

UJI TOKSISITAS SUBKRONIS SERBUK, EKSTRAK AIR, DAN EKSTRAK PEKAT SUPLEMEN KALSIMUM DAUN KELOR (*Moringa oleifera* Lam.) PADA FUNGSI HEPAR DAN GINJAL TIKUS WISTAR (*Rattus norvegicus*)

Subchronic Toxicity Determination of Calcium Supplement Made from Drumstick Leaves (*Moringa oleifera* Lam.) Powder, Water Extract, and Concentrated Extract in Liver and Kidney Function of Wistar Rat

May Ayu Wulandari^{1*}, Lisa Imroatus Sholikhah¹, Siti Narsito Wulan¹

1) Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, FTP Universitas Brawijaya Malang
Jl. Veteran, Malang 65145

*Penulis Korespondensi, email: mayayunda7@gmail.com

ABSTRAK

Daun kelor memiliki banyak potensi seperti tinggi antioksidan, tinggi kandungan vitamin C, β -karoten, mineral terutama zat besi dan kalsium, tetapi keamanan dalam konsumsi daun kelor juga perlu diperhatikan. Daun kelor (*Moringa oleifera*) mengandung oksalat sebesar 218 mg/100 gr bahan. Asam oksalat dan kristal kalsium oksalat yang ikut dikonsumsi menyebabkan aberasi mekanik saluran pencernaan dan tubulus yang halus di dalam ginjal. Tujuan penelitian ini yaitu untuk mengetahui spektrum ketoksikan oksalat pada sediaan suplemen serbuk, filtrat cair, ekstrak pekat dosis 1 dan ekstrak pekat dosis 2 daun kelor terhadap kadar enzim alkaline phosphatase (ALP) dalam serum, histopatologi hepar dan histopatologi ginjal. Rancangan percobaan yang digunakan adalah RAL (Rancangan Acak Lengkap) dengan 4 perlakuan suplemen daun kelor yang berbeda dan 1 kelompok kontrol tanpa suplemen. Diperoleh hasil bahwa perlakuan perbedaan bentuk sediaan suplemen daun kelor tidak berpengaruh nyata terhadap kadar alkali fosfatase serum darah tikus wistar. Kadar alkali fosfatase dari semua kelompok berada pada kisaran normal. Histologi hepar menunjukkan kerusakan yang bersifat reversibel. Histologi ginjal menunjukkan jaringan sel normal pada semua kelompok.

Kata Kunci: Daun Kelor, Ginjal, Hepar, Toksisitas Subkronis

ABSTRACT

*Drumstick leaves are potential sources of antioxidants, vitamin C, β -carotene, minerals especially iron and calcium. However, the safety aspect of drumstick leaves consumption also needs to be considered. Drumstick leaves (*Moringa oleifera*) contain oxalic acid of 218 mg / 100 g on fresh wet basis. Oxalic acid and crystals of calcium oxalate salt consumed trigger mechanical aberration of gastrointestinal tract and smooth tubules of the kidney. The purpose of this study was to determine the toxicity spectrum of oxalic acid in the preparation of drumstick supplement in the form of powder, water extract and concentrate by means of alkaline phosphatase (ALP) serum concentration, liver and kidney histopathology in Wistar rats. The experimental design used was a Randomized Complete Design consisted of 4 groups of treatments differing in the form of drumstick leaves supplement given to the rats namely powder, water extract and concentrate and 1 control without supplement. The results showed that differences in the form of drumstick leaves supplement given to the rats had no significant effect on serum alkali phosphatase concentration. Serum alkali phosphatase levels of all groups are within the normal range. Histological observation of the liver indicated mild reversible damage. Kidney histology showed normal tissue in all groups.*

Keywords: *Moringa* Leaves, Kidney, Liver, Subchronic Toxicity

PENDAHULUAN

Daun kelor (*Moringa oleifera*) di Indonesia dikonsumsi sebagai sayuran dengan rasa yang khas, memiliki rasa langu dan juga digunakan untuk pakan ternak karena dapat meningkatkan pertumbuhan dan perkembangbiakan ternak khususnya unggas. Berdasarkan uji fitokimia, daun kelor (*Moringa oleifera*) mengandung tannin, steroid dan triterpenoid, flavonoid, saponin, antarquinon, dan alkaloid (Kasolo *et al.*, 2010). Potensi yang terkandung dalam daun kelor diantaranya adalah tinggi kandungan vitamin C, β -karoten, mineral terutama zat besi dan kalsium (Fuglie, 2001). Rata-rata kadar oksalat total pada daun kelor segar yaitu sebesar 218 mg/100g bahan (Nambiar *and* Seshandri, 2007). Dosis letal asam oksalat pada manusia dewasa adalah sebesar 15-30 gram per hari. Dosis letal terendah yang pernah dilaporkan adalah 6-8 gram (setelah seseorang mengkonsumsi sup sorrel) (KBPOM, 2012).

Oksalat di dalam daun kelor berada dalam bentuk oksalat yang tidak larut yaitu kalsium oksalat sebesar 38% (Radek *and* Savage, 2008). Pengujian toksisitas subkronis ini merupakan bagian dari penelitian bioavailabilitas kalsium dengan 3 jenis sediaan yaitu serbuk, ekstrak air, dan ekstrak pekat daun kelor. Suplemen daun kelor nantinya diharapkan dapat mencukupi asupan kalsium harian masyarakat dengan tingkat sosial ekonomi yang rendah serta aman dikonsumsi bagi penderita *lactose intolerance*. Namun, kandungan oksalat di dalam daun kelor diduga dapat menyebabkan toksik jika dikonsumsi dalam jangka waktu yang lama dan berlebihan sehingga dosis dan bentuk sediaan daun kelor perlu diperhatikan. Daun kelor berupa sediaan serbuk dan ekstrak pekat diduga besar masih mengandung oksalat yang cukup tinggi karena kandungan senyawa yang kompleks sehingga pada penelitian ini diamati tingkat toksisitas sediaan serbuk (3.40 gram), ekstrak air (5.60 ml), ekstrak pekat dosis 1 (4.10 ml) dan ekstrak pekat dosis 2 (8.20 ml) daun kelor. Diharapkan dengan penelitian ini konsumsi daun kelor dapat disarankan pada dosis dan bentuk sediaan yang aman.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Bahan baku yang digunakan yaitu daun kelor varietas daun kelor putih yang diperoleh secara acak dari beberapa kebun di daerah Kabupaten Malang yaitu di Pakisaji dan Perumahan Asrikaton Pakis, Malang. Bahan adaptasi tikus berupa sekam dari serbuk kayu dan susu pap yang diperoleh di Pasar Burung Splendid, Malang. Bahan-bahan kimia yang digunakan berkualitas pro analis.

