

## Uji Kelarutan Kristal Kalsium Oksalat Urin Tikus *Sprague Dawley* setelah Pemberian Elikssir Ekstrak Etanol Daun Pelawan

(SOLUBILITY TEST OF CALCIUM OXALATE CRYSTAL IN SPRAGUE DAWLEY RAT  
URINE AFTER GIVING ETHANOL EXTRACT OF PELAWAN LEAVES)

Rahmawati Januar,  
Ietje Wientarsih, Sus Derthi Widhyari

Departemen Klinik, Reproduksi, dan Patologi  
Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor  
Jln. Agathis, Kampus IPB Dramaga,  
Bogor, Jawa Barat, Indonesia 16680  
E-mail: rahmawati.januar92@gmail.com

### ABSTRAK

Obat tradisional merupakan obat herbal yang digunakan secara turun temurun oleh masyarakat di Indonesia. Daun pelawan dipercaya mampu melarutkan kristal dalam urin yang dapat menjadi penyebab awal pembentukan batu ginjal. Tujuan penelitian ini untuk mengevaluasi potensi sediaan eliksir daun pelawan sebagai antilithiasis pada tikus yang diberi etilen glikol dan amonium klorida sebagai *inducer*. Sebanyak 30 ekor tikus jantan *Sprague dawley* dibagi dalam lima perlakuan (n=6). Perlakuan K1 (kontrol) diberi akuades secara *ad libitum*, perlakuan K2 diberi *inducer*, perlakuan K3 (kontrol positif) diberi *inducer* dan Batugin elixir 5,4 mg, perlakuan K4 dan K5 diberi eliksir ekstrak etanol daun pelawan (EEEDP) 100 mg/kg BB dan 200 mg/kg BB. Perlakuan selama 28 hari dengan pengamatan urin pada hari ke 14 dan 28. Skrining fitokimia menunjukkan ekstrak etanol daun pelawan mengandung flavonoid, tanin, saponin dan steroid. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada pengamatan hari ke 14, perlakuan K3 mampu melarutkan kristal dengan jumlah terendah, sedangkan pada hari ke 28 perlakuan K4 melarutkan kristal dengan jumlah terendah. Dosis 100 mg/kg BB pada perlakuan K4 efektif melarutkan kristal kalsium oksalat.

Kata kunci : urolithiasis, eliksir, pelawan, kalsium oksalat, antilithiasis

### ABSTRACT

Traditional medicine is an herbal medicine used from generation to generation by people in Indonesian. Pelawan leaves is believed can dissolve crystals in the urine that can be the initial cause of kidney stone formation. This study aimed to evaluate the potential of elixir of the ethanol extract of pelawan leaves as antilithiasis in rat was given ethylene glycol and ammonium chloride as inducer. Thirty male rat *Sprague dawley* was divided in five different groups (n=6). The control group (K1), ethylene glycol (EG) and ammonium chloride (AC) as inducer (K2), inducer and Batugin 5,4 mg (K3); inducer and the elixir of the ethanol extract of pelawan leaves (EEEDP) 100 mg/kg body weight (K4) and 200 mg/kg body weight (K5). The treatments were done in 28 days with urines observed at day 14 and day 28. The result showed that pelawan contain flavonoid, tannin, saponin and steroid. The result showed that treatment groups dissolved calcium oxalate crystals. Observed at day 14, K3 dissolved calcium oxalate crystals with lowest number, while at day 28, K4 dissolved calcium oxalate crystals with lowest number. A dose of 100 mg/kg body weight in the K4 group effectively dissolves the calcium oxalate crystals.

Keywords: urolithiasis; elixir; pelawan; calcium oxalate; antilithiasis

## PENDAHULUAN

Pengobatan dengan herbal merupakan pengobatan secara tradisional yang telah digunakan oleh masyarakat secara turun temurun. Kejadian urolitiasis merupakan masalah yang sering dijumpai pada manusia maupun hewan. Efek samping pengobatan modern yang menggunakan teknik (*extracorporeal shock wave lithotripsy* (ESWL) dan *percutaneous nephrolithotomy* (PCNL) diketahui menyebabkan efek traumatik dari gelombang kejut, adanya kemungkinan sisa fragmen batu, hemoragi, hipertensi, nekrosis tubulus dan fibrosis ginjal. Hal tersebut memberikan risiko terhadap fungsi ginjal dan kekambuhan batu (Satish *et al.*, 2010; Selvam *et al.*, 2001). Efek samping pengobatan modern menyebabkan beralihnya masyarakat dari pengobatan modern ke pengobatan tradisional dengan harapan senyawa esensial dari tanaman tersebut bekerja efektif tanpa efek samping. Oleh karena itu perlu mencari pengobatan alternatif yang relatif aman bagi tubuh.

