

EKSTRAK DAUN KELOR (*Moringa oleifera* Lam.) SEBAGAI PELURUH KALSIUM BATU GINJAL SECARA IN VITRO

Yance Anas¹⁾, Ali Imron²⁾, Sekar Indah Ningtyas²⁾

¹⁾ Departemen Farmakologi dan Farmasi Klinik, Fakultas Farmasi Universitas Wahid Hasyim

²⁾ Program S1 Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Wahid Hasyim

INTISARI

Senyawa flavonoid dalam daun kelor diduga mampu meningkatkan kelarutan kalsium batu ginjal. Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan kemampuan ekstrak metanol (EMDK) dan ekstrak etanol daun kelor (EEDK) dalam meningkatkan kelarutan kalsium batu ginjal secara *in vitro*. Daun kelor diekstrak dengan cara maserasi menggunakan cairan penyari metanol dan etanol 70%. Kandungan senyawa aktif golongan flavonoid diidentifikasi secara kualitatif dengan KLT. Serbuk batu ginjal direndam dalam seri konsentrasi EMDK dan EEDK (2%, 4%, 6%, 8%, dan 10%) dan diinkubasi selama 6 jam pada suhu 37 °C. Kadar kalsium terlarut dianalisis dengan SSA pada panjang gelombang 422,7 nm. Hasil penelitian membuktikan bahwa EMDK (2-10)% dan EEDK (4-10)% mampu meningkatkan kelarutan kalsium batu ginjal secara *in vitro* ($p \leq 0,05$). Kelarutan kalsium batu ginjal dalam EMDK dan EEDK mengikuti pola tergantung konsentrasi. Kadar kalsium batu ginjal terlarut dalam EMDK dan EEDK berturut-turut berkisar antara (86,27-185,87) ppm dan (95,31-177,29) ppm. Hasil analisis dengan KLT membuktikan bahwa senyawa aktif golongan flavonoid berhasil teridentifikasi dalam EMDK dan EEDK.

Kata Kunci: Batu ginjal kalsium, daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.), flavonoid, maserasi

ABSTRACT

Flavonoids in kelor leaves (Moringa oleifera Lam.) suspected had an important role on dissolving calcium kidney stones. The purpose of this research is to reveal the effect of kelor leave's methanol extract (KLME) and ethanol extract (KLEE) on the in vitro solubility of calcium kidney stones. The kelor leave's simplisia extracted with maceration method. Methanol and ethanol 70% were used as solvent. An active flavonoid compound in KLME and KLEE has identified with TLC method. Kidney stone's powder soaked in KLME and KLEE series concentration (2%, 4%, 6%, 8% and 10%) and incubated for six hours at 37 °C. The dissolved calcium levels from kidney stones in KLME and KLEE were analyzed with AAS at a wavelength of 422.7 nm. The result showed that the KLME (2-10) % and KLEE (4-10%) can enhance the dissolved calcium levels from kidney stones in vitro ($p < 0.05$). The dissolved kidney stone's calcium in KLME and KLEE deppend on it's concentration. The levels of dissolved calcium from kidney stones in KLME dan KLEE series concentration were (86.27-185.87) ppm and (95.31-177.29) ppm repectively. The result of TLC analysis showed that the flavonoid found in KLME dan KLEE.

Keywords: Calcium kidney stones, flavonoid, maceration, moringa leaves (*Moringa oleifera* Lam.)

PENDAHULUAN

Batu ginjal adalah benda padat yang dibentuk oleh presipitasi berbagai zat terlarut pada ginjal dan saluran kemih (Grace dan Borley, 2006). Insiden batu ginjal lebih banyak menyerang individu antara kelompok usia 30-60 tahun dan lebih banyak didominasi oleh laki-laki. Insiden batu ginjal dan prevalensinya hampir mengalami kenaikan di setiap tahunnya pada

beberapa negara (Romero *et al.*, 2010). Insiden batu ginjal di Indonesia dialami oleh sekitar 530 orang penderita per tahun (Effendi dan Markum, 2010).

Kualitas hidup penderita batu ginjal umumnya sangat rendah. Hal ini dikarenakan beberapa gejala yang sering muncul akibat dari penyakit batu ginjal, seperti mual dan muntah serta rasa nyeri pada daerah pinggul pada saat buang air

kecil (Purnomo, 2007). Tatalaksana terapi pengobatan batu ginjal yang paling banyak digunakan yaitu dengan terapi *Extracorporeal Shockwave Lithotripsy* (ESWL). ESWL adalah suatu prosedur terapi dengan jalan menghancurkan batu ginjal dalam ureter menjadi fragmen-fragmen kecil dengan menggunakan gelombang kejut. Penyembuhan penyakit batu ginjal menjadi lebih lama karena pasien tidak patuh terhadap pengobatan yang disebabkan oleh mahalnnya biaya yang harus dikeluarkan. Selain biaya yang mahal, ESWL dikontraindikasikan terhadap penderita yang mengalami infeksi di saluran kemih dan gangguan pendarahan. ESWL juga memiliki efek samping yang sering muncul setelah terapi, seperti hematuria, pendarahan, dan hipertensi (Nakada and Pearle, 2013).