Alat

Alat-alat yang digunakan antara lain bak plastic berukuran 45 cm x 35,5 cm x 14,5 cm, tutup kandang dari anyaman kawat dan botol minum tikus 100 ml, loyang, *cabinet dryer automatic*, *blender* kering (Miyako), timbangan digital (Denver Instrumen M-310), timbangan analitik (Denver Instrumen M-310), ayakan 80 mesh (.S Tyler), kertas saring Whatmann no. 1, *magnetic stirrer*, pompa vakum, *vaccum rotary evaporator*, gunting bedah, alas bedah, pinset, mikrotom, sentrifus darah, pentra C-200, mikropipet 10-100 mikroliter dan mikroskop cahaya.

Desain penelitian

Desain penelitian yang digunakan adalah rancangan acak lengkap (RAL) dengan 5 perlakuan dan 5 kali ulangan sehingga dibutuhkan sampel sebanyak 25 ekor tikus. 5 perlakuan tersebut antara lain:

1. Kontrol (K) : diet normal + akuades 2 ml (tanpa suplemen kelor)
2. Perlakuan 1 (P1) : diet normal + serbuk daun kelor (3.46 gram/195g bb/hari)
3. Perlakuan 2 (P2) : diet normal + ekstrak air daun kelor (5.56 ml/195g bb/hari)
4. Perlakuan 3 (P3) : diet normal + ekstrak pekat dosis 1 (4.09 ml/195g bb/hari)
5. Perlakuan 4 (P4) : diet normal + ekstrak pekat dosis 1 (8.18 ml/195g bb/hari)

Tahapan Penelitian

Penelitian ini menggunakan 2 tahap yaitu penelitian pendahuluan dan penelitian utama. Penelitian pendahuluan meliputi pembuatan sediaan daun kelor dan penentuan dosis. Penelitian utama meliputi intervensi dan analisa uji toksisitas. Pembuatan serbuk daun kelor dimulai dari daun kelor segar dikeringkan menggunakan *cabinet dryer* dengan temperatur bertingkat yaitu 30°C, 40°C, 50°C dan 60°C masing-masing selama 1 jam kemudian diblender dan diayak dengan ayakan 80 mesh. Ekstrak daun kelor dibuat dari serbuk daun kelor yang diekstrak secara maserasi selama 24 jam menggunakan pelarut akuades steril, kemudian disaring dengan kain saring, disentrifus, selanjutnya disaring dengan kertas saring (*Whatmann* no. 1). Ekstrak pekat daun kelor dibuat dengan proses evaporasi menggunakan *vaccum rotary evaporator* selama 1 jam 30 menit pada suhu 50-55°C dengan tekanan 100 milibar.

Sebelum intervensi, tikus diadaptasi selama 91 hari dengan pemberian pakan normal susu pap karena umur tikus pada saat dibeli masih belum mencukupi dan berat badan masih rendah serta untuk menyamakan *baseline*. Tikus kemudian diintervensi dengan pemberian sediaan suplemen daun kelor yang berbeda-beda selama 64 hari. Pada hari ke 65 tikus dieuthanasia, dibius dan dibedah kemudian dianalisis kadar alkali fosfatase pada serum darah yang diambil dari jantung, histopatologi hepar dan histopatologi ginjal.

Penentuan Dosis

Penelitian ini merupakan bagian dari penelitian pengujian bioavailabilitas kalsium sehingga penentuan dosis berdasarkan pada kebutuhan kalsium harian. Penentuan dosis tidak seperti penentuan dosis senyawa bioaktif yang mempertimbangkan berat badan masing-masing tikus wistar tetapi ditentukan berdasarkan berat badan rata-rata tikus wistar di seluruh kelompok perlakuan karena sediaan daun kelor dalam penelitian ini dimanfaatkan sebagai suplemen kalsium dan untuk mengetahui keamanan sediaan daun kelor sebagai suplemen kalsium.

Dosis ditentukan berdasarkan Angka Kecukupan Gizi (AKG) tahun 2013, kalsium pada manusia laki-laki dewasa yaitu sebesar 1100 mg/hari dengan berat badan 60 kg. Kemudian dihitung dosis perlakuan tikus menggunakan rumus konversi berat badan yaitu Human Equivalent Dose [6] dalam 60 kg berat badan manusia ke berat badan rata-rata tikus yaitu 195 gram.

HED (mg/kg) = Animal dose (mg/kg) x Animal Km/Human Km

18.33 mg/kg = Animal dose (mg/kg) x 6/37

AED (mg/kg) = 113.05 mg/kg = 0.11 mg/g

AED (mg/195g) = 22.05 mg/195 g

Keterangan :

HED : Human Equivalent Dose (mg/kg)

Km : Faktor konversi (tikus: 6; manusia: 37)

Konsumsi kalsium pada tikus wistar berdasarkan Angka Kecukupan Gizi (AKG) sebesar 22 mg. Berdasarkan kadar kalsium yang terkandung dalam setiap sediaan suplemen daun kelor dan dosis harian kalsium pada hewan coba (22 mg/195 g), dapat ditentukan dosis suplemen masing-masing sediaan daun kelor yang ditampilkan pada Tabel 1. Volume normal lambung tikus wistar yaitu 3-5 ml/p.o (Ngatidjan, 2006). Apabila pemberian dosis kalsium sesuai dengan Angka Kecukupan Harian pada tikus wistar, maka volume pemberian sediaan suplemen daun kelor sangat tinggi sehingga dosis kalsium pada setiap sediaan suplemen daun kelor diturunkan 41 kalinya sehingga diperoleh volume sediaan suplemen daun kelor sebesar 3.46 gram/195g/hari pada serbuk daun kelor; 5.56 ml/195g/hari pada ekstrak air daun kelor, 4.09 ml/195g/hari pada ekstrak pekat daun kelor dosis 1, dan 8.18 ml/195g/hari pada ekstrak pekat daun kelor dosis 2.