Hasil penelitian *ethnomedicinal* oleh Ahmed *et al.* (2016) dari 34 negara di dunia, dilaporkan terdapat 457 tanaman dari 108 famili yang dapat digunakan sebagai obat anti-urolitiasis. Penelitian tersebut membuktikan bahwa banyak tanaman potensial obat yang dapat dikembangkan terutama tanaman yang ada di Indonesia. Salah satunya adalah tanaman pelawan (*Tristaniaopsis obovata* [Benn.]) dari famili *Myrtaceae*. Tanaman ini digunakan oleh masyarakat sebagai obat tradisional untuk mengobati berbagai penyakit, seperti sakit maag, sakit perut, sakit liver, peningkatan stamina (Kissinger *et al.*, 2013; Kissinger *et al.*, 2016), penawar racun, antidiabetes (Hilwan 2014) dan obat peluruh darah pascamelahirkan (Yusfiati dan Fitmawati, 2015). Bagian tanaman yang dimanfaatkan adalah daun, kulit kayu, akar dan air dari batang. Zat aktif dari tanaman ini dipercaya memiliki aktivitas sebagai antilitiasis (Denny dan Kalima, 2016).

Ginjal merupakan organ multifungsi yang berperan dalam proses regulasi, sekresi, metabolisme dan ekskresi. Ginjal berfungsi mengatur volume darah, volume cairan ekstraseluler, tekanan darah arteri sistemik, hematokrit, keseimbangan asam basa, dan konsentrasi plasma elektrolit, mineral dan produk sisa metabolik (Bartges *et al.*, 2011; Guyton and Hall, 2006). Ginjal membersihkan

produk-produk sisa yang ada dalam darah secara selektif dan secara bersamaan mengatur keseimbangan air dan elektrolit dalam tubuh (Strasinger dan Lorenzo, 2008). Urolitiasis merupakan gangguan urologi multi faktor karena pengaruh faktor risiko epidemiologi, biokimia dan genetik (Kaleeswaran *et al.*, 2018; Makasana *et al.*, 2014). Tingkat kejadian urolitiasis dialami sekitar 12% populasi dengan tingkat kekambuhan 70-81% pada pria dan 47-60% pada wanita (Soundararajan *et al.*, 2006). Urolitiasis terjadi karena adanya perubahan faktor komposisi pembentuk kristal urin di saluran kemih pada keadaan supersaturasi. Pembentukan batu dipengaruhi oleh kristalisasi pada keadaan supersaturasi, faktor promotor dan inhibitor di ginjal (Christina *et al.*, 2013). Sekitar 80% mayoritas batu tersusun dari kalsium oksalat (Soundararajan *et al.*, 2006). Prevalensi kejadian pada kucing adalah 49% struvite dan 41% kalsium oksalat, sedangkan pada anjing adalah 41% struvite 40% kalsium oksalat, 6% purin dan 1% sistin (Osborne *et al.*, 2009). Pada hewan, kalsium oksalat bukan urolit yang umum, namun hampir setengah populasi kucing dan anjing pernah ditemukan batu kalsium oksalat.

Pada penelitian ini, daun pelawan dibuat dalam bentuk sediaan obat berupa eliksir untuk mengoptimalkan khasiat obat. Sediaan eliksir memiliki stabilitas yang baik, karena adanya sifat hidroalkohol dari pelarut etanol. Pelarut etanol berfungsi dalam mempertahankan kestabilan obat dalam cairan, sehingga sediaan stabil dan dapat disimpan dalam waktu lama (Ansel, 2011). Penelitian ini dilakukan untuk mengevaluasi potensi antilitiasis daun pelawan dalam bentuk sediaan eliksir pada tikus yang diberi etilen glikol dan amonium klorida sebagai penginduksi kristal kalsium oksalat.

## METODE PENELITIAN

### Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Pelawan

Pembuatan ekstrak etanol daun pelawan menggunakan metode maserasi dan pelarut etanol 70%. Daun pelawan yang dikoleksi adalah daun muda yang berada pada duduk daun tiga hingga enam. Serbuk simplisia daun pelawan sebanyak 600 g direndam dengan etanol 70% selama tiga hari dengan penggantian pelarut setiap hari. Filtrat dievaporasi untuk memperoleh ekstrak kental etanol daun pelawan.

### Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan terhadap ekstrak etanol daun pelawan untuk mengetahui kandungan flavonoid, alkaloid, tanin, saponin, kuinon, steroid dan triterpenoid berdasarkan metode Harborne (1998).

### Pembuatan Sediaan Elikzir Ekstrak Etanol Daun Pelawan (EEEDP)

Pembuatan sediaan eliksir menggunakan formula eliksir menurut Wientarsih *et al.* (2008) yang terdiri dari bahan yaitu ekstrak daun pelawan (44,8 g) propilen glikol, etanol 70%, sorbitol cair, gliserin, nipagin 0,2%, *oleum menthae piperate* (2 tetes) dan akuades yang ditera hingga 240 mL. Campuran tersebut disimpan dalam wadah gelap dan tertutup rapat.

