

POTENSI SARI BIJI KEDELAI (*Glycine max*), SARI RIMPANG JAHE (*Zingiber officinale*) DAN KOMBINASINYA TERHADAP KADAR MALONDIALDEHIDA (MDA) DAN DIAMETER GLOMERULUS GINJAL PADA TIKUS MODEL DIABETES TIPE II

Daksa Wiladipta, Amelia Pramono, Yudi Purnomo
Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang
Email: daksa.wiladipta06@gmail.com

ABSTRAK

Pendahuluan: Nefropati diabetik adalah bentuk komplikasi mikrovaskuler yang ditandai kerusakan fungsi ginjal secara progresif akibat Diabetes Mellitus (DM). Rimpang jahe (*Zingiber officinale*) dan biji kedelai (*Glycine max*) adalah herbal yang digunakan sebagai alternatif antidiabetes dan komplikasinya, namun penelitian tentang kombinasi keduanya masih sedikit dilaporkan. Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan efek biji kedelai, rimpang jahe, dan kombinasinya terhadap diabetik nefropati dengan mengamati kadar malondialdehida ginjal dan diameter ginjal pada tikus DM.

Metode: Penelitian ini menggunakan tikus *sprague dawley* dibagi menjadi 2 kelompok kontrol dan 4 kelompok perlakuan. Hewan coba diinduksi dengan diet tinggi lemak fruktosa (DTLF) dan streptozotocine 25 mg/kgBB *intraperitoneal* (i.p) *multiple dose*. Sari biji kedelai 5000 mg/kgBB, sari rimpang jahe 500 mg/kg BB, kombinasi kedelai jahe 1 (delja 1) 2500 : 250 mg/kgBB dan kombinasi delja 2 5000 : 500 mg/kgBB diberikan per oral selama 30 hari. Kadar MDA Ginjal diukur dengan MDA *microplate reader* dan diameter glomerulus diukur menggunakan mikroskop trinokuler dengan panjang garis tengah glomerulus. Analisis data menggunakan one way ANOVA dan uji LSD dengan nilai signifikansi $p < 0,05$.

Hasil: Pemberian sari biji kedelai, rimpang jahe, kombinasi delja 1 dan 2 menurunkan kadar malondialdehida ginjal berturut-turut sekitar 60%, 20%, 10% dan 50% dibandingkan kelompok kontrol positif ($p < 0,05$). Diameter glomerulus diturunkan sekitar 10-20% pada kelompok kedelai, jahe, delja 1 dan delja 2 dibandingkan kelompok kontrol positif ($P < 0,05$). Sementara induksi DM pada kelompok kontrol positif meningkatkan kadar malondialdehida ginjal dan diameter glomerulus berturut-turut sekitar empat kali lipat dan 30% dibandingkan kelompok kontrol normal ($p < 0,05$).

Kesimpulan: Pemberian sari biji kedelai, rimpang jahe dan kombinasinya menurunkan kadar malondialdehida ginjal dan diameter glomerulus tikus model DM tipe II.

Kata Kunci: Kedelai, jahe, kombinasi, MDA ginjal, diameter glomerulus, diabetes.

POTENCY OF SOYBEAN (*Glycine max*) SEED EXTRACT, GINGER (*Zingiber officinale*) RHIZOME AND ITS COMBINATION ON MALONDIALDEHIDA LEVELS AND DIAMETER OF THE GLOMERULAR KIDNEY DIABETIC RAT

Daksa Wiladipta, Amelia Pramono, Yudi Purnomo
Faculty of Medicine, University of Islam Malang
Email: daksa.wiladipta06@gmail.com

ABSTRACT

Introduction: Diabetic nephropathy is microvascular complication that progressively deteriorates kidney function due to Diabetes Mellitus (DM). Soybean seeds (*Glycine max*) and ginger rhizomes (*Zingiber officinale*) are herbs used as an alternative as antidiabetic and its complications, research on the combination of both are still rarely reported. The aim of the study to investigate the effect of soybean seeds, ginger rhizomes, and their combinations on Malondialdehida levels and diameter of glomerulus kidney in DM rat.

Methods: This study used *sprague dawley* male rats divided into 2 control groups and 4 treatment groups. The rats were induced with a high-fat-fructose diet and streptozotocin 25 mg/kgBB *intraperitoneal* (i.p) *multiple dose*. Soybean seed extract 5000 mg/kgBB, ginger rhizome extract 500 mg/kgBB, combination *delja* 1 2500 : 250 mg/kgBB and combination *delja* 2 5000 : 500 mg/kgBB given orally for 30 days. Malondialdehida levels measured by MDA *microplate reader* and Diameter of glomerulus measured using microscope trinocular with the length of the glomerular diameter. Data was analyzed using one way ANOVA and LSD test with significance $p < 0.05$.

