendah; kelompok IV: diberi glukosa 400 mg/200 g bb dan 30 sesudahnya diberi kombinasi ekstrak dosis tinggi. Rata-rata dalam bentuk $\bar{x} \pm SD$, ^a : Berbeda signifikan dengan kelompok I (kontrol sehat), ^b : Berbeda signifikan dengan kelompok II (kontrol hiperglikemia).

Kelompok	Rata-rata degenerasi albumin (%)	Rata-rata degenerasi vakuolar (%)
I	0 ^b	4,30 ± 4,222 ^b
II	85,0 ± 5,037	37,60 ± 6,138 ^a
III	49,4 ± 3,070 ^{a,b}	21,00 ± 2,692 ^b
IV	86,0 ± 6,538 ^a	50,70 ± 13,567 ^a

Glomerulus yang mengalami degenerasi akan membesar sehingga ruang Bowman yang merupakan celah antara glomerulus dan kapsula Bowman yang menyelubunginya menyempit. Penyempitan ruang Bowman mengalami perbedaan yang signifikan antarkelompok perlakuan. Perbedaan yang signifikan terjadi pada kelompok I dan III. Penyempitan ruang Bowman antara kelompok kontrol (I dan II) dengan kelompok IV secara statistik tidak mengalami perbedaan yang signifikan tetapi persentase perubahan yang terjadi pada ketiga kelompok tersebut menunjukkan adanya perbedaan dimana pemberian kombinasi ekstrak memberikan persentase pelebaran ruang Bowman lebih besar dibandingkan dengan kelompok kontrol.

Glomerulus dapat mengalami kerusakan akibat paparan suatu zat toksik atau jejas yang lebih parah dari degenerasi, yaitu terjadinya atrofi glomerulus dimana ukuran glomerulus mengecil dan mengakibatkan ruang Bowman tampak melebar (Markowitz *et al.*, 2000). Pelebaran ruang Bowman mengalami perbedaan yang signifikan antarkelompok perlakuan. Perbedaan yang signifikan terjadi pada pasangan kelompok II dan III. Kelompok yang mendapat kombinasi ekstrak menunjukkan persentase pelebaran ruang Bowman yang lebih rendah jika dibandingkan dengan kelompok kontrol hiperglikemia. Persentase perubahan ruang Bowman disajikan pada Tabel 5.

Kelompok yang mendapat paparan glukosa memberikan gambaran ginjal lebih pucat dari kelompok I yang diduga karena kurangnya perdarahan pada ginjal sebagai akibat dari kondisi hiperglikemia. Kondisi ini tidak sesuai dengan hasil studi Marzel (2021) yang menyatakan

bahwa tidak ada disfungsi seluler pada paparan glukosa secara akut, akan tetapi studi lain yang dilakukan oleh Djaya *et al.*, (2011) menunjukkan bahwa kondisi hiperglikemia dapat mengakibatkan terjadinya perubahan vaskularisasi pada ginjal dimana terjadi vasokonstriksi intrarenal yang mengakibatkan penurunan suplai darah ke ginjal.

Tabel 5. Persentase perubahan ruang Bowman. Keterangan: kelompok I: kontrol sehat, tidak diberi perlakuan; kelompok II: control hiperglikemia, diberi glukosa 400 mg/200 g bb; kelompok III: diberi glukosa 400 mg/200 g bb, 30 menit kemudian diberi kombinasi ekstrak dosis rendah; kelompok IV: diberi glukosa 400 mg/200 g bb dan 30 sesudahnya diberi kombinasi ekstrak dosis tinggi. Rata-rata dalam bentuk $\bar{x} \pm SD$, ^a : $p < 0,05$, berbeda signifikan dengan kelompok I (kontrol sehat), ^b : $p < 0,05$, berbeda signifikan dengan kelompok II (kontrol hiperglikemia)

Kelompok	Rata-rata pelebaran ruang Bowman (%)	Rata-rata penyempitan ruang Bowman (%)
I	4,50 ± 3,674	6,50 ± 1,968
II	15,60 ± 5,716	8,67 ± 7,522
III	5,60 ± 1,782 ^b	13,80 ± 2,864 ^a
IV	11,50 ± 4,569	14,30 ± 6,311

Studi yang dilakukan oleh Wang *et al.*, (2015) menunjukkan bahwa kondisi hiperglikemia akut turut berperan dalam terjadinya kerusakan ginjal. Kerusakan yang terjadi secara histopatologi hanya teramati pada bagian tubulus proksimal ginjal sedangkan glomerulus hanya mengalami perubahan permeabilitas tanpa diikuti perubahan histopatologi. Penelitian yang dilakukan menunjukkan hasil yang berbeda dengan literatur tersebut, yaitu terjadi perubahan histopatologi glomerulus pada kelompok kontrol hiperglikemia.