### Rancangan Percobaan

Prosedur penelitian ini telah disetujui oleh Komisi Etik Hewan Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat, Institut Pertanian Bogor dengan nomor: 77-2017 IPB. Metode penelitian yaitu eksperimental yang menggunakan 30 ekor tikus jantan *Sprague dawley* berbobot badan 250-300 g yang dipelihara di Unit Pengelolaan Hewan Laboratorium (UPHL), Fakultas Kedokteran Hewan IPB. Tikus dibagi masing-masing enam ekor ke dalam lima perlakuan yaitu perlakuan K1 (kontrol) diberi aquades, K2 (diberi etilen glikol 0,75% dan amonium klorida 2% sebagai *inducer* pembentukan kristal kalsium oksalat), K3 (*inducer* dan Batugin elixir yang mengandung 3 g ekstrak daun tempuyung [*Sonchi folium*] dan 0,3 g ekstrak daun kejibeling [*Strobilanthe folium*]), K4 (*inducer* dan EEEDP 100 mg/kg BB) dan K5 (*inducer* dan EEEDP 200 mg/kg BB). Pemberian dosis *Inducer* diberikan secara *ad libitum* pada perlakuan K2, K3, K4 dan K5 sebagai pengganti air minum selama percobaan berlangsung (14 dan 28 hari). Pemberian dosis EEEDP yaitu 100 mg/kg BB dan 200 mg/kg BB berdasarkan bobot badan dari setiap ekor tikus. Perlakuan dilakukan selama 28 hari dengan pengamatan urin dilakukan pada hari ke-14 dan 28.

### Pemeriksaan Kristal Urin

Urin dikoleksi pada hari ke-14 dan 28. Pengamatan kristal dalam urin diamati menggunakan mikroskop cahaya. Sampel urin segar yang sudah ditampung disentrifugasi selama 10 menit kemudian dipisahkan dengan supernatan. Endapan urin diaduk dan

digunakan pada pemeriksaan. Sampel urin ditetesi di atas *object glass* dan ditutup *cover glass* lalu diamati di bawah mikroskop cahaya pada perbesaran 100 dan 400 kali (Kaleeswaran *et al.*, 2018; Yamaguchi *et al.*, 2005). Metode pemeriksaan kristal urin menggunakan metode natif. \_Pemeriksaan kristal urin dilakukan sebanyak tiga kali lapang pandang yang kemudian jumlah kristal yang ditemukan dirataratakan. Hasil rata-rata tersebut dikategorikan tingkat keparahan kristalografinya berdasarkan metode yang dilakukan oleh Fan *et al.* (1999) dan Yousofy *et al.* (2017) dengan kategori yaitu (-) tidak ada kristal, (+) 1-5 kristal, (++) 6-20 kristal, (+++) >20 kristal/*high power field* (HPF). Data yang diperoleh dianalisis secara deskriptif dan menggunakan SPSS ver 21 yaitu jumlah kristal kalsium oksalat yang ditemukan.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstrak etanol daun pelawan dibuat dengan metode maserasi yaitu merendam serbuk simplisia daun pelawan dengan pelarut etanol 70% selama tiga hari. Ekstrak kental yang diperoleh sebanyak 174,8 g dari 600 g serbuk simplisia, sehingga rendemen yang dihasilkan sebanyak 29,13%. Ekstrak etanol daun pelawan diuji secara fitokimia untuk mengetahui senyawa-senyawa kimia yang terkandung di dalam daun pelawan. Data hasil skrining fitokimia ekstrak etanol daun pelawan dengan metode visualisasi warna dan endapan disajikan pada Tabel 1.

Hasil skrining fitokimia ekstrak etanol daun pelawan ditemukan senyawa flavonoid, tanin, saponin dan steroid. Pemilihan metode ekstraksi dan pelarutnya merupakan salah satu faktor yang memengaruhi hasil fitokimia (Azis *et al.*, 2014), karena pemilihan metode ekstraksi dan pelarut sesuai dengan senyawa yang akan diisolasi (Mukhriani, 2014).

### Pengamatan Kristal Kalsium Oksalat Urin

Gambaran sedimen urin dapat mengandung kristal normal atau abnormal. Pada kondisi patologi, kristal normal juga dapat menjadi abnormal sehingga menyebabkan keadaan akut atau kronis (Prabhu *et al.*, 2015). Pengamatan kristal pada urin dapat dilakukan dengan menggunakan mikroskop cahaya pada perbesaran 100 dan 400 kali. Pemeriksaan kristal urin yang menggunakan metode natif yaitu dengan memusing sampel urin yang

Tabel 1. Skrining fitokimia ekstrak etanol daun pelawan

No.	Golongan senyawa	Senyawa pereaksi	Hasil
1	Flavonoid	HCl, Mg	+
2	Alkaloid	Wagner Mayer Dragendorf	- - -
3	Tanin	FeCl <sub>3</sub> 10%	+
4	Saponin	Air	+
5	Quinon	NaOH 10%	-
6	Steroid	CH <sub>3</sub> COOH glasial, H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> pekat	+
7	Triterpenoid	CH <sub>3</sub> COOH glasial, H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> pekat	-

Keterangan : (+) positif, (-) negatif

Tabel 2. Hasil pemeriksaan mikroskopis kristal-krital urin tikus percobaan

Perlakuan	Waktu pengamatan hari ke-	
	14	28
KO	Kalsium fosfat Amorf fosfat	Kalsium fosfat Kalsium oksalat dihidrat
KN	Kalsium oksalat dihidrat	Kalsium oksalat dihidrat Kalsium oksalat monohidrat
P0	Kalsium oksalat dihidrat	Kalsium oksalat dihidrat
P1	Kalsium oksalat dihidrat	Kalsium oksalat dihidrat
P2	Kalsium oksalat dihidrat	Kalsium oksalat dihidrat

Keterangan: KO (tanpa perlakuan), KN (*inducer*), P0 (*inducer* + Batugin elixir 5,4 mg/200 g), P1 (*inducer* + EEEDP 100 mg/kg BB), P2 (*inducer* + EEEDP 200 mg/kg BB).