Results: The administration of soybean seed extract, ginger rhizome, combination *delja* 1 and 2 decreased malondialdehida levels by approximately 60%, 20%, 10% and 50% compared to the positive group ($p < 0.05$). Glomerular diameter decreased about 10-20% in the soybean extract, ginger rhizome, combination *delja* 1 and *delja* 2 groups compared to the positive control group ($p < 0.05$). Meanwhile DM induction on the positive control group increased four times malondialdehida levels and glomerular diameter for about 50% compared to the normal control group ($p < 0.05$).

Conclusion: The administration of soybean seed extract, ginger rhizome and its combination reduce malondialdehida of kidney levels and reduce diameter of glomerular in DM models.

Keywords: Soybean, ginger, combination, MDA, diameter of glomerulus, diabetes

PENDAHULUAN

Nefropati diabetik masih menjadi permasalahan kesehatan di berbagai negara dunia. Nefropati diabetik merupakan komplikasi mikrovaskuler yang ditandai kerusakan fungsi ginjal secara progresif akibat Diabetes Mellitus (DM). Komplikasi nefropati diabetik ditemukan kurang lebih 20 – 40 % pada pasien DM dan sebagian besar berlanjut menjadi gagal ginjal terminal¹. Pada tahun 2014 pasien diabetik nefropati menduduki urutan kedua penyebab gagal ginjal stadium akhir dengan jumlah sekitar 27% dan jumlah tersebut cenderung mengalami peningkatan².

Kondisi stress oksidatif berperan terhadap terjadinya komplikasi nefropati diabetik. Hiperglikemia kronis pada DM akan meningkatkan produksi *Reactive Oxygen Spesies* (ROS). Pembentukan ROS yang berlebih tanpa didukung jumlah antioksidan yang memadai menimbulkan kondisi stress oksidatif³. Pada kondisi stress oksidatif membran sel rentan mengalami peroksidasi lipid dan menghasilkan produk *Malondialdehyde* (MDA)⁴. Peningkatan kadar MDA merupakan petanda terjadinya kerusakan oksidatif jaringan⁵.

Produksi ROS yang meningkat pada hiperglikemi memicu perubahan hemodinamika yaitu penurunan produksi *Nitric Oxide* (NO)⁶. Penurunan kadar NO dapat menstimulasi sel podosit glomerulus untuk membentuk *Vaskuler Endothelial Growth Factor* (VEGF)⁷. Peningkatan ekspresi VEGF merubah transkripsi sinyal intraseluler menjadi bersifat proliferasif pada sel podosit, sel endotel dan sel mesangial di membrane basement glomerulus⁸. Proliferasi sel tersebut menyebabkan ukuran diameter glomerulus meningkat⁹. Peningkatan diameter glomerulus berperan dalam tahap awal terjadinya diabetik nefropati. Diabetik nefropati ditandai dengan mikroalbuminuria oleh karena kerusakan fungsi akibat perubahan peningkatan diameter glomerulus¹⁰.

Berdasarkan data empirik ekstrak rimpang jahe dalam bentuk seduhan telah digunakan oleh masyarakat luas untuk obat anti-diabetes¹¹. Senyawa aktif seperti flavonoid dan oleoresin pada Jahe (*Zingiber officinale*) memiliki peran sebagai antioksidan, meningkatkan sekresi insulin dan sensitizer insulin¹². Sedangkan produk dari biji kedelai seperti susu kedelai dipercaya dapat menurunkan kadar gula darah¹³. Kedelai (*Glycine max*) mengandung senyawa aktif isoflavon dan genistein berkontribusi menurunkan resistensi insulin, mengontrol kadar gula darah dan menurunkan kadar kolesterol¹⁴.

Kombinasi herbal sering digunakan pengobatan tradisional dengan tujuan menurunkan efek samping dan mengoptimalkan efektivitas pengobatan. Penelitian kombinasi sari biji kedelai dan rimpang jahe untuk mengendalikan diabetes dan komplikasinya masih sedikit dilakukan. Berdasarkan latar belakang tersebut maka perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui potensi sari

biji kedelai dan ekstrak rimpang jahe serta kombinasinya terhadap diabetik nefropati dengan mengamati kadar MDA ginjal dan diameter glomerulus.

METODE

Penelitian ini menggunakan metode experimental (*True Experimental Study Design*) secara *in vivo* dengan desain penelitian *control group post test only design*. Penelitian ini dilakukan di laboratorium Biosains Universitas Brawijaya, laboratorium Patologi Anatomi Universitas Brawijaya, dan laboratorium terpadu Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang. Penelitian ini telah disetujui oleh komisi etik universitas brawijaya malang dengan sertifikat etik No.823-KEP-UB tahun 2017.