Hiperglikemia dapat mengganggu kerja metabolik dan vaskular insulin yang kemudian dapat menurunkan suplai darah ke ginjal melalui vasokonstriksi pembuluh-pembuluh darah ginjal. Menurunnya suplai darah ke ginjal mengakibatkan suplai oksigen bagi sel-sel glomerulus berkurang. Oksigen dibutuhkan oleh sel untuk proses metabolisme menghasilkan ATP yang selanjutnya berperan untuk menggerakkan pompa Na/K. Pompa ini berperan dalam pengaturan keseimbangan cairan dalam sel (Pramudya *et al.*, 2020). Penurunan suplai darah ke ginjal pada akhirnya dapat mengakibatkan gangguan keseimbangan cairan dalam sel sehingga terjadi degenerasi sel.

Hiperglikemia secara spesifik mempengaruhi permeabilitas glomerulus sehingga protein dengan ukuran molekul besar seperti albumin dapat melewati membran glomerulus. Perubahan histopatologi glomerulus pada kondisi hiperglikemia akut berkaitan dengan peningkatan *reactive oxidative species* (ROS) dan penurunan produksi *nitric oxide* (NO) yang mengakibatkan terjadinya hiperpermeabilitas albumin disebabkan terjadinya peningkatan flux albumin transglomerulus. Mekanisme lain perubahan histopatologi glomerulus terjadi karena pada kondisi hiperglikemia akut terjadi peningkatan sitokin-sitokin pro-inflamasi seperti

prostaglandin dan prostasiklin (Sward & Rippe, 2012). Albumin yang lolos dari tahap filtrasi glomerulus ini seharusnya direabsorpsi oleh tubulus proksimal. Akan tetapi, kondisi hiperglikemia juga mengakibatkan kerusakan seluler pada tubulus proksimal sehingga tidak bisa berfungsi dengan baik. Akibat dari kondisi ini adalah terjadinya *overload* protein albumin dalam ginjal. Pada akhirnya, protein ini diekskresikan dalam urin dan menimbulkan suatu kondisi albuminuria yang merupakan salah satu penanda kerusakan ginjal (Wang *et al.*, 2015).

Ekstrak tunggal dari keempat tanaman yang digunakan tidak menunjukkan terjadinya perubahan histopatologi glomerulus (Adeoye *et al.*, 2018) akan tetapi pemberian kombinasi ekstrak menunjukkan adanya perubahan histopatologi glomerulus. Pengaruh ini dapat muncul karena adanya akumulasi senyawa dari masing-masing ekstrak yang memiliki potensi nefrotoksik. Selain sebagai akibat dari akumulasi, perubahan yang muncul dapat juga diakibatkan oleh adanya interaksi antara satu senyawa dengan senyawa lain dari keempat ekstrak tersebut.

Andrografolid yang merupakan senyawa aktif dari sambiloto diketahui bersifat sebagai induser enzim pemetabolisme, yaitu CYP-1A2 (Syamsul *et al.*, 2011). Enzim ini merupakan salah satu subkelas dari CYP yang merupakan enzim pemetabolisme utama di hati. Induksi enzim ini mengakibatkan jumlah CYP meningkat dan metabolisme senyawa-senyawa yang merupakan substrat dari enzim ini menjadi lebih cepat. Metabolisme borapetosid menjadi senyawa toksik yang menginduksi apoptosis oleh CYP meningkat dengan adanya andrografolid dan menyebabkan terjadinya peningkatan konsentrasi senyawa toksik tersebut di dalam tubuh (Klangjareonchai *et al.*, 2015). Andrografolid terbukti dapat memperbaiki kondisi diabetes nefropati melalui penurunan hiperglikemia yang dimediasi oleh stress oksidatif ginjal dan inflamasi via jalur Akt/NF- κ B (Ji *et al.*, 2016).