Melihat beberapa kekurangan dan permasalahan yang ada, masyarakat mulai beralih pada pengobatan alternatif, yaitu dengan pengobatan tradisional menggunakan tanaman herbal. Biaya yang dikeluarkan pada pengobatan alternatif relatif lebih ekonomis. Pengobatan yang lebih ekonomis diharapkan dapat meningkatkan kepatuhan pasien terhadap pengobatan sehingga angka kesembuhan pasien juga semakin tinggi.

Kelor (*Moringa oleifera* L.) adalah sejenis tumbuhan dari suku *Moringaceae*. Tumbuhan ini diduga mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, fenol, dan saponin (Arora *et al.*, 2013). Berdasarkan pengalaman empiris, masyarakat telah menggunakan kelor sebagai pengobatan herbal peluruh batu ginjal (Arisandi dan Andriani, 2000). Penelitian terdahulu menyimpulkan bahwa ekstrak air dan alkohol kulit akar kelor mampu mengurangi pembentukan batu ginjal secara *in vivo*. Pemberian ekstrak air dan alkohol kulit akar kelor pada tikus yang diinduksi dengan etilen glikol mampu mengurangi pembentukan batu ginjal pada tikus (Karadi *et al.*, 2006). Pemanfaatan kulit akar dalam pengobatan batu ginjal menjadi kurang efektif dan efisien karena ketersediaannya terbatas. Berbeda dengan daun yang ketersediaannya cukup banyak dan penggunaannya sebagai bahan baku tidak mengganggu ekosistem lingkungan. Oleh karena itu, penelitian ini mencoba

mengembangkan daun kelor sebagai peluruh batu ginjal. Senyawa aktif golongan flavonoid yang terdapat dalam daun kelor yang diduga berperan penting dalam efek peluruhan batu ginjal, seperti yang terdapat dalam kulit akar. Dalam penelitian ini, daun kelor dibuat dalam bentuk ekstrak dengan menggunakan metanol dan etanol 70% sebagai cairan penyari sehingga senyawa flavonoid akan tersari kedalamnya. Penelitian ini merupakan pengujian ekstrak metanol daun kelor (EMDK) dan ekstrak etanol daun kelor (EEDK) sebagai peluruh batu ginjal secara *in vitro*. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan bukti ilmiah mengenai ekstrak daun kelor sebagai peluruh kalsium batu ginjal.

METODE PENELITIAN

Bahan Penelitian

Bahan tanaman yang digunakan pada penelitian ini adalah daun kelor yang dipanen dari Desa Gemiring Kidul, Kecamatan Nalumsari, Kabupaten Jepara, Jawa Tengah, pada tanggal 25 Mei 2014. Bahan-bahan yang digunakan untuk proses ekstraksi dan uji kelarutan kalsium batu ginjal adalah metanol dan etanol 70% (PT. Brataco Chemika Tbk.), aqua demineral, *tween* 80, batu ginjal (diperoleh dari tiga orang pasien setelah menjalani operasi pengangkatan batu ginjal di Rumah Sakit Kardinah, RSI Harapan Anda Tegal dan RSUD Sultan Agung Semarang, Jawa Tengah), standar kalsium (E.merck), asam sulfat (p.a) (E.merck) dan asam nitrat (p.a) (E.merck). Bahan kimia dan pereaksi yang digunakan untuk uji flavonoid dengan metode KLT adalah silika gel 60 F₂₅₄ (E.merck), butanol p.a (E.merck), asam asetat p.a (E.merck), air, aluminium klorida p.a (E.merck) dan rutin (Sigma-Aldrich).

Alat Penelitian

Alat-alat yang untuk maserasi daun kelor adalah timbangan kilogram (Five goats), botol gelap, timbangan elektrik (Ohaus), blender (Maspion), *vaccum rotary evaporator* (Heidolph), oven (Sense) dan corong *buchner*. Alat yang digunakan untuk uji kelarutan batu ginjal adalah mortir, ayakan 40 Mesh, alat-alat gelas, spektrofotometer serapan atom (Perkin Elmer), spektrofotometer infra merah (Perkin Elmer) dan *shecking water bath*.