Hewan Coba

Hewan coba yang digunakan adalah tikus *Sprague Dawley*. Tikus ditempatkan di kandang individual dengan kondisi tidak lembab, ventilasi yang cukup dan penyinaran yang cukup (14 jam terang dan 10 jam gelap). Pada penelitian ini, tikus dibedakan menjadi 6 kelompok yang terdiri dari 2 kelompok kontrol yakni kelompok kontrol normal (KN) dan kelompok kontrol perlakuan (KP), dan 4 kelompok perlakuan yakni kelompok kedelai, jahe, kombinasi kedelai jahe (delja) I dan delja II.

Pembuatan Tikus Model Diabetes

Tikus diberikan Diet Tinggi Lemak Fruktosa (DTLF) dengan komposisi susu pap (60%), kuning telur (5%), lemak sapi (25%) dan lemak kambing (10%) dalam pakan 25 gram/ekor/hari¹⁰. Fruktosa 20% dicampur dalam air minum sebanyak 50 ml/ekor/hari¹¹. Setelah 9 minggu pemberian DTLF dilakukan injeksi Streptozotocine (STZ) 25 mg/kgBB *multiple dose* intraperitoneal¹². Kadar gula darah puasa diukur 3 hari setelah induksi STZ dan dinyatakan DM apabila kadar glukosa darah puasa ≥ 126 mg/dl¹³.

Pembuatan Ekstrak Biji Kedelai, Rimpang Jahe dan Kombinasinya

Penelitian ini menggunakan biji kedelai (*Glycine max*) varietas argo mulyo dengan surat keterangan determinasi nomer 074/241/102.102.7/2017, serbuk jahe (*Zingiber officinale*) dengan surat keterangan determinasi nomer 074/211/102.7/2017 dan telah dideterminasi oleh Balai Materia Medika, Batu, Jawa Timur.. Pembuatan sari biji kedelai dilakukan dengan metode digesti dengan cara biji kedelai 80 gram dipanaskan selama 15 menit dan rendam selama 12 jam sampai kulit ari lepas. Biji kedelai kemudian diblender dengan menambahkan 80 ml air. Sari biji kedelai yang telah diperoleh lalu ditambahkan air hingga 100 ml dan dipanaskan pada suhu 50°C.. Dosis sari biji kedelai yang diberikan untuk hewan coba adalah 5000 mg/kgBB¹⁴. Dosis sari rimpang jahe yang diberikan adalah 500 mg/kgBB¹⁵. Sari jahe dibuat secara infudasi dengan cara memanaskan 15 ml air hingga suhu 90°C kemudian ditambahkan

1500 mg serbuk jahe dan dibiarkan selama 15 menit hingga dingin. Bentuk kombinasi didapatkan melalui pencampuran sari biji kedelai dan rimpang jahe dengan 2 kombinasi dosis yaitu kombinasi 1 2500 : 250mg/kgBB dan kombinasi 2 5000 : 500 mg/kgBB kemudian dihangatkan pada suhu 50°C^{16,17}.

Preparasi Sampel Jaringan Histopatologi Organ

Pengorbanan dilakukan dengan teknik dislokasi servikal untuk mendapatkan jaringan atau organ. Lalu dilakukan pengambilan organ ginjal, dibilas dengan larutan fisiologis Natrium Chloride (NaCl) dan disimpan dalam wadah penyimpanan. Kemudian Pembuatan preparat histopatologi glomerulus diawali dengan merendam glomerulus kedalam larutan fiksatif. Setelah 2 hari, glomerulus yang telah dipotong kemudian di proses dengan teknik *dehydration* untuk mengeluarkan cairan dalam jaringan agar dapat diisi dengan parafin. Kemudian lakukan *clearing* yakni mengeluarkan zat penarik air dan diganti dengan xylol. Dilanjutkan dengan infiltration yakni mengeluarkan xylol dan diganti dengan parafin. Parafin kemudian dibentuk dalam blok parafin dan diiris menggunakan mikrotom. Setelah diiris dengan mikrotom, preparat selanjutnya diwarnai dengan diberi pewarna *haematoxylin* dan *eosin*.

Pemeriksaan Kadar Malondialdehida Ginjal

Pengukuran MDA ginjal dilakukan preparasi sampel organ ginjal dilakukan dengan cara menyiapkan organ dengan berat 200mg. Kemudian Bahan dihancurkan, dilarutkan dan di centrifugasi untuk mendapatkan supernatan. selanjutnya Pengukuran sampel dimulai dengan cara

menambahkan 50 µL larutan standar atau sampel ke dalam *well*. *Well* yang sudah terisi larutan standar atau sampel kemudian ditambahkan *Biotinylated Detection Ab* pada masing-masing *well*. *Microplate* ditutup dengan sealer dan inkubasi pada suhu 37°C selama 45 menit. Aspirasi pada masing-masing *well* kemudian ditambahkan *wash buffer* sebanyak 350 µL dan cuci sebanyak 3 kali. 100 µL *Concentrated HRP Conjugate Working Solution* dimasukan kedalam *well*, kemudian ditutup dengan *sealer* dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit. Aspirasi kemudian cuci sebanyak 5 kali. Tambahkan substrat reagent sebanyak 90µL pada masing-masing *well*, kemudian tutup dengan sealer dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 15 menit. Masukan *stop solution* pada masing-masing *well* sebanyak 50µL. Terakhir baca menggunakan *microplate reader* dengan panjang gelombang 450 nm dengan satuan ng/ml.