Borapetosid, phyllanthin, hypophyllanthin, dan senyawa-senyawa dalam kayu manis merupakan substrat dari enzim mikrosomal hati, yaitu CYP (Klangjareonchai *et al.*, 2015). Phyllantin yang terdapat dalam meniran (*Phyllanthus niruri*) terbukti dapat memperbaiki fungsi ginjal, memperbaiki stress oksidatif ginjal, inflamasi, fibrosis dan apoptosis, dan meningkatkan proliferasi sel di dalam tikus jantan dewasa model diabetes melitus (Giribabu *et al.*, 2017). Berdasarkan hasil penelitian di atas, perlu dilakukan pengkajian lebih mendalam terkait mekanisme kerja keempat kombinasi tanaman tersebut apabila digunakan untuk terapi diabetes melitus, salah satunya melalui penggunaan hewan coba yang diinduksi streptozotocin (Suwanto & Rahmawati, 2019).

4. Kesimpulan

Kombinasi ekstrak etanol brotowali, sambiloto, meniran, dan kayu manis memberikan pengaruh terhadap perubahan histopatologi glomerulus tikus hiperglikemia. Pemberian kombinasi ekstrak dosis rendah memberikan pengaruh terhadap kerusakan glomerulus yang lebih ringan dibandingkan pemberian kombinasi ekstrak dosis tinggi.

Ucapan Terimakasih

Terima kasih diucapkan kepada Lembaga Penelitian dan Pengabdian Masyarakat (LPPM) Universitas Jenderal Soedirman (Unsoed) yang telah memberikan dana untuk terlaksananya penelitian ini melalui skema hibah bersaing tahun 2015.

Deklarasi Konflik Kepentingan

Semua penulis menyatakan tidak ada konflik kepentingan terhadap naskah ini.

Daftar Pustaka

- Adeoye, B. O., Asenuga, E. R., Oyagbemi, A. A., Omobowale, T. O., dan Adedapo, A. A. (2018). The Protective Effect of the Ethanol Leaf Extract of *Andrographis paniculata* on Cisplatin-Induced Acute Kidney Injury in Rats Through nrf2/KIM-1 Signalling Pathway. *Drug Research*, 68(1), 23–32. <https://doi.org/10.1055/s-0043-118179>
- Ahmad, M., Lim, C.P., Akowuah G.A., Ismail, N.N., Hashim, M.A., Hor, S.Y., Ang, L.F., dan Yam, M. F. (2013). Safety Assessment of Standarised Methanol Extract of *Cinnamomum burmannii*. *Phytomedicine*, 20, 1124–1130.
- Anna, I. L., dan Firdus, F. (2017). Efek pemberian ekstrak etanol kayu manis (*Cinnamomum burmannii* Ness Ex BI.) terhadap kadar ureum dan kreatinin tikus (*Rattus norvegicus*). *Bioleuser*, 1(2), 70–75.
- Ayu, R. D., Fatimawali, dan Citraningtyas, G. (2014). Uji Efektivitas Penurunan Kadar Gula Darah Ekstrak Etanol Daun Sendok (*Plantago major* L.) Pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar (*Rattus norvegicus*) Yang Diinduksi Sukrosa. *Pharmacon*, 3(2), 134–140.
- Canales, B.K., Reyes, L., Reinhard, M.K., Khan, S.R., Goncalves, C.G., dan Meguid, M. . (2012). Renal Glomerular and Tubular Injury After Gastric Bypass in Obese Rats. *Nutrition*, 28(1), 76–80.
- Cheng, D.M., Peter, K., Alexander, P., Leonel, E.R., Marry, A.L., dan Ilya, R. (2012). In Vivo and In Vitro Antidiabetic Effects of Aqueous Cinnamon Extract and Cinnamon Polyphenol-Enhanced Food Matrix. *Food Chemistry*, 135(4), 2994–3002.
- Damayanti, F. (2014). Efek Pemberian Ekstrak Etanol Kayu Manis (*Cinnamomum burmannii*) Terhadap Diameter Glomerulus Ginjal Pada Tikus Wistar Jantan Hiperglikemi Hasil Induksi Aloksan. *Skripsi*. Universitas Jember.
- Djaya, N., Hidayat, J., Sidharta, V. M., Natalia Puspawati, A. M., dan Dara, M. (2011). Pengaruh ekstrak kayu manis terhadap kadar glukosa darah tikus. *Journal of Medicine*, 10(3), 121–124.
- Farida, Y., dan Claudia Putri. (2016). Efek Penggunaan Simvastatin Terhadap Kenaikan Gula Darah Puasa Pasien Diabetes Melitus Tipe 2. *Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research*, 01(01), 58–65. <https://doi.org/10.20961/jpscr.v1i1.696>
- Giribabu, N., Karim, K., Kilari, E. K., dan Salleh, N. (2017). *Phyllanthus Niruri* Leaves Aqueous Extract Improves Kidney Functions, Ameliorates Kidney Oxidative Stress, Inflammation, Fibrosis And Apoptosis And Enhances Kidney Cell Proliferation In Adult Male Rats With Diabetes Mellitus. *Journal of Ethnopharmacology*, 205, 123–137. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2017.05.002>