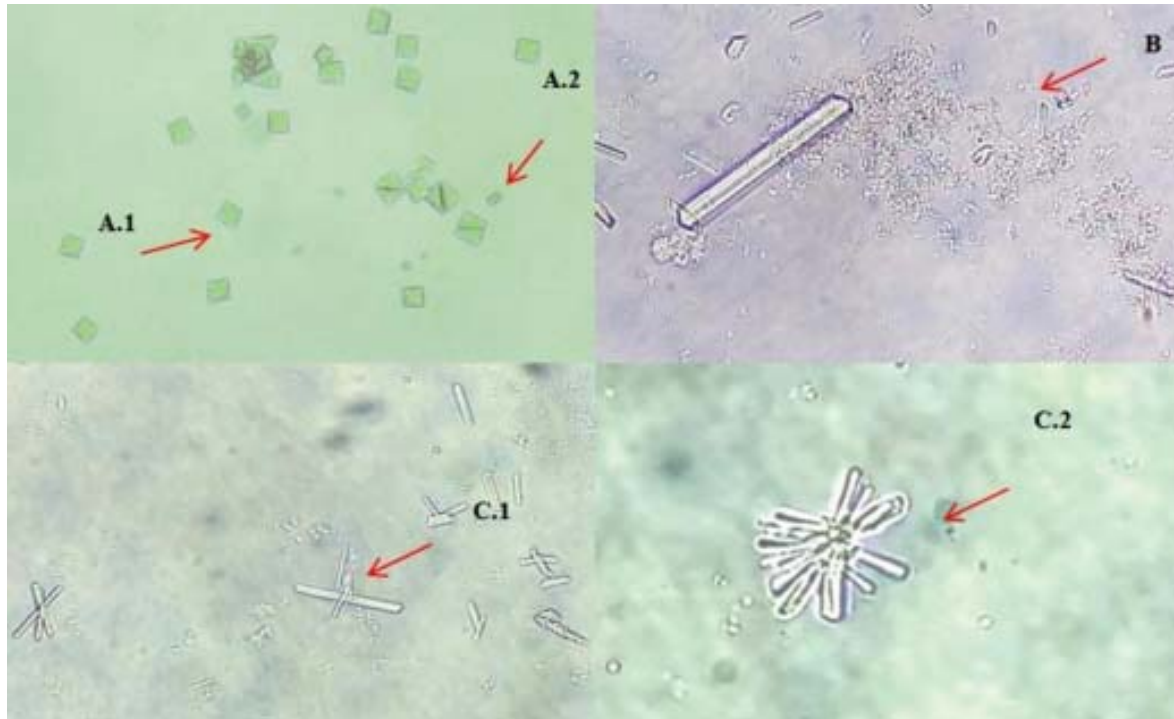
diperiksa, lalu memisahkan antara supernatan dan endapan. Endapan urin tersebut diteteskan di atas gelas objek. Penampang kristal dalam satu kali lapang pandang pada perbesaran tertentu dihitung secara manual dan seterusnya dilakukan untuk lapang pandang berikutnya. Jenis-jenis kristal yang ditemukan pada semua kelompok hewan disajikan pada Tabel 2 dan Gambar 1.

Kristal pada Tabel 2 yang ditemukan adalah kristal kalsium oksalat monohidrat (*calcium oxalate monohydrate* atau COM) atau *whewellite*, kalsium oksalat dihidrat (*calcium oxalate dihydrate* atau COD) atau *weddellite*, kalsium fosfat (*calcium phosphate* atau CaP) dan amorf Posfat. Hampir pada semua kelompok perlakuan ditemukan jenis kristal yang sama. Jenis-jenis kristal yang ditemukan merupakan sedimen urin anorganik dan tergolong jenis kristal normal yang dipengaruhi oleh tingkat keasaman atau pH (Brunzel, 2013).

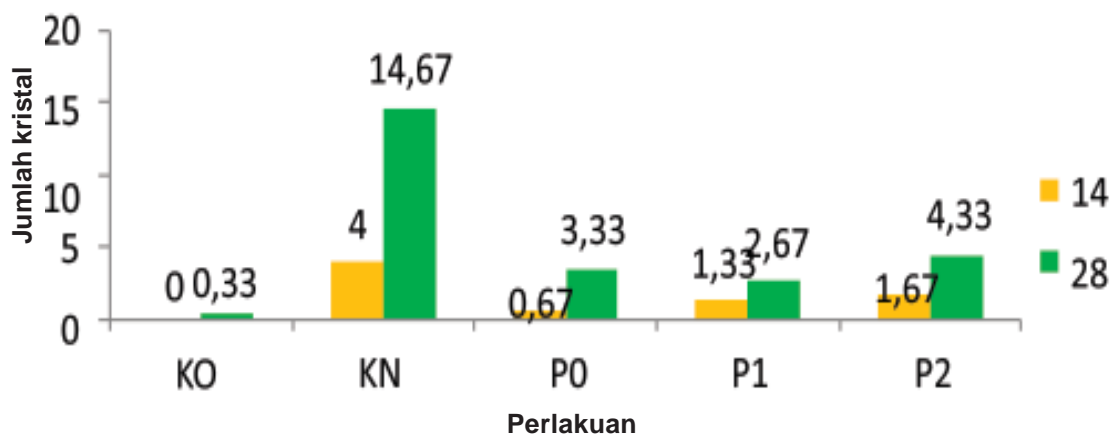
Kristalisasi pada urin jenuh merupakan proses penting pada tahap awal terjadinya

urolitiasis yang ditandai adanya retensi mikrokristal. Sel-sel epitel ginjal yang rusak menjadi media perlekatan bagi mikrokristal untuk berkembang menjadi batu (Yamaguchi *et al.*, 2005).