Alat untuk analisis kandungan senyawa aktif golongan flavonoid adalah bejana KLT (Camag), kertas penjenh, pipa kapiler, lampu UV₂₅₄ dan UV₃₆₆ (Camag).

Pembuatan Ekstrak metanol (EMDK) dan ekstrak etanol daun kelor (EEDK)

Daun kelor sebanyak 1,27 kg dicuci dengan air mengalir dan selanjutnya dilakukan sortasi basah untuk memisahkan daun kelor yang masih segar. Daun kelor kemudian ditiriskan dan disimpan dalam wadah tertutup. Daun kelor dikeringkan di dalam oven pada suhu 50⁰C sampai kering dan kemudian diukur kadar airnya dengan alat *moisture balance*. Simplisia daun kelor kering diblender dan diayak menggunakan ayakan no 40 Mesh. Serbuk yang diperoleh selanjutnya digunakan untuk pembuatan EMDK dan EEDK.

Proses maserasi simplisia daun kelor dilakukan dengan merendam 300 gram serbuk daun kelor dengan 2.250 mL methanol untuk EMDK dan 2.250 mL etanol 70% untuk EEDK dalam bejana maserasi. Bejana maserasi ditutup dan dibiarkan selama tiga hari serta diletakkan pada tempat yang terlindung dari sinar matahari langsung. Selama proses perendaman, rendaman diaduk beberapa kali dengan tujuan untuk meningkatkan efektifitas proses difusi senyawa terlarut ke dalam cairan penyari. Campuran simplisia dan cairan penyari disaring dan diperas hingga diperoleh hasil maserat pertama. Ampas yang sudah diperas direndam kembali dengan metanol dan etanol (masing-masing sebanyak 750 mL) selama tiga hari hingga diperoleh maserat kedua. Maserat kedua kemudian digabungkan dengan maserat pertama. Maserat yang diperoleh didiamkan selama semalam dan diendapkan. Maserat dipekatan dengan menggunakan *rotarry evaporator* pada suhu 50⁰C sehingga diperoleh ekstrak kental daun kelor (EMDK dan EEDK).

Pembuatan serbuk batu ginjal

Batu ginjal sebanyak 3,7 gram ditimbang secara seksama kemudian digerus menggunakan mortir menjadi partikel yang kecil. Serbuk batu ginjal yang digunakan pada penelitian ini adalah 1.800 mg untuk 36 sampel. Berat serbuk batu ginjal yang

digunakan untuk masing-masing sampel adalah seberat 50 mg.

Analisis kualitatif batu ginjal dengan spektrofotometer infra merah

Batu ginjal sebanyak 50,0 gram serbuk digerus menggunakan mortir sampai halus kemudian dianalisis langsung menggunakan spektrofotometer infra merah. Spektrogram yang diperoleh dibandingkan dengan spektrogram dari standar "*Analyse des Calculus par Spectrophotometrie Infaraouge Advantage et Limites de in Methode*" (Daudon and Reveilaud, 1987).

Pembuatan kurva baku seri konsentrasi larutan standar kalsium

Sebanyak 1,0 mL larutan standar kalsium konsentrasi 1.000 ppm dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL dan ditambahkan dengan aquademineral sampai batas. Larutan standar kalsium dibuat dalam seri konsentrasi (1,0; 2,0; 3,0; 4,0 dan 5,0) ppm. Setiap konsentrasi diukur absorbansinya dengan spektrofotometri serapan atom pada panjang gelombang 422,7 nm untuk menghasilkan persamaan regresi ($Y=Bx+A$) yang menggambarkan hubungan antara konsentrasi kalsium terlarut (*ppm*) dengan absorbansi.

Analisis kuantitatif kadar kalsium batu ginjal terlarut dalam EMDK dan EEDK menggunakan spektrofotometer serapan atom (SSA).

EMDK dan EEDK dibuat dalam bentuk seri konsentrasi (2, 4, 6, 8 dan 10)%. Masing-masing sampel EMDK dan EEDK sebanyak (1; 2; 3; 4; 5) gram dilarutkan terlebih dahulu dengan *tween* 80. Selanjutnya, sebanyak 50 mL aquademineral ditambahkan sedikit demi sedikit pada masing-masing sampel. Serbuk batu ginjal sebanyak 50,0 mg ditimbang secara seksama dan dimasukkan ke dalam vial yang berisi seri konsentrasi EMDK dan EEDK. Rendaman serbuk batu ginjal diinkubasi dalam *shaking water bath* selama 6 jam pada suhu 37⁰C dengan penggojokan setiap 15 menit sekali. Rendaman batu ginjal kemudian disaring menggunakan kertas saring. Hal yang sama dilakukan pada blangko (aquademineral + *tween* 80). Rendaman serbuk batu ginjal dalam EMDK dan EEDK didestruksi menggunakan H₂SO₄ pekat : HNO₃ (v/v 2:1).