Pemeriksaan Diameter Glomerulus

Preparat sel yang telah dilakukan pewarnaan *Hematoxylin Eosin* (HE) diamati dibawah mikroskop trinokuler dengan pembesaran 400 kali pada 3 lapang pandang. Pengamatan pada diameter glomerulus meliputi pengukuran panjang garis tengah glomerulus

Teknik Analisa Data

Data yang diperoleh dilakukan uji normalitas dan homogenitas terlebih dahulu kemudian setelah dinyatakan terdistribusi normal dilakukan uji beda menggunakan *one way ANOVA*. Selanjutnya dilakukan uji *least significance different* (LSD) untuk mengetahui perbandingan antar perlakuan. Hasil dinyatakan bermakna apabila nilai $p < 0,05$. Analisa data dilakukan dengan memakai *software* uji statistik SPSS versi 22.

HASIL DAN ANALISA DATA

Karakteristik hewan coba yang digunakan dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Karakteristik sampel

n=5	KN	KP	Kedelai 5000 mg/KBB	Jahe 500 mg/kgBB	Delja I 2500:250 mg/kgBB	Delja II 5000:500 mg/kgBB
BB-awal (g)	285.4±18,6	246.5±26.5	217.2±19.9	224.3±19.0	254.6±20.7	233±19.3
BB pre-treat (g)	352.7±29.7	300.5±31.0	244.8±17.7	225±36.0	300.5±19.6	297.3±30.5
BB post treat (g)	336.6±29.7 ^a	335.3±38.7 ^a	253.2±33.1 ^b	282.5±45.3 ^c	312±24.5 ^d	317.5±31.8 ^d
Δ BB (g)	51.2±24.15	88.8±32.6	36±26.5	58.2±32.15	57.4±22.6	84.5±25.55
Asupan Pakan (%)	74.7±8.0	68.3±13	89±8	87±11	72±27	78,5±27
KGDP awal (mg/dL)	92.6±5.9	83.0±0.8	85.0±8.5	80.5±5.1	87.75±	82.3±5.7
KGDP pre-treat (mg/dL)	105.4±7.5	201.3±35	182.6±43.1	168.5±35.8	205.8±56.5	163.5±11.5
KGDP post-treat (mg/dL)	105.4±7.5 ^a	139.0±14.9 ^b	109.0±13.2 ^c	132.3±17.9 ^b	129.5±9.4 ^b	124.0±12.5 ^d

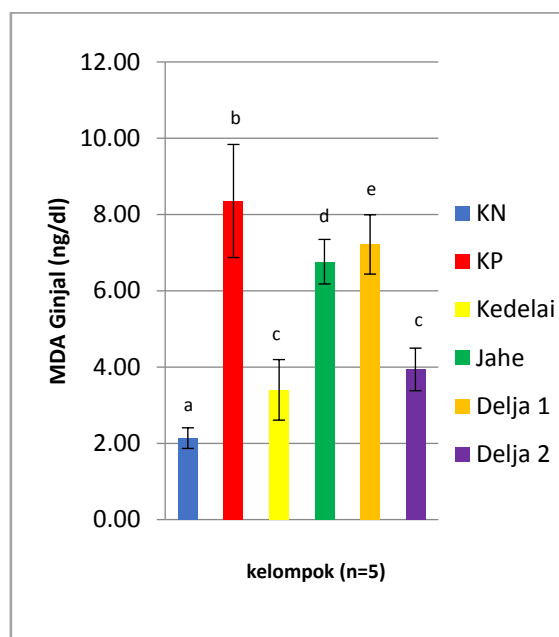
Keterangan:

Data dalam mean ± standar deviasi (SD). Uji statistik menggunakan *One Way Anova* dan *Post Hoc LSD*, BB: Berat Badan, Δ BB: selisih BB akhir dan awal, KGDP : Kadar Glukosa Darah Puasa, KN: Kontrol Negatif, KP: Kontrol Positif, Delja: pemberian kombinasi susu kedelai dan jahe. Notasi yang berbeda menunjukkan signifikansi ($p < 0,0$)

Berdasarkan tabel 1, pasca perlakuan terdapat penurunan berat badan (BB) pada kelompok kedelai, jahe, kombinasi delja 1 dan 2 dibandingkan kelompok kontrol perlakuan ($p < 0.05$). Kelompok kontrol normal tidak didapatkan perbedaan BB dibandingkan dengan kelompok kontrol perlakuan (KP). Asupan pakan pada semua kelompok perlakuan cenderung meningkat dibanding dengan kelompok kontrol perlakuan, tetapi pada kelompok kombinasi delja lebih rendah dibandingkan herbal tunggalnya. Kelompok kontrol perlakuan mengalami penurunan asupan pakan dibandingkan dengan kelompok normal. Kadar gula darah puasa (KGDP) pasca perlakuan pada kelompok kedelai dan kombinasi delja 2 mengalami penurunan ($p < 0.05$), sedangkan kelompok jahe dan kombinasi delja 1 tidak berbeda jika dibandingkan dengan kelompok kontrol perlakuan ($p > 0.05$). KGDP pada kelompok kontrol perlakuan mengalami peningkatan dibandingkan dengan kelompok normal ($p < 0.05$).