Supersaturasi urin kemih dapat menyebabkan terjadinya obstruksi, hidronefritis, infeksi dan pendarahan di saluran kemih. Kristal akan menjadi semakin besar hingga menjadi batu, jika dipertahankan dalam saluran kemih. Batu dapat dibentuk berdasarkan akumulasi mineral dengan empat tahapan yaitu nukleasi, pertumbuhan kristal, agregasi kristal dan retensi kristal (Kaleeswaran *et al.*, 2018). Komponen batu paling umum pada urolitiasis adalah batu kalsium oksalat (CaOx) (Yamaguchi *et al.*, 2005) yang sebagian besar dalam bentuk monohidrat atau dihidrat sebagai komponen utama batu kalsium ginjal (Fan *et al.*, 1999). Kristal kalsium oksalat terbentuk akibat adanya interaksi elektrostatis antara ion kalsium dan ion oksalat pada konsentrasi tinggi di dalam cairan tubulus ginjal. Menurut Fogazzi (1996),



Gambar 1. Bentuk kristal urin yang ditemukan (perbesaran 100 dan 400 kali). (A.1) Kristal kalsium oksalat monohidrat; (A.2) Kristal kalsium oksalat dihidrat; (B) Kristal amorf Pfosfat; (C.1) Kristal kalsium fosfat; (C.2) Kristal dikalsium fosfat.



Gambar 2. Jumlah kristal kalsium oksalat dihidrat (COD atau *calcium oxalate dihydrate*). Keterangan: K1 (kontrol/tanpa perlakuan), K2 (kontrol negatif/*inducer*), K3 (kontrol positif/*inducer* + Batugin elixir), K4 (*inducer* + EEEDP 100 mg/kgBB), K5 (*inducer* + EEEDP 200 mg/kg BB)

kristal amorf fosfat sering ditemukan bersamaan dengan kristal CaP. Kristal amorf fosfat berbentuk seperti butiran kecil, tidak berwarna dan dibedakan dengan amorf urat berdasarkan pH. Menurut Kaleeswaran *et al.* (2018) dan Verdesca *et al.* (2011), pembentukan kristal dapat dipengaruhi oleh perubahan pH. Kristal kalsium oksalat terbentuk pada pH 5,0-

6,5 (Kishore *et al.*, 2013) yaitu kondisi pH urin di bawah 7 (Stockhom dan Scott, 2002).

Beberapa studi sebelumnya melaporkan bahwa pemberian etilen glikol (EG) 0,75% selama 28 hari dalam air minum dapat meningkatkan konsentrasi oksalat urin, dan secara signifikan dapat menyebabkan pembentukan batu ginjal terutama CaOx



Tabel 3. Pemeriksaan tingkat keparahan kristal *calcium oxalate dyhidrate* (COD) urin

Perlakuan	Waktu pengamatan (hari)			
	14		28	
	Jumlah kristal	Skoring	Jumlah kristal	Skoring
K1	0,00 <sup>a</sup> ± 0,00	-	0,33 <sup>a</sup> ± 0,577	-
K2	4,00 <sup>c</sup> ± 1,00	+	14,67 <sup>c</sup> ± 3,055	++
K3	0,67 <sup>ab</sup> ± 0,577	+	3,33 <sup>b</sup> ± 1,155	+
K4	1,33 <sup>b</sup> ± 0,577	+	2,67 <sup>ab</sup> ± 0,577	+
K5	1,67 <sup>b</sup> ± 0,577	+	4,33 <sup>b</sup> ± 0,577	+

Keterangan: K1 (kontrol/tanpa perlakuan), K2(kontrol negatif/*inducer*), K3 (kontrol positif/ *inducer* + Batugin elixir), K4 (*inducer* + EEEDP 100 mg/kg BB), K5 (*inducer* + EEEDP 200 mg/kg BB). (-) tidak ada kristal, (+) 1-5 kristal, (++) 6-20 kristal, (+++) > 20 kristal/ HPFHuruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan nilai berbeda nyata ( $p < 0.05$ ).