Tabel 1. Dosis Sediaan Suplemen Daun Kelor

Sediaan Suplemen Daun Kelor	Dosis Sediaan Suplemen Daun Kelor		
	22 ^a	22/8 ^b	22/41 ^c
	22.05	2.75	0.54
Serbuk daun kelor	141.77	17.72	3.46
Ekstrak Air Daun Kelor	228.02	28.50	5.56
Ekstrak pekat Daun Kelor Dosis 1	167.61	20.95	4.09
Ekstrak pekat Daun Kelor Dosis 2	335.23	41.90	8.18

a = dosis kalsium 22 mg/195 g pada setiap sediaan; b = dosis kalsium 2.75 mg/195 g pada setiap sediaan; c = dosis kalsium 0.54 mg/195 g pada setiap sediaan

Metode

Metode analisa pada pengujian toksisitas meliputi analisa bahan baku dan analisa uji toksisitas. Analisa bahan baku antara lain analisa rendemen metode Sudarmadji (1997) Sudarmadji *et al.*, 1984), analisa kadar air metode oven (AOAC, 1999) dan analisa oksalat total metode volumetric (Iwuoha dan Kalu, 1995). Analisa uji toksisitas meliputi analisa kadar enzim alkali fosfatase serum darah metode *automatic system* yang telah distandarisasi oleh International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (IFCC) (2006) (IFCC, 2006), analisa histopatologi hepar dan ginjal metode Hematoksin Eosin (HE) (warjana, 2012).

Prosedur Analisis

Data hasil penelitian dilakukan uji normalitas dan homogenitas terlebih dahulu. Apabila data tersebar secara normal dilakukan uji ragam *One Way ANOVA* jika tidak normal maka dilakukan pengujian data Kruskal-Wallis, bila hasil uji menunjukkan perbedaan nyata antar perlakuan maka dilanjutkan uji Mann Whitney untuk melihat perbedaan masing-masing perlakuan. Tetapi pada data alkali fosfatase tidak menunjukkan perbedaan yang nyata sehingga data tidak dilakukan uji lanjutan. Perubahan histopatologi hepar dan ginjal diamati secara kualitatif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Karakteristik Bahan Baku

Bahan baku yang digunakan dalam uji *in vivo* pada penelitian ini adalah serbuk daun kelor, ekstrak air daun kelor, dan ekstrak pekat daun kelor. Bahan baku dianalisa rendemen, kadar air dan kadar oksalat total.

Rendemen

Rendemen merupakan hasil akhir dari bahan baku yang telah diproses. Proses pembuatan serbuk daun kelor menggunakan pemanasan sehingga menghasilkan persentase rendemen serbuk sebesar 26.92% (Tabel 2). Penyusutan berat ini dikarenakan proses pengeringan menyebabkan kadar air dan komponen larut air di dalam bahan menguap. Semakin besar panas yang diberikan dan semakin lama pengeringan akan mengakibatkan berkurangnya kadar air pada bahan pangan. Rendemen ekstrak air merupakan berat ekstrak setelah dilakukan ekstraksi maserasi dibandingkan dengan berat sampel awal ketika melarutkan serbuk ke dalam akuades sedangkan rendemen ekstrak pekat daun kelor merupakan berat ekstrak setelah dilakukan proses evaporasi dibandingkan dengan berat sampel awal pada ekstrak air dengan menghilangkan kadar air sebanyak $\pm 30\%$. Tujuan dilakukan perhitungan rendemen adalah untuk mengetahui sifat kelarutan senyawa terhadap pelarut akuades ketika dilakukan ekstraksi maserasi dan dilakukan proses evaporasi. Hasil persentase rendemen dari ekstrak air daun kelor adalah sebesar 71.83%. Ekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut akuades steril. Data analisa rendemen ditampilkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Data Hasil Analisa Rendemen

Sediaan	Rata-rata rendemen (%) ± SD
Serbuk daun kelor (a)	26.92 ± 0.14
Ekstrak air daun kelor (b)	71.83 ± 0.29
Ekstrak pekat daun kelor (c)	69.44 ± 0.96

Keterangan: (a) terhadap daun segar; (b) terhadap berat air + serbuk kelor; (c) ekstrak air daun kelor

Tujuan dari pembuatan ekstrak pekat adalah untuk menguapkan kadar air sebanyak ± 30% sehingga menyebabkan rendemen turun menjadi 69.44%. Rendemen dari ekstrak pekat lebih rendah dibandingkan dengan ekstrak air dikarenakan proses penguapan kadar air hingga ± 30% pada ekstrak pekat sedangkan pada ekstrak air terjadi pelarutan komponen larut air dari serbuk daun kelor sehingga menyisakan endapan dan komponen yang tidak larut dalam air (ampas).

Kadar Air

Kadar air adalah persentase kandungan air suatu bahan yang dapat dinyatakan berdasarkan berat basah (*wet basis*) atau berdasarkan berat kering (*dry basis*). Kadar air berat basah mempunyai batas maksimum teoritis sebesar 100%, sedangkan kadar air berdasarkan berat kering dapat lebih dari 100% (Syarief dan Halid, 1993). Data analisa kadar air ditampilkan pada Tabel 3

Tabel 3. Data Hasil Analisa Kadar Air

Sediaan	Rata-rata kadar air (%) ± SD	Rata-rata kadar air (%)*
Daun kelor segar	79.01 ± 0.19	65.89
Serbuk daun kelor	3.07 ± 0.42	7.14

Sumber: *(Syarief dan Halid (1993))

Hasil persentase kadar air dari daun kelor segar berdasarkan berat basah adalah sebesar 79.01%. Berdasarkan literatur, kadar air daun kelor segar lebih rendah yaitu sebesar 65.89% sedangkan pada serbuk daun kelor sebesar 7.14% (Anwar *et al.*, 2014). Hasil persentase kadar air pada serbuk daun kelor sebesar 3.07%. Perbedaan kadar air antara hasil analisa dengan literatur diduga karena perbedaan varietas kelor, kadar air awal pada bahan, perbedaan lama penyimpanan daun kelor, kelembaban lingkungan penyimpanan dan metode pengeringan yang digunakan. Kadar air serbuk daun kelor telah menurun signifikan dibandingkan dengan kadar air daun segar karena adanya proses pengeringan menyebabkan kadar air dari bahan menguap.