Kadar MDA Ginjal Tikus Model Diabetes Melitus yang Diberikan Sari Biji Kedelai, Rimpang Jahe dan Kombinasinya

Efek sari biji kedelai (*Glycine max*), rimpang jahe (*Zingiber officinale*), dan kombinasinya terhadap kadar MDA ginjal tikus model DM dapat dilihat pada gambar 1.



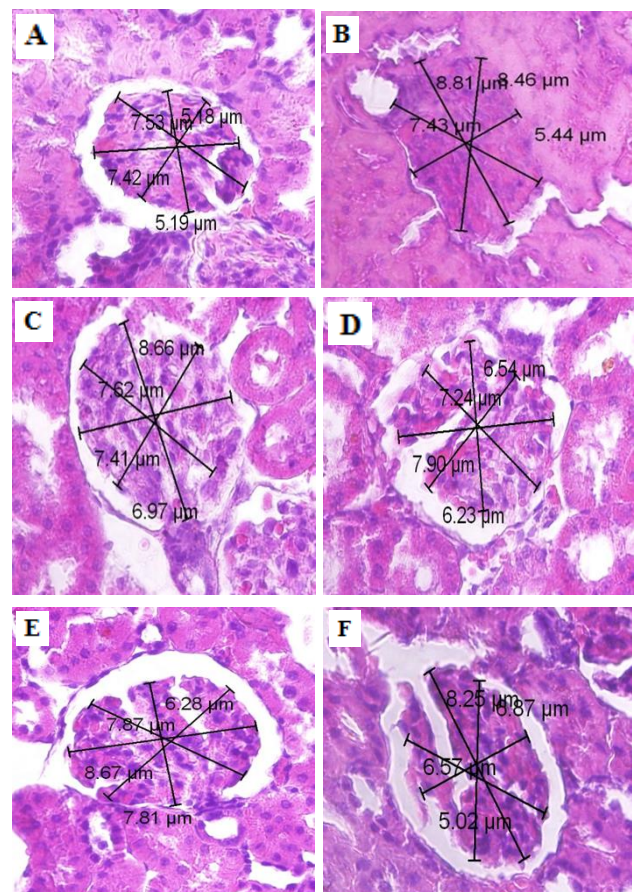
* a,b,c,... = huruf berbeda menunjukkan perbedaan efek ($p < 0.05$, Mann-Whitney).

Gambar 1. Histogram kadar MDA Ginjal tikus model diabetes yang telah diberikan sari biji kedelai (*Glycine max*), rimpang jahe (*Zingiber officinale*) atau kombinasinya

Pemberian ekstrak biji kedelai, rimpang jahe, kedelai jahe (delja) kombinasi 1 dan kombinasi 2 secara signifikan menurunkan Kadar MDA ginjal tikus model DM berturut-turut sekitar 60%, 20%, 10% dan 50% dibandingkan kelompok kontrol positif (KP) ($p < 0.05$). Pemberian ekstrak biji kedelai, rimpang jahe dan kombinasinya menurunkan kadar MDA Ginjal yang berbeda signifikan antar kelompok perlakuan dengan efek terkuat pada kelompok kedelai serta diikuti oleh kelompok delja kombinasi 2 ($p < 0.05$). Pemberian ekstrak biji kedelai lebih kuat dalam menurunkan kadar MDA ginjal dibandingkan rimpang jahe dan delja kombinasi 1 ($p < 0.05$). Sementara induksi DM dengan DTLF dan STZ meningkatkan Kadar MDA Ginjal secara signifikan sekitar 4 kali lipat dibandingkan kelompok kontrol normal (KN) ($p < 0.05$).