(Ghelani *et al.*, 2016). Menurut Touhami *et al.* (2007) pemberian etilen glikol (EG) 0,75% dan amonium klorida (AC) 2% dapat menginduksi hiperoksaluria dan deposisi CaOx di ginjal. Oksalat menginduksi peroksidasi lipid dan menyebabkan kerusakan jaringan ginjal yang bereaksi dengan asam lemak tak jenuh di dalam membran sel. Penggunaan EG dan AC karena sudah banyak penelitian yang membuktikan bahwa EG dan AC dapat membentuk batu atau deposit CaOx, ekonomis, mudah diberikan melalui air minum, pengendapan kristal CaOx di ginjal dalam waktu singkat. Penelitian Yamaguchi *et al.* (2005) melaporkan bahwa pemberian kombinasi EG dan AC pada tikus membuktikan pembentukan endapan kalsium oksalat pada ginjal. Hiperoksaluria menjadi faktor risiko yang lebih signifikan dalam patogenesis batu ginjal daripada hiperkalsiuria karena kadar oksalat urin memberikan efek lebih besar (15 kali lipat) dari pada kalsium. Namun, peningkatan kalsium urin menjadi faktor pendukung terjadinya nukleasi pengendapan CaOx atau CaP dan pertumbuhan kristal berikutnya (Ghelani *et al.*, 2016).

Pengamatan kristal dapat diketahui tingkat keparahan kristal CaOx yang terbentuk dalam urin disajikan pada Tabel 3.

Kristal kalsium oksalat biasanya diekskresikan secara bebas, namun dalam kondisi patologi kristal kalsium oksalat dapat berkembang menjadi batu jika terus dipertahankan di ginjal. Pada pemeriksaan tingkat keparahan kristal yaitu kristal kalsium oksalat dihidrat, terlihat bahwa perlakuan yang diberi *inducer* (K2, K3, K4 dan K5) memiliki rentang jumlah kristal yang sama yaitu 1 hingga 5

kristal (+) baik pada pengamatan hari ke-14 maupun ke-28. Namun, pada pengamatan hari ke-28, jumlah kristal kalsium oksalat dihidrat yang ditemukan pada K2 menunjukkan ada peningkatan dari K2 pada pengamatan hari ke-14 yaitu rentang jumlah 6 hingga 20 kristal (++)

Jumlah kristal yang ditemukan baik pada pengamatan hari ke-14 maupun ke-28, perlakuan yang hanya diberi EG dan AC (K2) menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan dengan perlakuan K1 (kontrol) dan perlakuan K3, K4, K5 (diberi ekstrak). Pada pengamatan hari ke-14, K4 dan K5 yang diberi EEEDP menunjukkan adanya perbedaan signifikan terhadap K1, namun K3 yang diberi obat Batugin elixir<sup>®</sup> tidak ada perbedaan signifikan. Hal ini menunjukkan bahwa selama 14 hari perlakuan, K3 dengan perlakuan Batugin elixir<sup>®</sup> lebih banyak melarutkan kristal dibandingkan K4 dan K5. Namun, jika dilihat pada pengamatan hari ke-28, perlakuan tidak menimbulkan perberbedaan yang signifikan dengan K1 yaitu K4. Hal ini menunjukkan bahwa setelah perlakuan selama 28 hari, K4 dengan perlakuan EEEDP 100 mg/kg BB lebih banyak melarutkan kristal dibandingkan K3 dan K5.

Tingkat keparahan kristal dapat dilihat dari data hasil pengukuran jumlah kristal CaOx (COD) dalam urin terhadap semua kelompok perlakuan pada pengamatan hari ke-14 dan 28 disajikan pada Gambar 2.

Kandungan senyawa flavonoid, tanin dan saponin dari ekstrak daun pelawan memberikan peran dalam melarutkan kalsium oksalat. Hal serupa disampaikan oleh Soundararajan *et al.* (2006) bahwa flavonoid, triterpen dan tanin dapat meningkatkan kelarutan deposit kristal CaOx

dan memulihkan bentuk ginjal. Pendapat Ghelani *et al.* (2016) sejalan dengan penelitian ini bahwa tanaman yang mengandung flavonoid, glikosida, fenol, steroid dan tanin memiliki aktivitas diuretik. Terutama flavonoid yang mampu menghambat kristalisasi kalsium oksalat pada urin manusia begitu juga pada hewan model urolitiasis (Zhong *et al.*, 2012). Menurut Harbone (1987), derivat flavonoid yang efektif melarutkan CaOx yaitu *apigenin 7-glukosida* dan *luteolin 7-glukosida*. Selain itu, saponin mampu memisahkan suspensi mukoprotein yang menjadi promotor dalam proses kristalisasi sehingga saponin memiliki sifat antikristalisasi (Gurocak dan Kupeli, 2006).

Jumlah kristal yang ditemukan meningkat seiring waktu dari hari ke-14 hingga 28. Sebagian besar kristal tersebut adalah COD dan sangat sedikit ditemukan kristal COM. Kristal COM hanya ditemukan pada perlakuan K2 pengamatan hari ke-28 (Tabel 2) dengan bentuk kristal yang terlihat pada Gambar 1. Meskipun kristal COM juga ditemukan, tetapi jumlah COD yang ditemukan menunjukkan bahwa COD adalah komponen utama kristal yang terbentuk dalam urin. Jumlah kristal COD yang ditemukan pada perlakuan K1 hampir tidak ada. Jumlah kristal COD yang terbentuk pada perlakuan K2 meningkat dari hari ke-14 hingga hari ke-28. Hal ini menunjukkan dalam pembentukan kristal CaOx, waktu pemberian EG dan AC memengaruhi jumlah kristal CaOx yang terbentuk. Semakin lama waktu pemberian maka jumlah kristal yang terbentuk semakin banyak.