Kadar Oksalat Total

Hasil kadar oksalat total dari daun kelor segar adalah sebesar 165.28 mg/100g sedangkan menurut literatur rata-rata kadar oksalat total pada daun kelor segar lebih rendah yaitu sebesar 218 mg/100 g bahan (Radek *and* Savage, 2008). Perbedaan kadar oksalat total antara hasil analisa dengan literatur diduga karena perbedaan umur daun yang digunakan (muda dan tua), perbedaan varietas kelor, tempat tumbuhnya tanaman kelor dimana di dalam literatur menggunakan tanaman kelor dari India yang memiliki lingkungan sangat panas dan tanah serta unsur hara berbeda dengan di Indonesia, lama penyimpanan daun kelor, metode analisa dan kelembaban lingkungan penyimpanan. Data analisa kadar oksalat total ditampilkan pada Tabel 4 sedangkan oksalat yang dikonsumsi oleh tikus wistar pada setiap sediaan suplemen daun kelor ditampilkan pada Tabel 5.

Tabel 4. Data Hasil Analisa Kadar Oksalat Total pada Sediaan Suplemen

Sediaan	Rata-rata kadar oksalat total (mg/100g) ± SD	Rata-rata kadar oksalat total (mg/100g) ± SD
Daun kelor segar	165.28± 5.59	218±11.30*
Serbuk daun kelor	1987.21± 22.60	0.28**
Ekstrak air daun kelor	7.93 ± 0.51	
Ekstrak pekat daun kelor	1 ± 0.13	

Sumber: * (Radek and Savage, 2008), ** (Ezeike et al., 2011)

Tabel 5. Kadar Oksalat Total Masing-masing Sediaan Suplemen Daun Kelor dan Jumlah Oksalat yang Terkonsumsi pada Tiap Sediaan Suplemen Daun Kelor

Sediaan suplemen	Berat masing-masing suplemen (g)	Kadar oksalat total*
Daun kelor segar	-	-
Serbuk daun kelor	3.46 gram	67.57 mg/3.46 g
Ekstrak air daun kelor	5.66 gram	0.45 mg/5.66 ml
Ekstrak pekat daun kelor	4.22 gram	0.04 mg/4.09 ml

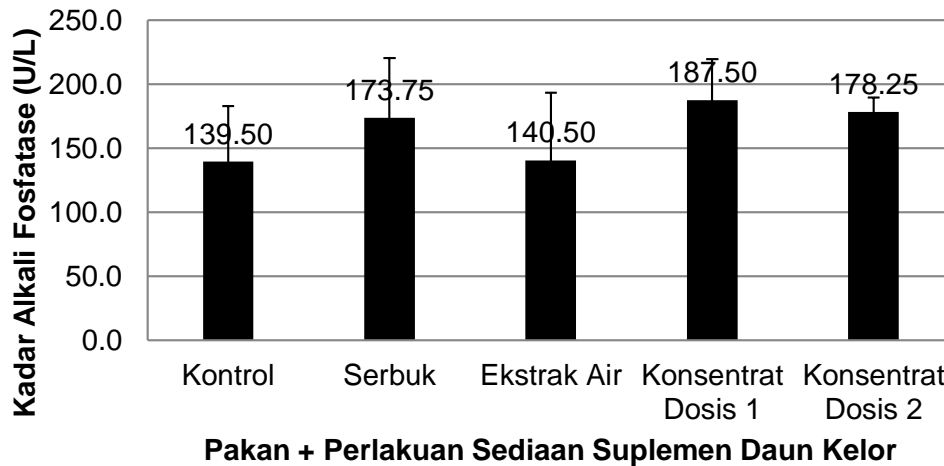
*Kadar oksalat total dihitung berdasarkan berat dari sediaan suplemen daun kelor yang dikonsumsi

Sediaan serbuk daun kelor memiliki kadar oksalat total paling tinggi diduga karena tidak adanya proses ekstraksi sehingga pada serbuk daun kelor mengandung semua jenis oksalat yaitu oksalat terlarut dan tidak terlarut. Hasil kadar oksalat total pada serbuk daun kelor lebih tinggi dari daun segar yaitu sebesar 1987.21 mg/100g karena pada proses pengeringan membuat kadar oksalat total lebih terkonsentrasi. Pengeringan akan meningkatkan efektivitas kandungan oksalat dikarenakan hilangnya kadar air dalam bahan yang disebabkan proses karena pengeringan (Noonan and Savage, 1999). Menurut literatur, kadar oksalat total dalam serbuk daun kelor sebesar 0.28 mg (Ezeike et al., 2011). Perbedaan hasil ini diduga karena metode analisis yang digunakan berbeda dimana pada pengamatan ini menggunakan metode analisis volumetri. Kenaikan proporsi kalsium oksalat juga dipengaruhi oleh sampel yang digunakan, dimana proporsi oksalat pada sampel yang lebih tua akan lebih tinggi (Suwasito, 2013).

Kadar oksalat total serbuk daun kelor lebih tinggi dibandingkan dengan daun segar diduga karena dengan berat yang sama, jumlah padatan serbuk akan lebih tinggi daripada daun segar sehingga oksalat yang teranalisis pada sampel yang telah ditimbang lebih banyak dari daun segar. Hasil kadar oksalat total pada ekstrak air daun kelor adalah sebesar 7.93%. Hasil ini jauh lebih rendah dari daun kelor segar dan serbuk daun kelor dikarenakan proses ekstraksi menggunakan metode maserasi akuades membuat kadar oksalat total tidak terlarut tertinggal di padatan (ampas). Bentuk oksalat dalam sebagian besar tanaman adalah berupa oksalat terlarut (natrium dan kalsium oksalat) dan hanya 10-20% merupakan kalsium oksalat tidak larut, terutama dalam sel (Suwasito, 2013). Kelarutan asam oksalat dalam air sebesar 8% pada suhu 10°C (Suwardi, 2011). Pada sampel ekstrak pekat mengandung kadar oksalat total paling rendah, yaitu 1 mg/100 gr. Penurunan kadar ini diduga karena proses evaporasi pada sediaan ekstrak pekat. Sejumlah kecil asam organik terdapat dalam tanaman sebagai senyawa antara dalam metabolisme (Jonni et al., 2008). Asam oksalat merupakan salah satu contoh asam organik selain asam malat, asam laktat, asam fumarat, asam piroglutamat, asam askorbat, asam sitrat dan asam tartrat (Jonni et al., 2008). Evaporasi dilakukan menggunakan *vaccum rotary evaporator* dengan menurunkan tekanan pada labu penampung pelarut dan memutar labu penampung sampel sehingga pelarut menguap lebih cepat dibawah titik didihnya dan senyawa terlarut mengendap (Buchi, 2000). Proses evaporasi ini diduga dapat menguapkan sebagian kecil asam oksalat dari 7.93 mg/100gram menjadi 1 mg/100gram.