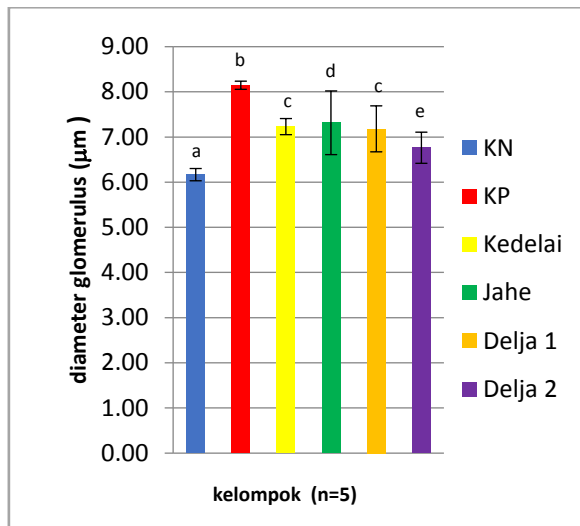
Diameter Glomerulus Tikus Model Diabetes Melitus yang Diberikan Sari Biji Kedelai, Rimpang Jahe dan Kombinasinya

Efek sari biji kedelai (*Glycine max*), rimpang jahe (*Zingiber officinale*), dan kombinasinya terhadap diameter glomerulus tikus model diabetes melitus dapat dilihat pada gambar 2 dan 3.



Gambar 2. Diameter Glomerulus

Keterangan: Garis hitam menunjukkan pengukuran diameter glomerulus. Gambar diukur dengan perbesaran 400X.



* a,b,c,... = huruf berbeda menunjukkan perbedaan efek ($p < 0,05$, Mann-Whitney).

Gambar 3. Histogram Diameter Glomerulus tikus model diabetes Yang telah diberikan sari biji kedelai (*Glycine max*) dan sari rimpang jhe (*Zingiber officinale*) atau kombinasinya

Pemberian ekstrak biji kedelai, rimpang jahe, kedelai jahe (delja) kombinasi 1 dan kombinasi 2 secara signifikan menurunkan diameter glomerulus tikus model DM sekitar 10-20% dibandingkan kelompok kontrol positif (KP) ($p < 0,05$). Pemberian ekstrak biji kedelai, rimpang jahe dan kombinasinya menurunkan diameter glomerulus yang berbeda signifikan antar kelompok perlakuan dengan efek terkuat pada kelompok delja kombinasi 2 ($p < 0,05$). Pemberian ekstrak biji kedelai lebih kuat dalam menurunkan diameter glomerulus dibandingkan rimpang jahe ($p < 0,05$), namun tidak berbeda signifikan dibandingkan delja kombinasi 1 ($p > 0,05$). Sementara induksi DM dengan pemberian DTLF dan STZ meningkatkan diameter glomerulus secara signifikan sekitar 30% dibandingkan kelompok kontrol normal (KN) ($p < 0,05$).

PEMBAHASAN

Efek Induksi DTLF dan STZ Terhadap Kadar MDA Ginjal dan Diameter Glomerulus Pada Tikus Model DM

Tikus model DM karena induksi diet tinggi lemak dan fruktosa (DTLF) dan streptozotocin (STZ) mengalami peningkatan kadar MDA jaringan yang signifikan sekitar empat kali lipat jika dibandingkan dengan kelompok kontrol normal (KN). Pemberian diet tinggi fruktosa akan mengganggu penyerapan glukosa dan meningkatkan sistesis trigliserida yang dibawa ke sirkulasi darah dalam bentuk kilomikron yang merupakan pembawa *Very Low Density Lipid* (VLDL). Selanjutnya akan terjadi peningkatan VLDL yang mengakibatkan terjadinya

lipolisis menjadi *free fatty acid* (FFA) dan monoasilgliserol oleh lipoprotein lipase (LPL). Peningkatan FFA menyebabkan akumulasi lipid dan mengganggu sinyal pada reseptor insulin dan menurunkan jumlah reseptor insulin di jaringan, sehingga hal tersebut memperparah resistensi insulin dan hiperglikemia¹⁸. Diet tinggi lemak juga akan meningkatkan akumulasi lipid pada jaringan dan meningkatkan serin tirosin kinase sehingga mengganggu sinyal reseptor insulin dan menurunkan jumlah reseptor insulin²⁰. Induksi STZ mampu menghambat sintesis DNA dan juga merusak sel beta pankreas. Melalui vena mesenterika superior dan vena lienalis, STZ menuju hepar, jantung dan pankreas sehingga akan menembus sel beta pankreas menyebabkan alkilasi DNA dan terjadi kerusakan fragmentasi DNA. Akhirnya terjadi penghambatan sekresi, sintesis insulin dan menyebabkan kondisi hiperglikemia¹⁹. Hal ini diperkuat dengan penelitian kelompok (2018) bahwa induksi STZ 25 mg/kgBB dapat meningkatkan kadar gula darah puasa (KGDP) tikus model DM. Kondisi hiperglikemia ini akan menyebabkan meningkatnya radikal bebas. Kenaikan radikal bebas yang tidak diimbangi dengan antioksidan akan menyebabkan stres oksidatif. Stres oksidatif akan memicu peroksidasi lipid pada membran sel sehingga terjadi peningkatan produk MDA pada jaringan ginjal²¹.