Kadar kalsium batu ginjal terlarut pada seri konsentrasi EMDK, EEDK dan blanko (replikasi sebanyak tiga kali) diukur dengan menggunakan SSA pada panjang gelombang 422,7 nm (Gandjar dan Rohman, 2008).

Identifikasi senyawa aktif golongan flavonoid dengan KLT

Fase diam yang digunakan adalah silika gel 60 F₂₅₄ dengan fase gerak campuran butanol : asam asetat : air (3-1-1) (11). Rutin digunakan sebagai senyawa pembanding. Sampel EMDK dan EEDK diencerkan menggunakan pelarut aquademineral dengan konsentrasi akhir 2mg/mL. Sebanyak 10 mg sampel EMDK dan EEDK dimasukkan ke dalam labu takar 5,0 mL, kemudian ditambahkan dan dicukupkan volumenya dengan pelarut sampai batas. Penotolan sampel dilakukan sebanyak tiga kali pada plat KLT menggunakan pipa kapiler. Setiap kali penotolan dikeringkan terlebih dahulu. Bejana terlebih dahulu dijenuhkan sebelum plat KLT dimasukkan ke dalam bejana kromatografi. Sampel dan rutin dielusi dengan fase gerak sampai batas elusi (8,5 cm). Bercak diamati di bawah sinar UV λ_{254} , UV λ_{366} dan dideteksi dengan menggunakan pereaksi semprot AlCl₃ yang selanjutnya dilihat secara visibel. Sampel EMDK dan EEDK dinyatakan mengandung senyawa aktif golongan flavonoid apabila timbul bercak warna kuning pada plat KLT setelah direaksikan dengan AlCl₃. Nilai R_f sampel EMDK dan EEDK dibandingkan dengan standar rutin.

Analisis Data

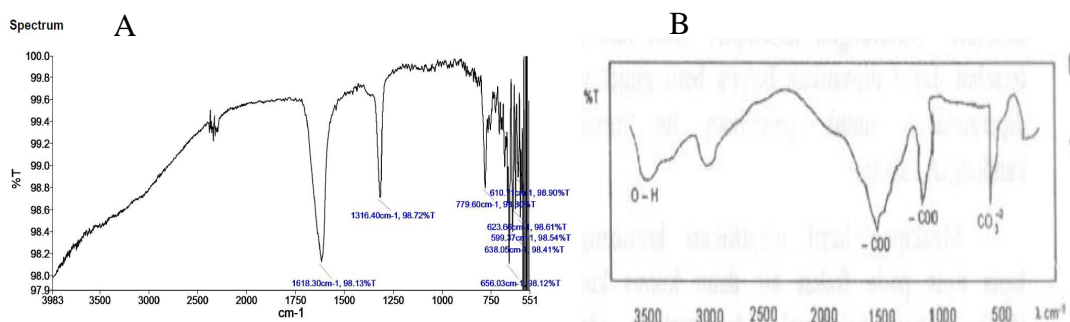
Persamaan kurva baku untuk perhitungan kadar kalsium terlarut dibuat

dengan cara menghubungkan konsentrasi larutan standar kalsium (sumbu X) dengan absorbansi (sumbu Y). Persamaan ini ($Y = BX + A$) digunakan untuk mengkonversi serapan yang terbaca pada alat SSA menjadi kadar kalsium terlarut (ppm). Data kadar kalsium terlarut (ppm) dari perendaman batu ginjal dalam seri konsentrasi EMDK dan EEDK dibandingkan dengan blanko. Uji statistik yang digunakan untuk membedakan kadar kalsium terlarut dalam seri konsentrasi EMDK dan EEDK adalah Anova satu jalan yang dilanjutkan dengan uji *Tukey* pada taraf kepercayaan 95 %. Nilai signifikansi $< 0,05$ ($p < 0,05$) menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Analisis Kualitatif Batu Ginjal dengan Spektrofotometer Infra Merah

Analisis batu ginjal yang digunakan dalam penelitian ini dilakukan dengan spektrofotometer infra merah. Hal ini bertujuan untuk memastikan jenis batu ginjal yang digunakan adalah jenis batu ginjal kalsium oksalat. Hasil analisis yang diperoleh berupa spektrogram dengan puncak-puncak dan lembah yang menunjukkan gugus-gugus fungsional penyusun batu ginjal. Hasil identifikasi kandungan batu ginjal tersebut tersaji pada gambar 1. Spektrogram yang dihasilkan kemudian dibandingkan dengan spektrogram standar batu ginjal yang terdapat dalam *Analyse des Calculs par Spectrophotometrie Infrarouge avantages et Limites de la Methode*