2. Kadar Alkali Fosfatase

Alkali fosfatase (ALP) adalah kelompok enzim yang bekerjamenghidrolisis ester fosfat pada suasana alkali dengan cara melepaskan fosfor (asam mineral) sehingga menghasilkan sebuah pH alkali (Kaslow, 2013). Kadar alkali fosfatase normal pada tikus putih sebesar 174-589 U/L (University Animal Care Pathology Service, 2014). Semakin tinggi kadar alkali fosfatase dalam serum menunjukkan kerusakan hepar yang semakin besar. Hasil analisis non parametrik dengan Kruskal-Wallis menunjukkan bahwa perbedaan bentuk sediaan suplemen daun kelor tidak berpengaruh nyata ($\alpha = 0.05$) antara pemberian sediaan daun kelor terhadap kadar alkali fosfatase total pada tikus wistar jantan. Grafik pengamatan alkali fosfatase (U/L) dari serum darah tikus wistar jantan yang diberi sediaan serbuk daun kelor, ekstrak air, ekstrak pekat dosis 1 dan ekstrak pekat dosis 2 ditampilkan pada Gambar 1.



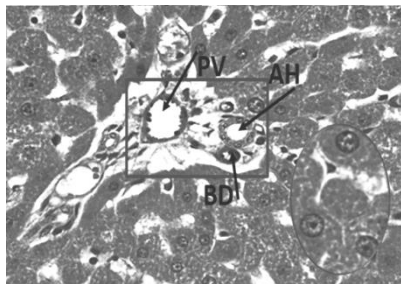
Gambar 1. Rerata Total ALP (U/L) Serum Darah Tikus Wistar Jantan yang diberi Sediaan Serbuk Daun Kelor (3.46 gram), Ekstrak Air (5.56 ml), Ekstrak pekat Dosis 1 (4.09 ml) dan Ekstrak pekat Dosis 2 (8.18 ml) setelah 64 Hari

Gambar 1 menunjukkan bahwa kadar alkali fosfatase tikus jantan pada seluruh kelompok perlakuan memiliki nilai yang normal (139-187 U/L). Hasil kadar alkali fosfatase dengan perilaku tikus wistar berbanding lurus dimana tidak terdapat perilaku yang menunjukkan adanya efek toksik dari sediaan suplemen daun kelor terhadap tikus wistar. Beberapa perlakuan menunjukkan kadar alkali fosfatase justru dibawah nilai normal. Hal ini diduga karena terjadi penurunan aktivitas alkali fosfatase di dalam tubuh tikus percobaan. Tingkat enzim alkali fosfatase dalam darah dipengaruhi oleh usia, jenis kelamin, golongan darah dan kesehatan hepar, empedu dan tulang. Semakin tua umur tikus wistar aktivitas alkali fosfatase akan semakin menurun. Kadar alkali fosfatase yang normal diduga karena kadar oksalat total pada daun kelor relatif rendah dan dosis sediaan yang diberikan belum mencapai kerusakan fatal pada organ. Kadar oksalat total sediaan daun kelor pada penelitian ini yaitu sebesar 0.16 gram/100 gram pada daun segar, 1.99 gram/100 gram pada serbuk daun, 0.08 gram/100 gram pada ekstrak air dan 0.00 gram/100 gram pada ekstrak pekat ekstrak air (Tabel 5). Dosis letal asam oksalat pada manusia dewasa adalah sebesar 15-30 gram per hari. Sedangkan dosis letal terendah melalui intravena manusia adalah 17 mg/kg (KBPOM, 2012).

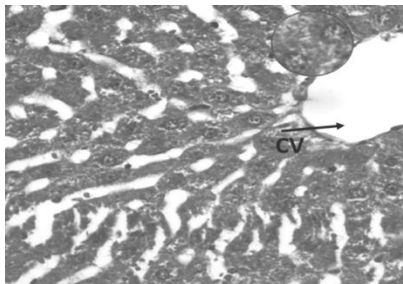
Selain itu, daun kelor memiliki kandungan antioksidan yaitu flavonoid. Flavonoid merupakan salah satu kelompok senyawa fenol yang memiliki sifat antioksidatif serta berperan dalam mencegah kerusakan sel dan komponen selulernya oleh radikal bebas reaktif (Redha, 2010). Flavonoid merupakan senyawa polifenol mempunyai kemampuan untuk menyumbangkan atom hidrogen kepada senyawa radikal bebas dan dapat menghambat oksidasi lipid, maka aktivitas antioksidan senyawa polifenol dapat dihasilkan pada reaksi netralisasi (Handayani *et al.*, 2004).

3. Histopatologi Hepar

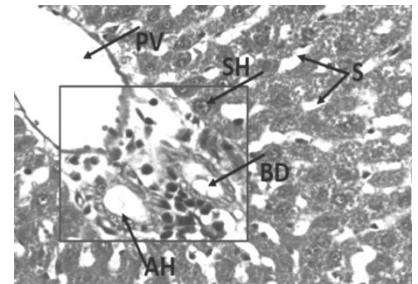
Pengamatan histopatologi hepar bertujuan untuk melihat kerusakan sel hepar pada tikus wistar jantan yang diberikan perlakuan sediaan serbuk daun kelor, ekstrak air, ekstrak pekat dosis 1 dan ekstrak pekat dosis 2. Data hasil pengamatan ditampilkan pada Gambar 2. Hepar merupakan organ pertama setelah saluran pencernaan yang terpapar oleh bahan-bahan yang bersifat toksik sehingga paling berpotensi mengalami kerusakan dikarenakan posisi hepar berada di antara permukaan absorptif dari saluran cerna dan target obat. Sebagian besar toksikan masuk ke dalam tubuh melalui sistem digesti, setelah diserap kemudian toksikan dibawa oleh vena porta ke hepar (Natalia, 2014). Berdasarkan hasil histopatologi pada Gambar 2, menunjukkan bahwa pada kelompok kontrol tanpa suplemen menunjukkan sel hepatosit yang normal. Terlihat dari susunan sel hepatosit yang normal, tidak adanya pembengkakan (edema) dan teratur dengan inti sel yang masih terlihat (Gambar 2).