- Jadid, N., Purwani, K. I., Nurhidayati, T., Navastara, A. M., Ermavitalini, D., dan Muslihatin, W. (2020). Pengembangan Kebun Bibit Herbal Organik Sebagai Unit Pendukung Konsep Agrowidyawisata di Desa Oro-Oro Ombo, Kota Batu, Malang. *JURPIKAT (Jurnal Pengabdian Kepada Masyarakat)*, 1(2), 178-189.
- Ji, X., Li, C., Ou, Y., Li, N., Yuan, K., Yang, G., Chen, X., Yang, Z., Liu, B., Cheung, W. W., Wang, L., Huang, R., dan Lan, T. (2016). Andrographolide Ameliorates Diabetic Nephropathy By Attenuating Hyperglycemia-Mediated Renal Oxidative Stress And Inflammation Via Akt/NF- κ B pathway. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 437, 268–279. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2016.06.029>
- Kemendes, RI. (2021). Riset kesehatan dasar. Available from: <https://www.kemkes.go.id/article/view/414/tahun-2030-prevalensi-diabetes-melitus-di-indonesia-mencapai-213-juta-orang.html> [Accessed 2th April 2021].
- Klangjareonchai, T., Putadechakum, S., dan Roongpisuthipong, C. (2015). Review of Antihyperglycemic Effect of *Tinospora crispera*. *Walailak Journal of Science and Technology*, 12(5), 403–406.
- Lam, S.H., Ruan, C.T., Hsieh, P.H., Su, M.J., dan Lee, S. . (2012). Hypoglycemic Diterpenoids from *Tinospora crispera*. *Journal of Natural Products*, 75, 153–159.
- Li, Y.M., Yan, H., Zhang, Z., Zhang, G., Sun, Y., Yu, P., Wang, Y., dan Xu, L. (2015). Andrographolide Derivative AL-1 Improve Insulin Resistance Through Down-Regulation of NF- κ B Signaling Pathway. *British Journal of Pharmacology*, 25, 1–8.
- Manaharan, T., Uma, D.P dan Cheng, H. M. (2012). Tropical Plant Extracts as Potential Antihyperglycemic Agents. *Molecules*, 17, 5915–5923.
- Markowitz, G. S., Kambham, N., Maruyama, S., Appel, G. B., Cohen, D. J., Kim, R. C., Andres, G. A., dan D'Agati, V. D. (2000). Membranous Glomerulopathy With Bowman's Capsular And Tubular Basement Membrane Deposits. *Clinical Nephrology*, 54(6), 478–486.
- Marzel, R. (2021). Terapi Pada DM Tipe 1. *Jurnal Penelitian Perawat Profesional*, 3(1), 51–62.
- Mila, H. (2016). Efek Ekstrak Kayu Manis (*Cinnamomum cassia*) Terhadap Indeks Apoptosis Sel Jantung Pada Tikus Jantan Diabetes Melitus: Studi Awal. *Skripsi*. Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah.
- Muqsita, V., Sakinah, E. N., dan Santosa, A. (2015). Efek Ekstrak Etanol Kayu Manis (*Cinnamomum burmannii*) terhadap Kadar MDA Ginjal pada Tikus Wistar Hiperglikemi. *Jurnal Pustaka Kesehatan*, 3(2), 235–238.
- Nugroho, A., Rahardianingtyas, E., Putro, D.B.W., dan R. W. (2016). Pengaruh Ekstrak Daun Sambaloto (*Andrographis paniculata* Ness.) terhadap Daya Bunuh Bakteri *Leptospira* sp. *Media Litbangkes*, 26(2), 77–84. <https://doi.org/10.22435/mpk.v26i2.5444.77-84>
- Okoli, C.O., Obidike, I.C., Ezike, A.C., Akah, P.A., dan Salawu, O. (2011). Studies on the Possible Mechanisms of Antidiabetic Activity of Extract of Aerial Parts of *Phyllanthus niruri*. *Pharmaceutical Biology*, 49(3), 248–255.
- Oktavidiati, E.M.A., Chozin, N. Wijayanto, M. Ghulamahdi, dan L. K. D. (2011). Pertumbuhan Tanaman Dan Kandungan Total Filantin Dan Hipofilantin. *Jurnal Littri*, 17(1), 25–31.
- Prahanarendra, G. (2015). Studi Awal Histoteknik: Gambaran Histologi Organ Ginjal, Hepar, dan Pankreas Tikus Sprague dawley dengan Pewarnaan HE dengan Fiksasi 3 Minggu. *Skripsi*. Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah.
- Pramudya, M., Zuraidassanaaz, N. I., Ilma, N., Savira, I., Sakinatussajidah, E., dan Putri, I. P. (2020). Crude Methanol Extract Of Brotowali Leaves (*Tinospora crispera*) As Biolarvacide Against Dengue Vector Aedes Aegypti. *Ecology, Environment and Conservation*, 26, 36–40.
- Purnamasari, A.B. (2021). Effect of Brotowali Extract Fortification of Papaya Leaves And Sugar Cane Caries on Diabetes Mellitus Type II Effect of Brotowali Extract Fortification