Gambar 1. A. Spektrogram batu ginjal. B. Standar spektrogram infra merah batu ginjal yang terdapat dalam “*Analyse des Calculs par Spectrophotometrie Infrarouge avantages et Limites de la Methode*”

Spektrogram batu ginjal yang didapatkan terdiri dari 51 *peak*. Dua *peak* diantaranya mengindikasikan adanya kandungan kalsium oksalat, yaitu *peak* dengan bilangan gelombang 1.618,30 cm^{-1} dan *peak* pada bilangan gelombang 1.316,40 cm^{-1} . Interpretasi bilangan gelombang yang

menunjukkan kalsium pada batu ginjal dapat dilihat pada Tabel I. Setelah dibandingkan dengan spektrogram standar batu ginjal, penelitian ini menyimpulkan bahwa batu ginjal yang digunakan untuk uji kelarutan kalsium batu ginjal dalam EMDK dan EEDK adalah batu ginjal kalsium oksalat.

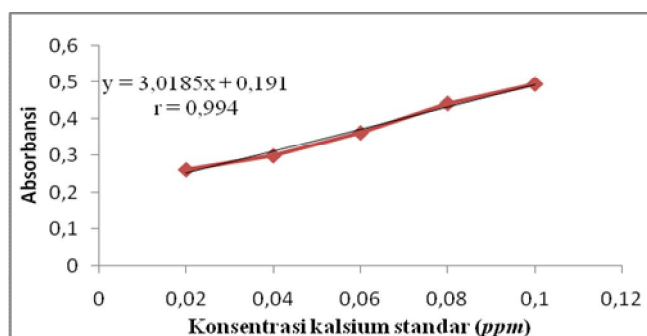
Tabel I. Interpretasi Spektrum Batu Ginjal yang terdapat dalam “Analyse des Calculs par Spectrophotometrie Infrarouge avantages et Limites de la Methode”

Ikatan yang Bervibrasi	Gugus Fungsional	Tipe Vibrasi	Posisi Bilangan Gelombang	Molekul yang Bersesuaian
C=O	Amida (peptida) – COO	Ulur (Asim)	1618.30 cm^{-1}	Whewellite (Kalsium Oksalat monohidrat) Cystine
C=O	Amida (peptida) – COO	Ulur (sim)	1316.40 cm^{-1}	Weddelit (Kalsium Oksalat dihidrat)

Pembuatan Kurva Baku Larutan Standar Kalsium

Larutan standar kalsium dibuat dengan konsentrasi (0,02; 0,04; 0,06; 0,08; 0,10) *ppm* dan diukur serapannya dengan SSA pada panjang gelombang 422,7 nm. Pembuatan kurva baku bertujuan untuk menentukan persamaan regresi linear yang akan digunakan untuk menghitung kadar kalsium terlarut dalam larutan uji. Larutan uji yang digunakan adalah seri konsentrasi

EMDK dan EEDK (2, 4, 6, 8 dan 10)% dan blanko. Kurva baku dibuat dengan cara menghubungkan konsentrasi larutan standar kalsium (sumbu X) dengan absorbansi (sumbu Y). Persamaan regresi linier yang dihasilkan adalah $y = 3,0185x + 0,191$ dengan koefisien korelasi (r) = 0,994 (gambar 2).



Gambar 2. Kurva hubungan seri konsentrasi larutan standar kalsium (ppm) dengan absorbansi

Koefisien korelasi (r) dari persamaan kurva baku standar kalsium dinyatakan linier dan memenuhi syarat karena lebih besar dari r tabel ($P : 0,95$; $df=4$) yaitu 0,7293. Oleh karena itu, persamaan regresi linier yang diperoleh valid digunakan untuk mentransformasi data absorbansi yang terbaca pada alat SSA ke dalam bentuk kadar kalsium terlarut (*ppm*).

Analisis Kuantitatif Kadar Kalsium dari Batu Ginjal yang Terlarut dalam Ekstrak Metanol dengan Spektrofotometer Serapan Atom

Batu ginjal yang terlarut dalam seri konsentrasi EMDK dan EEDK diukur dengan spektrofotometer serapan atom pada panjang gelombang 422,7 nm. Rata-rata kadar kalsium terlarut batu ginjal dalam seri

konsentrasi EMDK dan EEDK lebih besar daripada kalsium batu ginjal terlarut dalam blanko ($p < 0,05$). Data kadar kalsium batu

ginjal terlarut dalam EMDK, EEDK dan blanko dapat dilihat pada tabel II.