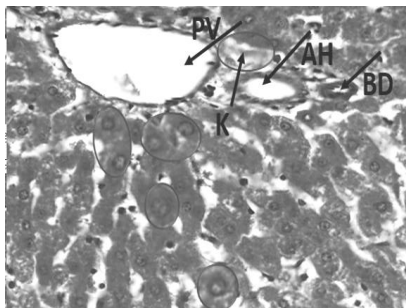
a. Kelompok kontrol (tanpa suplemen) menunjukkan sel hepatosit normal



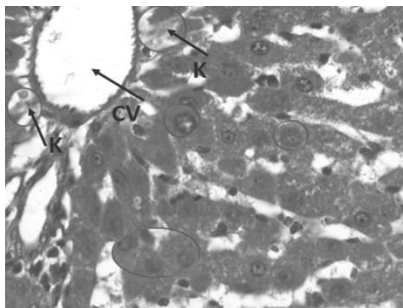
b. Kelompok suplemen serbuk daun kelor menunjukkan sel hepatosit mengalami degenerasi parenkimatosa



c. Kelompok suplemen ekstrak air daun kelor menunjukkan sel hepatosit normal



d. Kelompok suplemen ekstrak pekat daun kelor dosis 1 menunjukkan sel hepatosit mengalami degenerasi parenkimatosa dan kolestasis



e. Kelompok suplemen ekstrak pekat daun kelor dosis 2 menunjukkan sel hepatosit mengalami degenerasi parenkimatosa dan kolestasis

Gambar 2. Gambaran Histopatologi Sel Hepar Tikus Wistar Jantan Perbesaran 400x dengan Pewarnaan HE – CV = Central Vena; PV = Portal Vena; AH = Artery Hepatic; BD = Bile Duct S = Sinusoid; K = Kolestasis

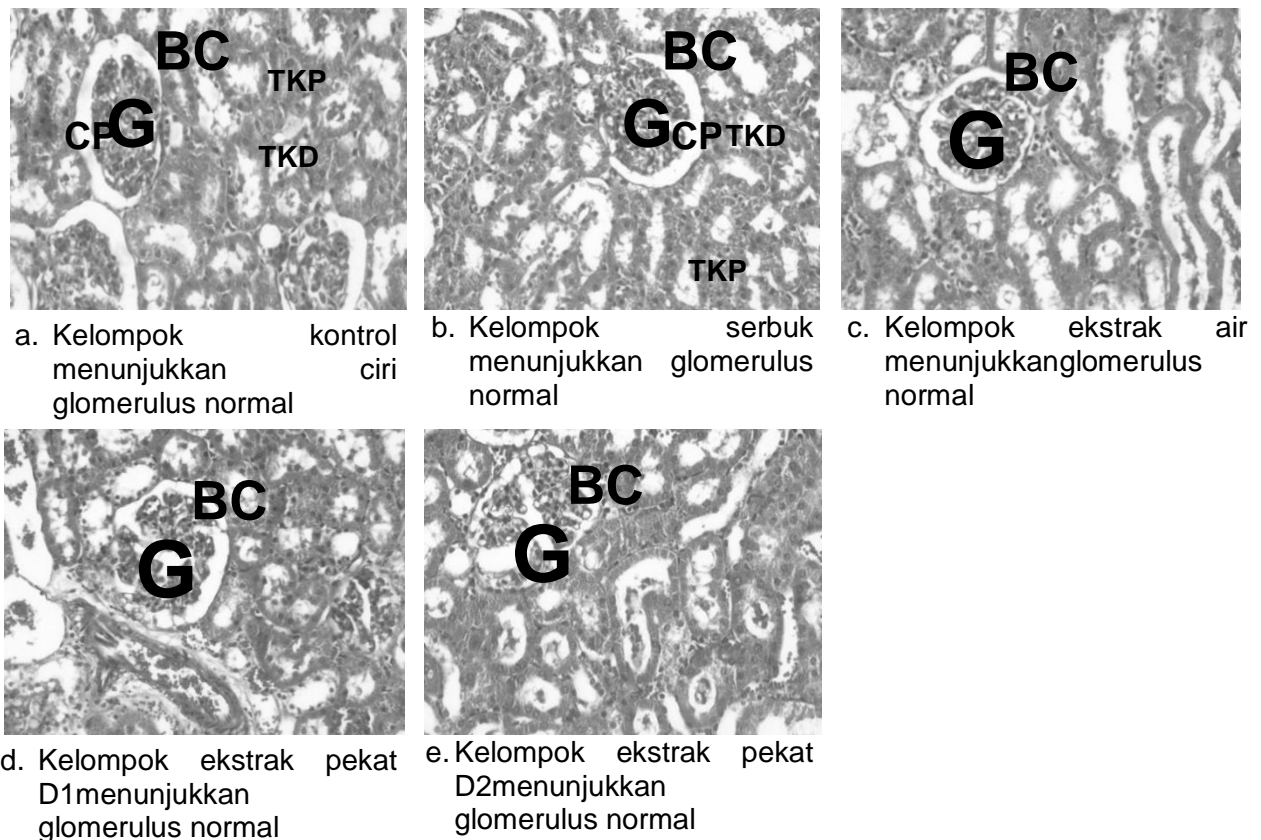
Sel hepatosit pada kelompok suplemen serbuk daun kelor tersusun normal, namun ada beberapa sel hepatosit yang mengalami degenerasi parenkimatosa. Pada kelompok suplemen ekstrak air daun kelor menunjukkan sel hepatosit yang normal. Terlihat dari susunan sel hepatosit yang normal, tidak adanya pembengkakan (edema) dan teratur dengan inti sel yang masih terlihat. Kelompok ekstrak pekat daun kelor dosis 1 terlihat sel hepatosit yang tersusun normal, namun ada beberapa sel hepatosit yang mengalami degenerasi parenkimatosa. Sel hepar juga mengalami degenerasi hidropik dan kolestasis pada kelompok pemberian ekstrak pekat daun kelor dosis 1. Sel hepatosit kelompok ekstrak pekat daun kelor dosis 2 tersusun normal, namun ada beberapa sel hepatosit yang mengalami degenerasi

parenkimatosa. Sel hepar juga mengalami degenerasi hidropik dan kolestasis pada kelompok pemberian ekstrak pekatdaun kelor dosis 2.