- of Papaya Leaves And Sugar Cane Caries on Diabetes Mellitus Type II. *Journal of Physics: Conference Series*, 1752, 012151. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1752/1/012051>
- Sari, N., dan Purnama, K. A. (2019). Aktivitas Fisik dan Hubungannya dengan Kejadian Diabetes Melitus. *Window of Health : Jurnal Kesehatan*, 2(4), 368–381.
- Sharma, R., Amin, H., Galib, dan Prajapati, P. (2015). Antidiabetic Claims of *Tinospora cordifolia* (Willd.) Miers: Critical Appraisal and Role in Therapy. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 5(1), 63–73.
- Suwanto, S., dan Rahmawati, R. (2019). Aktivitas Hipoglikemik Diet Pakan Ekstrak Biji Labu Kuning (*Cucurbita moschata* Duch) Pada Mencit Diabetes Melitus Terpapar *Streptozotocin*. *JPSCR : Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research*, 4(1), 39. <https://doi.org/10.20961/jpscr.v4i1.27292>
- Sward, P. dan Rippe, B. (2012). Acute and Sustained Actions of Hyperglycemia on Endothelial and Glomerular Barrier Permeability. *Acta Physiologica*, 204, 294–307.
- Syamsul, E.S., Nugroho, A.E., dan Pramono, S. (2011). Aktivitas Antidiabetes Kombinasi Ekstrak Terpurifikasi Herba Sambiloto (*Andrographis paniculata* (Burn.F.) Ness.) dan Metformin pada Tikus DM Tipe 2 Resisten Insulin. *Majalah Obat Tradisional*, 16(3), 124–131.
- Syukri, Y., Nugroho, A. E., dan Ronny, M. E. L. (2015). Validasi Penetapan Kadar Isolat Andrografolid dari Tanaman Sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) Menggunakan HPLC. *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*, 2(1), 8–14.
- Tambunan, R. M., Swandiny, G. F., dan Zaidan, S. (2019). Uji Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Etanol 70 % Herba Meniran (*Phyllanthus niruri* L.) Terstandar. *Jurnal Ilmu Kefarmasian*, 12(2), 60–64.
- Wang, Y.J., Yang, J.H., Xu, J., Jia, J.Y., Zhang, X.R., Yue, X.D., Chen, L.M., Shan, C.Y., Zheng, M.Y., Han, F., Zhang, Y., Yang, X.Y., dan Chang, B. (2015). Renal Tubular Damage May Contribute More to Acute Hyperglycemia Induced Kidney Injury in Non-Diabetic Conscious Rats. *Journal of Diabetes and It's Complications*, 1–8.
- Warsinah, W., Baroroh, H. N., dan Harwoko, H. (2020). Phytochemical Analysis And Antioxidant Activity Of Brotowali (*Tinospora crispa* L. Mier) Stem. *Molekul*, 15(2), 73–78.
- Yanti, S. (2020). Penyuluhan Penanaman Tanaman Obat Keluarga Di Desa Labuhan Labo. *Jurnal Education And Development*, 8(1), 428-428.