Tabel II. Hasil Pengukuran Kadar Kalsium Batu ginjal Terlarut

Ekstrak	Konsentrasi	Kadar kalsium terlarut (mg/dL)			X±SD
		I	II	III	
		Blanko	60,35	59,35	
EMDK	2%	89,56	85,67	83,29	86,17* ± 1,780
	4%	103,45	106,11	101,40	103,65* ± 1,780
	6%	123,24	126,29	123,77	124,43* ± 1,780
	8%	143,30	138,24	140,12	140,55* ± 1,780
	10%	184,90	187,72	185,00	185,87* ± 1,780
EEDK	2%	65,25	69,77	70,44	68,49 ± 1,629
	4%	80,71	93,10	112,12	95,31* ± 9,134
	6%	124,23	125,47	129,45	126,38* ± 1,575
	8%	139,19	144,35	153,07	145,54* ± 4,050
	10%	170,03	177,84	183,99	177,29* ± 4,039

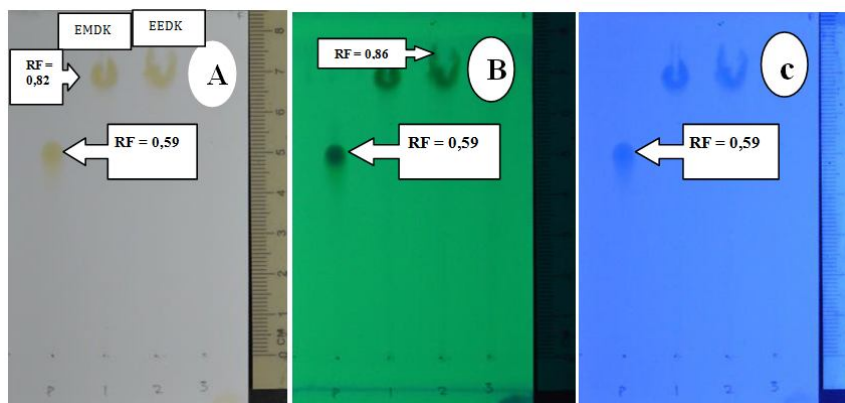
*=Hasil uji *Tukey* menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan dengan blanko ($p < 0,05$)

Hasil penelitian membuktikan bahwa EMDK (2-10)% dan EEDK (4-10)% mampu meningkatkan kelarutan kalsium batu ginjal secara *in vitro* ($p < 0,05$). EMDK 10% mempunyai kemampuan melarutkan batu ginjal paling tinggi ($185,87 \pm 1,78052$) ppm dibandingkan dengan konsentrasi di bawahnya (2, 4, 6, dan 8)% dan kadar kalsium terlarut dalam semua seri konsentrasi EEDK (2-10)%. Hasil uji *Tukey* menyimpulkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan pada kadar kalsium batu ginjal terlarut dalam masing-masing konsentrasi EMDK dan EEDK. Dengan kata lain, kelarutan kalsium batu ginjal mengikuti pola tergantung konsentrasi. Hal ini diduga terkait dengan konsentrasi zat aktif yang terdapat di dalam EMDK dan EEDK. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang digunakan maka konsentrasi zat aktif yang mempunyai peranan dalam melarutkan kalsium batu ginjal juga semakin tinggi.

Identifikasi Senyawa Aktif Golongan Flavonoid dalam EMDK dan EEDK dengan menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Salah satu kandungan senyawa aktif bahan alam yang memiliki kemampuan melarutkan kalsium batu ginjal adalah

flavonoid (Pramono dkk., 1993). Flavonoid adalah salah satu senyawa aktif yang terdapat dalam daun kelor (Kasolo, 2010). Oleh karena itu, penelitian ini juga membuktikan adanya kandungan senyawa aktif golongan flavonoid yang tersari ke dalam EMDK dan EEDK. Proses identifikasi dilakukan secara kualitatif menggunakan KLT. Senyawa flavonoid standar yang digunakan sebagai pembanding adalah rutin. Visualisasi bercak senyawa aktif dalam EMDK dan EEDK pada plat KLT setelah disinari dan diamati di bawah sinar UV₂₅₄, UV₃₆₆ dan visibel dapat dilihat pada gambar 3. Hasil pengamatan pada plat KLT secara visible menunjukkan bercak sampel EMDK, EEDK dan rutin menghasilkan warna kuning setelah direaksikan dengan pereaksi semprot AlCl₃ (Gambar 3A). Oleh karena itu, penelitian ini menyimpulkan bahwa EMDK dan EEDK mengandung senyawa aktif golongan flavonoid. Flavonoid apabila bereaksi dengan AlCl₃ akan membentuk senyawa kompleks berwarna kuning (Markham, 1988).