Dalam penelitian ini, degenerasi sel diduga terbentuk akibat adanya oksalat dalam daun kelor. Asam oksalat memiliki gugus hidroksil fenolik (-OH) yang memiliki sifat oksidatif stres yang menimbulkan aktivitas sitotoksik apabila diberikan dalam jangka waktu yang lama dan dosis yang tinggi (Batova *et al.*, 2010). Gugus hidroksil fenolik (-OH) berperan penting dalam *uncoupling* (pemutusan rangkaian) rantai pernafasan di mitokondria (Nirwana, 2015). Adanya cedera pada mitokondria menyebabkan terjadinya penurunan produksi ATP sehingga sel mengalami kerusakan karena kondisi sel bergantung pada metabolisme oksidatif di mitokondria (Kumar *et al.*, 2007). Penambahan atau pelepasan gugus fungsional (-OH) terjadi pada reaksi biotransformasi obat di hepar pada fase 1 sehingga dampak sitotoksik asam oksalat diduga dapat terjadi di hepar (Katzung, 2009).

3. Histopatologi Ginjal

Fungsi utama ginjal yaitu mengeluarkan limbah hasil detoksifikasi. Kegagalan fungsi ginjal dapat terjadi jika organ dirusak oleh bahan yang bersifat toksik. Data hasil pengamatan ditunjukkan pada Gambar 3.



Gambar 3. Gambaran Histopatologi Sel Ginjal Tikus Wistar Jantan Perbesaran 400x dengan Pewarnaan HE – G = Glomerulus; CP = *Capsular space*; BC = *Capsula Bowman*; TKP = *Tubulus Kontortus Proksimal*; TKD = *Tubulus Kontortus Distal*

Pengamatan histopatologi ginjal bertujuan untuk melihat kerusakan glomerulus pada tikus wistar jantan yang diberikan perlakuan sediaan suplemen daun kelor, ekstrak air daun kelor, ekstrak pekatdaun kelor dosis 1 dan ekstrak pekatdaun kelor dosis 2. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa seluruh kelompok perlakuan yang diberi suplemen serbuk daun kelor, suplemen ekstrak air daun kelor, suplemen ekstrak pekatdaun kelor dosis 1 dan suplemen ekstrak pekatdaun kelor dosis 2 pada Gambar 3 menunjukkan bahwa susunan glomerulus pada seluruh kelompok adalah normal yang menandakan fungsi filtrasi ginjal masih

berlangsung normal. Komponen dalam unit ginjal seperti glomerulus, ruang bowman dan capsula bowman masih dapat teramati dengan jelas pada seluruh kelompok perlakuan. Sel tubulus kontortus proksimal terlihat normal pada semua kelompok perlakuan. Hal ini menunjukkan bahwa sediaan ekstrak pekat daun kelor tidak bersifat toksik pada sel ginjal atau sel ginjal tidak mengalami kondisi stress yang berat akibat pemberian sediaan daun kelor (Richard *et al.*, 2003). Zat aktif pada obat herbal terutama daun kelor umumnya berupa metabolit sekunder sedangkan satu tanaman dapat menghasilkan beberapa metabolit sekunder sehingga memungkinkan tanaman tersebut memiliki lebih dari satu efek farmakologi. Efek tersebut dapat saling mendukung tetapi juga dapat berlawanan atau kontradiksi (Pramono, 2001). Disatu sisi obat herbal memiliki keunggulan yang berguna untuk meminimalisir efek samping yang merugikan. Beragamnya bahan kimia aktif yang terdapat dalam tanaman akan bekerja secara sinergi untuk menghasilkan efek terapeutik yang diharapkan dan efek ini dapat hilang atau dapat menimbulkan efek merugikan ketika bahan kimia tersebut dimurnikan atau diisolasi (Nirwana, 2015). Faktor lain yang dapat menunjukkan sel ginjal normal adalah dikarenakan zat toksik yaitu oksalat telah terjadi biotransformasi di dalam hepar sehingga ketika ditransportasi menuju ginjal, oksalat lebih mudah diekskresioleh ginjal. Selain itu, kristal oksalat di dalam kelor belum terjadi penumpukan yang fatal pada organ ginjal. Apabila kristal oksalat sudah menumpuk pada organ ginjal, maka sel ginjal akan menunjukkan terjadinya degenerasi.

SIMPULAN

Hasil penelitian uji toksisitas sediaan suplemen kalsium daun kelor menunjukkan bahwa sediaan daun kelor mengandung asam oksalat yang tergolong rendah, masing-masing sebesar 165.28 mg/100 gram pada daun segar, 1987.21 mg/100 gram pada serbuk daun kelor, 7.93 mg/100 gram pada ekstrak air daun kelor, dan 1 mg/100 gram pada ekstrak pekat daun kelor.

Efek toksik berdasarkan aktivitas alkali fosfatase masih dalam *range* normal (174 – 589 U/L) dengan hasil alkali fosfatase tertinggi pada kelompok ekstrak pekat dosis 1 yaitu sebesar 187.50 U/L, diikuti kelompok ekstrak pekat dosis 2 178.25 U/L, kelompok serbuk 173.75 U/L dan ekstrak air 140.50 U/L. Efek toksisitas berdasarkan histopatologi hepar menunjukkan kerusakan ringan yang bersifat reversibel yaitu adanya degenerasi parenkimatososa pada kelompok serbuk, dan terjadi degenerasi parenkimatososa, hidropik, dan kolestasis pada kelompok ekstrak pekat dosis 1 dan dosis 2. Efek toksisitas berdasarkan histopatologi ginjal menunjukkan fungsi filtrasi ginjal seluruh kelompok perlakuan masih berlangsung normal.

DAFTAR PUSTAKA

- Anwar, S. Yulianti, E. Hakim, A. Fasya, A.G. Fauziyah dan B. Muti'ah, R. 2014. Uji Toksisitas Ekstrak Akuades (Suhu Kamar) dan Akuades Panas (700C) Daun Kelor (*Moringa Oleifera Lamk*) terhadap Larva Udang *Artemia Salina Leach*. *J. ALMCHEMY* Vol. 3(1): 84-92
- Association of Official Analytical Chemist(AOAC). 1999. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemist. Association of Official Analytical Chemist. Washington. USA
- Batova, A., Altomare, D. and Chanatarasriwong, O. 2010. Molecular Cancer Therapeutics: The Synthetic Caged Garcinia Xanthone CLuvenone Induce Cewll Stress and Apoptosis and Has Immune Modulatory Activity. American Association for Cancer Research. <http://mctaacrjournals.org/content/9/11/2869.full>. Tanggal akses:25/7/2017
- Buchi Labortechnik AG. 2000. Buchi Rotavapor R-200/205. <http://www.americaninstrument.com/pdf/2066D-EVAP.pdf>. Tanggal akses: 13/8/2017
- Ezeike CO, Aguzue O.C. and Thomas, S.A. 2011. Effect Of Brewing Time And Temperature On The Release Of Manganese And Oxalate From Lipton Tea And *Azadirachta indica*(Neem), *Phyllanthus amarus* And *Moringa oleifera* Blended Leaves. *J Appl Sci Envir Manag* Vol. 15:175-17