Jumlah kristal kalsium oksalat perlakuan K3, K4 dan K5 lebih sedikit dibandingkan dengan K2. Baik pada pengamatan hari ke-14 maupun hari ke-28. Pada pengamatan hari ke-14, jumlah kristal kalsium oksalat perlakuan K3 yang diberi Batugin® sebagai kontrol positif lebih sedikit dibandingkan dengan perlakuan K4 dan K5 yang diberi EEEDP. Tetapi, pada pengamatan hari ke-28, jumlah kristal kalsium oksalat perlakuan K4 yang diberi EEEDP 100 mg/kg BB lebih sedikit dibandingkan dengan perlakuan K3 dan K5. Hal ini menunjukkan bahwa EEEDP 100 mg/kg BB mampu melarutkan kristal dan adanya aktivitas penghambatan pembentukan kristal kalsium oksalat selama 28 hari berdasarkan jumlah kristal yang ditemukan seperti disajikan pada Tabel 3. Pemberian EEEDP 200 mg/kg BB juga mampu melarutkan kristal kalsium oksalat, meskipun kristal yang larut lebih banyak pada

dosis 100 mg/kg BB dibandingkan 200 mg/kg BB. Hasil ini jelas menunjukkan pengaruh EEEDP terhadap pembentukan kristal. Aktivitas flavonoid dan polifenol sebagai antioksidan mencegah terjadinya deposisi kristal kalsium oksalat di ginjal dengan mencegah kerusakan oksidatif di membran tubulus ginjal akibat pemberian EG dan AC. Gugus hidroksil dari flavonoid mampu menstabilkan *reactive oxygen species* atau ROS (Panche *et al.*, 2016).

Formula EEEDP yang digunakan dapat berfungsi sebagai langkah preventif. Fitokimia yang terkandung dalam tanaman pelawan diharapkan memberikan efek farmakologi dalam meningkatkan ekskresi cairan melewati ginjal dan membuang endapan. Perlu adanya manajemen diet, penggunaan obat-obatan dan asupan nutrisi yang tepat agar dapat mencegah pembentukan batu ginjal (Prabhu *et al.*, 2015).

## SIMPULAN

Induksi etilen glikol 0,75% dan ammonium klorida 2% mampu membentuk kristal kalsium oksalat pada sedimen urin. Ekstrak daun pelawan mengandung flavonoid, tanin, saponin dan steroid. Berdasarkan jumlah kristal, ada perbedaan signifikan pada hari ke-28 antara perlakuan K1 (kontrol) dan perlakuan K4, formula EEEDP mampu melarutkan kristal kalsium oksalat dengan dosis terbaik yaitu 100 mg/kg BB.

## SARAN

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai aktivitas EEEDP sebagai agen antilithiasis dalam pengelolaan urolitiasis dengan mempelajari mekanisme penghambatan kristalisasi di saluran kemih.

## DAFTAR PUSTAKA

- Ahmed S, Hasan MM, Mahmood ZA. 2016. Antiurolithiatic plants in different countries and cultures. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry* 5(1): 102-115.
- Ansel HC. 2011. *Pengantar bentuk sediaan farmasi*. Edisi keempat. Jakarta (ID): Penerbit Universitas Indonesia. Hlm 341-351.