Keterangan :

(A) Pengamatan secara visibel

(B) Pengamatan di bawah sinar UV₂₅₄ nm

(C) Pengamatan di bawah sinar UV₃₆₆ nm

Fase diam : Silika Gel 60 F₂₅₄

Fase Gerak : Butanol : Asam Asetat : Air (3:1:1)

Pereaksi : AlCl₃

Jarak pengembangan : 8,5 cm

P : Pembanding (rutin)

1 : EMDK

2 : EEDK

Gambar 3. Kromatogram identifikasi senyawa flavonoid dalam EMDK, EEDK dan pembanding rutin

Deteksi bercak di bawah sinar UV₂₅₄ nm menunjukkan bahwa bercak yang terbentuk dapat merendam fluorosensi silika gel yang berwarna hijau sehingga bercak terlihat berwarna hitam (Gambar 3.B). Sementara itu, pendeteksian di bawah sinar UV₃₆₆ nm, bercak yang dihasilkan menunjukkan warna biru dan silika gel terlihat berwarna hitam (Gambar 3.C). Hal ini dikarenakan silika gel tidak dapat berfluorosensi pada sinar UV₃₆₆.

Nilai *retardation factor* (Rf) dari bercak sampel EMDK dan EEDK yang terdapat pada KLT berturut-turut adalah sebesar 0,82 dan 0,85, Sementara itu, nilai Rf bercak baku pembanding (rutin) adalah 0,59. Nilai Rf bercak sampel lebih tinggi apabila dibandingkan dengan nilai Rf pembanding. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa aktif golongan flavonoid yang terkandung di dalam EMDK dan EEDK cenderung bersifat lebih bersifat semi polar bila dibandingkan dengan rutin.

Penelitian ini menyimpulkan bahwa EMDK dan EEDK mengandung senyawa aktif golongan flavonoid yang diduga berperan kuat terhadap efek melarutkan

kalsium batu ginjal secara *in vitro*. Senada dengan hasil penelitian ini, peneliti sebelumnya juga menyimpulkan bahwa senyawa flavonoid yang terdapat dalam ekstrak air dan fraksi etil-asetat daun benalu mindi (*Dendrophthoen falcata* L.f Ettingsh) (Sasmito dkk., 2001); ekstrak etanol, fraksi air, dan fraksi etil-asetat bunga rosela (*Hibiscus sabdariffa* L.) (Ulfa dkk., 2012) juga diduga kuat mampu meningkatkan kelarutan kalsium batu ginjal secara *in vitro*. Suharjo dan Cahyono dalam bukunya telah mengungkap mekanisme aksi senyawa flavonoid dalam melarutkan kalsium batu ginjal. Gugus -OH yang terdapat pada rantai samping struktur induk flavonoid memiliki kemampuan membentuk ikatan dengan kalsium batu ginjal sehingga menghasilkan senyawa kompleks Ca-flavonoid. Senyawa kompleks ini lebih mudah larut dalam air sehingga akan mudah dikeluarkan melalui urin (Suharjo, 2009). Oleh karena itu, sangat dimungkinkan bahwa peningkatan kelarutan kalsium batu ginjal dalam EMDK dan EEDK disebabkan adanya kandungan senyawa aktif golongan flavonoid ini.

Hasil penelitian ini telah berhasil membuktikan kemampuan EMDK dan EEDK dalam meningkatkan kelarutan kalsium batu ginjal secara *in vitro*. Akan tetapi, penelitian ini belum mengungkap kemampuan EMDK dan EEDK dalam melarutkan kalsium batu ginjal secara *in vivo*. Penelitian selanjutnya diarahkan pada pengujian dua ekstrak daun kelor ini dalam melarutkan kalsium batu ginjal secara *in vivo* menggunakan hewan percobaan. Selain itu, agar dapat digunakan sebagai sediaan herbal, penelitian selanjutnya juga diarahkan pada uji toksisitas ekstrak daun kelor sehingga dapat diketahui keamanannya apabila digunakan sebagai herbal peluruh batu ginjal. Dengan demikian, hasil dari serangkaian penelitian tersebut diharapkan dapat dijadikan sebagai bukti ilmiah dan dijadikan sebagai acuan untuk pembuatan obat herbal daun kelor, khususnya untuk pengobatan batu ginjal.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Hasil penelitian membuktikan bahwa EMDK (2-10)% dan EEDK (4-10)% mampu meningkatkan kelarutan kalsium batu ginjal secara *in vitro* ($p < 0,05$). Kelarutan kalsium batu ginjal dalam EMDK dan EEDK mengikuti pola tergantung konsentrasi. Kadar kalsium batu ginjal terlarut dalam EMDK dan EEDK berturut-turut berkisar antara (86,27-185,87) ppm dan (95,31-177,29) ppm. Hasil analisis dengan KLT membuktikan bahwa senyawa aktif golongan flavonoid berhasil teridentifikasi dalam EMDK dan EEDK.