Malondialdehida (MDA) merupakan senyawa karbon genotoksik yang berasal dari peroksidasi lipid membran sel. Radikal bebas dalam darah menuju arteri renalis yang kemudian bereaksi dengan membran lipid bilayer pada nefron sehingga terjadi peroksidasi lipid yang memicu peningkatan kadar MDA ginjal²¹. Oleh sebab itu kadar MDA ginjal pada kelompok kontrol positif (KP) mengalami peningkatan yang signifikan jika dibandingkan dengan kelompok kontrol normal (KN).

Induksi DM meningkatkan diameter glomerulus secara signifikan dibandingkan kelompok kontrol normal (KN). Pemberian DTLF dan STZ dapat meningkatkan kadar glukosa darah serta produksi radikal bebas seperti yang telah dijelaskan sebelumnya. Hiperglikemia pada diabetes melitus akan memicu stress oksidatif melalui empat jalur, yaitu jalur poliol, jalur *advanced glycosilation end product* (AGEs), jalur hexosamine dan jalur protein kinase C (PKC)^{9,32}. Produksi radikal bebas yang berlebih akan menyebabkan stress oksidatif pada membrane sel glomerulus sehingga akan mengakibatkan penurunan kadar NO. Penurunan NO akan menstimulasi sel podosit pada glomerulus untuk membentuk VEGF. Peningkatan VEGF akan merubah transkripsi sinyal intraseluler menjadi bersifat proliferaatif pada sel podosit, sel endotel dan sel mesangial pada glomerulus. Proliferasi yang terjadi pada sel-sel tersebut menyebabkan ukuran diameter glomerulus meningkat yang akan menjadi awal dari diabetik nefropati^{8,9}.

Efek Ekstrak Biji Kedelai, Rimpang Jahe dan Kombinasinya Terhadap Kadar MDA Ginjal

Seluruh kelompok perlakuan mengalami penurunan kadar MDA ginjal yang signifikan jika dibandingkan dengan kelompok kontrol positif (KP). Penurunan kadar MDA ginjal terjadi karena pemberian sari biji kedelai, rimpang jahe, kedelai jahe (delja) kombinasi 1 dan kombinasi 2, berturut-turut sekitar 60%, 20%, 10% dan 50% dibandingkan kelompok kontrol positif. Efek terkuat adalah pada pemberian sari kedelai. Bahkan, pemberian sari biji kedelai lebih kuat dalam menurunkan kadar MDA ginjal dibandingkan rimpang jahe dan delja kombinasi 1. Hal ini terjadi karena kedelai mengandung zat aktif isoflavon, antosianin, flavonoid dan etanol yang berperan sebagai antioksidan, sehingga mampu mengurangi jumlah radikal bebas dan menghambat peroksidasi lipid sehingga kadar MDA dalam jaringan ginjal turun^{35, 36}. Selain itu, sari kedelai mampu berperan sebagai anti-hiperglikemia karena mengandung zat aktif glikisin. Pemberian sari kedelai dengan dosis 5000mg/KgBB mampu menurunkan kadar gula darah puasa pada tikus model DM²². Asam filat juga merupakan salah satu zat aktif kedelai yang memiliki peran dalam menghambat enzim α -amilase sehingga tidak terjadi keadaan hiperhlikemi. Penghambatan kondisi hiperglikemia akan menurunkan produksi radikal bebas dan mencegah peroksidasi lemak sehingga menurunkan kadar MDA ginjal²³.

Pemberian sari rimpang jahe mampu secara signifikan menurunkan kadar MDA ginjal karena kandungan zat aktif jahe yaitu, gingerol dan shogaol yang juga memiliki fungsi sebagai antioksidan dengan menghambat xantin oksidase. Jumlah radikal bebas yang berkurang akan menyebabkan menurunnya pemecahan lipid dari membran sel ginjal sehingga kadar MDA ginjal pun menurun. Hal ini diperkuat oleh data bersama penelitian kelompok oleh Kholilurohman, 2018 dan Santoso, 2018 (Unpublished) bahwa pemberian sari rimpang jahe menghambat penurunan kadar SOD serum dan MDA serum. Namun, efek sari rimpang jahe dalam menurunkan kadar MDA ginjal lebih rendah jika dibandingkan dengan kedelai. Hal ini diduga karena pemberian dosis sari rimpang jahe 500 mg/kgBB belum mencapai batas optimal. Penelitian Mulati et al. tahun 2017 melaporkan bahwa rata-rata dosis sari jahe yang efektif digunakan sebagai antidiabetik adalah antara 1,5-3 gram per hari yang diberikan selama 4-12 minggu.

Pemberian kombinasi delja 1 dan delja 2 mampu menurunkan kadar MDA ginjal secara signifikan dibandingkan dengan kontrol positif (KP). Kombinasi pada delja 2 menurunkan kadar MDA ginjal lebih kuat dibandingkan delja 1. Hal ini diduga karena pemberian dosis delja 2 yang lebih tinggi dibandingkan delja 1 sehingga menghasilkan efek yang lebih optimal. Pemberian dosis yang lebih tinggi mampu meningkatkan aktifitas biokimia dari

masing-masing herbal²⁴. Efek antioksidan yang berperan sehingga menyebabkan penurunan MDA jaringan yaitu karena kandungan zat aktif dari tiap herbal yang sudah dijelaskan sebelumnya.