- Azis T, Febrizky S Mario AD. 2014. Pengaruh jenis pelarut terhadap persen *yield alkaloid* dari daun salam India (*Murraya koenigii*). *Teknik Kimia* 2: 20.
- Bartges J, Polzin DJ. 2011. *Nephrology and urology of small animals*. Oxford (UK): Wiley-Blackwell. Hlm. 10
- Brunzel NA. 2013. *Fundamentals of urine and body fluid analysis, third edition*. Missouri (US): Elsevier Saunders. Hlm. 189-191.
- Christina AJM, Muthumani P. 2013. Phytochemical investigation and antilithiatic activity of *Ablemoschus moschatus* medikus. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* 5(1): 108-113.
- Denny, Kalima T. 2016. Keanekaragaman tumbuhan obat pada hutan rawa gambut punggungalas, taman nasional sebangau, kalimantan tengah. *Bul Plasma Nutfah* 22(2): 137-148.
- Fan J, Glass MA, Chandoke PS. 1999. Impact of ammonium chloride administration on a rat ethylene glycol urolithiasis model. *Scanning Microscopy* 13 (2-3): 299-306.
- Fogazzi GB. 1996. Crystalluria: a neglected aspect of urinary sediment analysis. *Nephrol Dial Transplant* 11(2): 379-387
- Ghelani H, Chapala M, Jadav P. 2016. Diuretic and antiurolithiatic activities of an ethanolic extract of *Acorus calamus* L. rhizome in experimental animal models. *Journal of Traditional and Complementary Medicine* 6: 431-436.
- Gurocak S, Kupeli B. 2006. Consumption of historical and current phytotherapeutic agents for urolithiasis: a critical review. *The Journal of Urology*. 176: 450-455.
- Guyton AC, Hall JE. 2006. *Textbook of Medical Physiology*. 11<sup>th</sup> ed. Philadelphia. Elsevier Saunders. Hlm. 307-400.
- Harborne JB. 1998. *Phytochemical Methods A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis*. London. Chapman & Hall. Hlm. 40-129.
- Hilwan A. 2014. Potensi tumbuhan obat di hutan Kerangas di kabupaten belitung timur, provinsi kepulauan bangka belitung. *Prosiding Seminar Nasional*. Yogyakarta. Universitas Gadjah Mada. Hlm. 129-134.
- Kaleeswaran B, Ramadevi S, Murugesan R, Srigopalram Suman T, Balasubramanian T. 2018. Evaluation of anti-urolithiatic potential of ethyl acetate extract of *Pedaliium murex* L. on struvite crystal (kidney stone). *Journal of Traditional and Complementary Medicine*. 30: 1-14.
- Kishore DV, Moosavi F, Varma DRRK. Effect of ethanolic extract of *Portulaca oleracea* (Linn.) on ethylene glycol and ammonium chloride induced urolithiasis. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* 5(2): 134-140.
- Kissinger, Zuhud EAM, Darusman LK, Siregar IZ. 2013. Keanekaragaman jenis tumbuhan obat dari hutan kerangas. *Jurnal Hutan Tropis* 1(1): 17-23.
- Kissinger, Yamani A, Thamrin GA, Np RM. 2016. Bioprospecting of kerangas forests as natural medicine material sources: screening phytochemistry compound of kerangas forest tree species. *Journal of Wetlands Environmental Management* 4(2): 13-19.
- Makasana A, Ranpariya V, Desai D, Mendpara J, Parekh V. 2014. Evaluation for the anti-urolithiatic activity of *Launaea procumbens* against ethylene glycol-induced renal calculi in rats. *Toxicology Reports* 1: 46-52.
- Mukhriani. 2014. Ekstraksi, pemisahan senyawa, dan identifikasi senyawa aktif. *Jurnal Kesehatan*. 7(2): 361-367.
- Osborne CA, Lulich JP, Forrester D, Albasan H. 2008. Paradigm changes in the role of nutrition for the management of canine and feline urolithiasis. *Vet Clin Small Anim* 39: 127-141.
- Panche AN, Diwan AD, Chandra SR. 2016. Flavonoids: an overview. *Journal of Nutritional Science* 5(47): 1-15.
- Prabhu N, Marzuki SMM, Banthaviz SP, Sundhararajan A, Uma A, Saradaz V. 2015. Prevalence of crystalluria and its association with *Escherichia coli* urinary tract infections. *International Journal of Research in Medical Sciences*. 3(5): 1085-1090.



- Satish R, Natarajan K, Nikhad MM. 2015. Effect of *Hygrophila spinosa* T.Anders on ethylene glycol induced urolithiasis in rats. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research* 3(4): 61-63.
- Selvam R, Kalaiselvi P, Govindaraj A, Murugan B, Kumar ASS. 2001. Effect of *A. lanata* leaf extract and vediuppu chunnam on the urinary risk factors of calcium oxalate urolithiasis during experimental hyperoxaluria. *Pharmacological Research* 43(1): 61-63.
- Soundararajan P, Mahes R, Remesh T, Begum VH. 2006. Effect of *Aerva lanata* on calcium oxalate urolithiasis in rats. *Indian journal of Experimental Biology* 44: 981-986.
- Stockhom SL, Scott MA. 2002. *Fundamental of Veterinary Clinical Pathology*. Iowa. Iowa State Uni Press.
- Strasinger SK, Lorenzo MSD. 2008. *Urinalysis and body fluids*. Fifth edition. Philadelphia. FA Davis Co.
- Touhami M, Laroubi A, Elhabazi K, Loubna F. 2007. Lemon juice has protective activity in a rat urolithiasis model. *BMC Urol* 7: 1471-1490.
- Verdesca S, Fogazzi GB, Garigali G, Messa P, Daudon M. 2011. Crystalluria: prevalence, different types of crystals and the role of infrared spectroscopy. *Clin Chem Lab Med* 49(3): 515-520.
- Wientarsih I, Purwono RM, Prasetyo BF, Sutardi LN. 2008. Aktivitas ekstrak etanol daun alpukat (*Persea americana* Mill) terhadap batu ginjal buatan dan efek diuretiknya pada tikus putih serta pengembangannya menjadi sediaan sirup eliksir dan tablet salut enterik. Bogor. Institut Pertanian Bogor. Hlm. 31-32.
- Yamaguchi S, Wiessner JH, Hasegawa AT, Hung LY, Mandel GS, Mandel AS. 2005. Study of a rat model for calcium oxalate crystal formation without severe renal damage in selected conditions. *International Journal of Urology* 12: 290-298.
- Yousofy FA, Gumaih H, Ibrahim H, Alasbahi A. 2017. Parsley! Mechanism as antiurolithiasis remedy. *Am J Clin Exp Urol* 5(3): 55-62.
- Yusfiati, Fitmawati. 2015. Efek ekstrak etanol 50 mg *Tistanopsis obovata* R.Br pada distribusi sel mukus di usus tikus jantan wistar. *Prosiding Semirata Bidang MIPA BKS- PTN Barat*. Pontianak. Universitas Tanjungpura. Hlm. 109-111.
- Zhong YS, Yu CH, Ying HZ, Wang ZY, Cai HF. 2012. Prophylactic effects of *Orthosiphon stamineus* Benth. Extracts on experimental induction of calcium oxalate nephrolithiasis in rats. *Journal of Ethnopharmacology* 144: 761-767.