Saran

Berbagai penelitian selanjutnya perlu dilakukan untuk melengkapi hasil penelitian ini, diantaranya adalah pengujian dua ekstrak daun kelor ini dalam melarutkan kalsium batu ginjal secara *in vivo* menggunakan hewan percobaan. Selain itu, agar dapat digunakan sebagai sediaan herbal, penelitian selanjutnya juga diarahkan pada uji toksisitas ekstrak daun kelor sehingga dapat diketahui keamanannya apabila digunakan sebagai herbal peluruh batu ginjal. Dengan demikian, hasil dari serangkaian penelitian tersebut diharapkan dapat dijadikan sebagai bukti ilmiah dan dijadikan sebagai acuan untuk pembuatan

obat herbal daun kelor, khususnya untuk pengobatan batu ginjal.

Ucapan Terimakasih

Ucapan terima kasih kami sampaikan kepada Bapak Didik Setyo Widodo, S.Si., M.Si., yang telah memberikan pelatihan pengukuran kadar kalsium terlarut menggunakan alat SSA.

DAFTAR PUSTAKA

- Arisandi, Y., dan Andriani Y., 2000, *Tanaman obat dan pengobatan alternaif*, Cetakan pertama, Setia kawan, Jakarta,; p 47-54
- Arora, S.D., Onsare, G.J., and Kaur H., 2013, Bioprospecting of moringa (Moringaceae) : microbiological prespective, *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*; 1(6): 193
- Daudon, M.M.F., and Reveeilaud R.J., 1987, Analyse des calculus par spectrophotometrie infrarouge advantages et limited de la methode, *Ann Bio Clin*; 36: 475-486
- Effendi, I., dan Markum H.M.S., 2010, *Buku ajar ilmu penyakit dalam*, Jilid II, Edisi IV, FKUI, Jakarta,; p 35-40
- Gandjar, I.G., dan Rohman A., 2008, Kimia farmasi analisis, Pustaka Pelajar, Yogyakarta,; p 46, 353-354
- Grace, P.A., dan Borley, N.R., 2006, *At a Glance Ilmu Bedah*, Erlangga, Jakarta,; p 41
- Karadi, R.V., Gadge N.B., Alawadi, K.R. and Savadi R.V., 2006, Effect of *Moringa oleifera* lam. root-wood on ethylene glycol induced urolithiasis in rats, *J Ethopharmacol*; 105 (1-2): 306-311
- Kasolo, J.N., Bimenya G.S., Ojok, L., Ochieng, J. and Jasper W.O., 2010, Phytochemicals and uses of *Moringa oleifera* leaves in uganda rural communities, *J Med Plant Res*; 4(9): 753-757
- Markham K.R., 1988, *Cara identifikasi flavonoid, diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata*, Penerbit ITB, Bandung, p 1-54

- Nakada, S.Y., and Pearle, M.S., 2013, Surgical management of urolithiasis, *Spriger*, New York;, p 80-83
- Pramono, S., Sumarmo, Wahyono S., 1993, *Flavonoid daun tempuyung (Sonchus arvensis) senyawa aktif pembentuk kompleks dengan batu ginjal berkalsium*, *Warta Tumbuhan Obat Indonesia*; 2(3): 5-7
- Purnomo, B.B., 2007, *Dasar-dasar urologi*, Agung Seto, Jakarta;, p 64-65.
- Romero, V., Akpinar, H., and Assimios, D.G., 2010, Kidney Stone: A global picture of prevalence, incident and associated risk factors, *Rev Urol*; 12(2-3): 86-96
- Sasmito, D., Kamal Z., Kristanto J., 2001, Kemampuan ekstrak air dan fraksi etil-asetat daun benalu mindi (*Dendrophthoe falcata* L.F Ettingsh) melarutkan batu ginjal kalsium *in vitro* yang diuji dengan metode aktivasi neutron cepat, *Majalah Farmasi Indonesia*; 12: 120-127
- Suharjo, J.B., dan Cahyono, B., 2009, *Batu ginjal*, Kanisius, Yogyakarta, p 30-31
- Ulfa, R.I., Dwi E.W., dan Wildan A., 2012, Pengaruh pemberian ekstrak etanol, fraksi air, dan fraksi etil-asetat bunga rosela (*Hibidus sabdariffa* L.) terhadap kelarutan batu ginjal kalsium secara *in vitro*, *Majalah Farmasi Indonesia*; 4: 432
- Wagner, H., and Bladt S., 2001, Plan drug analysis, a thin layer chromatography atlas, Second Edition, *Spinger*, 188-189, 294-296