- Food and Drug Administration. 2005. Guidance for Industry Estimating the Maximum Safe Starting Dose In Initial Clinical Trials for Therapeutics in Adult Healthy Volunteers. Pharmacology and Toxicology, Maryland USA
- Fuglie, L., J.2001. The Miracle Tree: *Moringa Oleifera*: Naatural Nutrition for the Tropics, (Church World Service, Dakar, 1999). pp: 68. Revised in 2001 and published as The Miracle Tree: The Multiple Attributes of Moringa
- Handayani, T., Sutarno dan A. D. Setyawan. 2004. Analisis Komposisi Nutrisi Rumput Laut *Sargassum Crassifolium* J. Agardh. Jurnal Biofarmasi Vol. 2 No. 2: 45-52. ISSN: 1693-2242.<http://biosains.mipa.uns.ac.id/F/F0202/F020201.pdf>. Tanggal akses: 18/8/2017
- International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (IFCC). 2006. Alkaline Phosphatase acc. to IFCC Gen.2. Cobas C Systems.Milano
- Iwuoha I. Chinyere., and Kalu F. A. 1995. Calcium Oxalate dan Physico-chemical Properties of Cocoyam (*Colocasia esculanta* and *Xanthosoma sagittifolium*) Tuber Flours as Affected by Processing. J. Food Chem. 54:61-66
- Jonni, M., S., Sitorus, M., Katharina, dan Nelly. 2008. Cegah Malnutrisi dengan Kelor. Penerbit Kanisius, Yogyakarta
- Kaslow, Jeremy. 2013. Alkaline Phosphatase (Article).http://www.drkaslow.com/html/alkaline_phosphatase.html. Tanggal akses: 16/2/2017
- Kasolo, J.N., Bimeya, G.S., Ojok, L., Ochieng, J., Okwal-okeng, J.W. 2010. Phytochemicals and Uses of Moringa oleifera Leaves in Ugandan Rural Communities. Journal of Medical Plant Research. Vol. 4(9): 753-757
- Katzung, B. G. 2009. Farmakologi Dasar dan Klinik. Ed11. Terjemahan oleh H. Azwar Agoes et al. 1997. Jakarta. EGC Kiernan JA. 2001. Histological and Histochemical Methods. 3rd Ed. Toronto. Arnold Pub. Pp. 330-354
- Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan. 2012. Sentra Informasi Keracunan Nasional. Pusat Informasi Obat dan Makanan Badan POM RI Tahun 2012 tentang Sodium Oksalat.<http://ik.pom.go.id/v2015/katalog/Sodium%20Oxalate.pdf>. Tanggal akses: 17/8/2017
- Kumar V, Cotran RS, Robbins SL. 2007. Buku ajar patologi 7nd ed, Vol. 2. Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta
- Nambiar, V. S. and Seshadri, S. 2007. Selected nutrients and non nutrients in seventeen common and uncommon green leafy vegetables of western India. J Ind Dietet Asso Vol. 32(1):22-30
- Natalia, Eka., Dessy. 2014. Uji Toksisitas Akut Tepung Glukomanan (*A. Muelleri* Blume) Terhadap Nilai Kalium Tikus Wistar. Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya, Malang
- Ngatidjan, P.S. 2006. Metode laboratorium dan Toksikologi. Bagian Farmakologi dan Toksikologi. Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta
- Nirwana, Galuh. 2015. Uji Toksisitas Subkronik Ekstrak Etanol Kulit Manggis (*Garcinia mangostana* L.) Terhadap Sel Hepar Tikus (*Rattus norvegicus*) Galur Wistar. Skripsi Sarjana. Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Malang
- Noonan, S.C., and Savage, G.P. 1999. Oxalic Acid Content of Foods and its Effect on Human. Asia Pacific J Clin Nutr., 8: 64-74
- Pramono, Katno. 2001. Tingkat Manfaat dan Keamanan Tanaman Obat dan Tanaman Obat Tradisional. Tawangmangu: Balai Penelitian Tanaman Obat Tawangmangu
- Radek, M., and Savage, G. P. 2008. Oxalates In Some Indian Green Leafy Vegetables. International Journal of Food Sciences and Nutrition 59: 246-260.<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18335334>. Tanggal akses: 18/8/2017
- Redha, Abdi. 2010. Flavonoid: Struktur, Sifat Antioksidatif dan Peranannya dalam Sistem Biologis. Jurnal Belian Vol. 9 No.2: 196-202.<http://repository.polnep.ac.id/xmlui/bitstream/handle/123456789/144/13-Abdi.pdf?sequence=1>. Tanggal akses: 18/8/2017

- Richard, N., Michel, M.D., Ramzi, S. and Cotran. 2003. Jejas, Adaptasi dan Kematian Sel. In: Robins Pathologic Basic of Disease. 7th ed. Alih Bahasa: Prasetyo A, Pendit U.B, Priliono T. Vol. 1:3-28. EGC, Jakarta
- Sudarmadji S, Haryono, B., Suhardi. 1984. Prosedur Analisa untuk Bahan Makanan dan Pertanian. Liberty. Yogyakarta
- Suwardi, 2011. Analisa Kadar oksalat total dalam Daun Bayam yang Sudah Dimasak dengan Metode Spektrofotometri UV. Fakultas Tarbiyah dan Keguruan Universitas Islam Negeri Sultan Syarif Kasim Riau, Pekanbaru
- Suwasito, T. S. 2013. Pengaruh Lama Penggilingan Porang (*Amorphophallus muelleri* Blume) dengan Metode Ball Mill Terhadap Sifat Fisik dan Kimia Tepung Porang. Skripsi. Universitas Brawijaya, Malang
- Swarjana, I. Ketut. 2012. Metodologi Penelitian Kesehatan Penerbit ANDI. Jakarta
- Syarief, R. dan H. Halid. 1993. Teknologi Penyimpanan Pangan. Arcan, Jakarta
- University Animal Care Pathology Service (2014). Normal Clinical Chemistry Values.https://uac.arizona.edu/sites/uac/files/reference_value_chart_2014_website_2.pdf. Dilihat 7 Juli 2017