Terjadi penurunan kadar MDA ginjal pada seluruh kelompok perlakuan, namun masih berbeda signifikan dengan kadar MDA ginjal pada kelompok kontrol normal (KN). Artinya, kadar MDA pada tikus DM yang diberi perlakuan pemberian sari kedelai, rimpang jahe dan kombinasinya menurun namun masih belum mendekati dengan kadar MDA ginjal tikus normal. Hal ini dapat terjadi karena dosis dan lama pemberian yang belum sampai memberikan efek optimal. Sejalan dengan penelitian Barley et al. tahun 2013 yang menyatakan bahwa pemberian dosis yang lebih tinggi dan durasi terkait dosis dapat meningkatkan efek dari tiap-tiap zat aktif pada herbal. Selain itu, kondisi stres juga dapat mempengaruhi kadar radikal bebas. Pada tikus normal tidak dilakukan pemberian sonde sedangkan pada tikus dengan perlakuan dilakukan penyondean. Penyondean dapat meningkatkan resiko stres fisik pada tikus berupa handling dan restraint, insersi tabung besi kaku atau plastik fleksibel dari mulut ke lambung dan distensi lambung. Respon stres juga berbeda tergantung cairan pelarut yang diberikan. Pelarut yang lebih kental lebih menginduksi stres dibanding pelarut yang kurang kental. Selain itu, sonde merupakan salah satu perlakuan yang melibatkan proses *handling* yang berulang¹⁵. Proses *handling* berupa pengangkatan hewan coba, dapat meningkatkan konsentrasi serum hormon kortisol yang memediasi respon terhadap stres dan meregulasi metabolisme karbohidrat dan protein. Konsentrasi glukosa plasma juga meningkat pada tikus yang mengalami proses *handling*²¹. Peningkatan glukosa plasma, seperti yang disebutkan sebelumnya akan meningkatkan kadar radikal bebas dalam aliran darah yang dibawa ke ginjal, sehingga terjadi peroksidasi lipid membran sel, akhirnya kadar MDA ginjal pada tikus perlakuan menjadi lebih tinggi terlepas dari pemberian diet DTLF dan induksi STZ yang juga meningkatkan MDA. Oleh sebab itu, hal ini menjadi alasan mengapa kadar MDA jaringan pada tikus kelompok perlakuan masih belum sama dengan kelompok kontrol normal (KN).

Efek Sari Biji Kedelai, Rimpang Jahe dan Kombinasinya Terhadap Diameter Glomerulus

Adanya penurunan diameter glomerulus oleh pemberian ekstrak biji kedelai, rimpang jahe, dan kombinasinya dibandingkan kelompok kontrol positif (KP) menunjukkan bahwa kandungan antioksidan pada biji kedelai dan rimpang jahe mampu menurunkan diameter glomerulus. Biji kedelai (*Glycine max*) mengandung senyawa aktif flavonoid yang memiliki kemampuan sebagai antioksidan. Kandungan flavonoid dalam ekstrak biji kedelai terutama isoflavon dan turunannya (*daidzein*

dan genistein) dapat mencegah terjadinya stress oksidatif melalui dua mekanisme yaitu memberikan ion hidrogen, dan berperan sebagai scavenger radikal bebas langsung²⁵. Meskipun isoflavon diyakini berperan penting atas aktivitas antioksidan, penelitian terbaru menunjukkan bahwa antosianin yang ada dalam kedelai memiliki potensi antioksidan yang kuat²⁶. Antioksidan dari antosianin bekerja dengan cara menekan pembentukan ROS, melalui penghambatan enzim atau sekustrasi elemen yang terlibat dalam pembentukan radikal bebas¹⁷. Dengan fungsi antioksidan ini dapat mencegah terjadinya stress oksidatif yang disebabkan karena hiperglikemia. Pencegahan terjadinya stress oksidatif ini dapat menghambat penurunan produksi NO²⁷. Pelepasan senyawa NO menghambat aktivasi VEGF yang menyebabkan tidak terjadi proliferasi sel^{7,9}. Dimana penghambatan proliferasi sel ini dapat menurunkan ketebalan membran basement dan ekspansi sel mesangial sehingga ukuran diameter glomerulus mengalami penurunan. Hal ini sesuai dengan penelitian Jalili et al. tahun 2020 bahwa pemberian genistein mampu memperbaiki kerusakan ginjal pada tikus dan penelitian Trujilo et al. tahun 2008 efek antioksidan pada biji kedelai membantu mencegah kerusakan pada ginjal.

Sedangkan pada rimpang jahe (*Zingiber officinale*) mengandung senyawa aktif gingerol dan shogaol. Senyawa ini berfungsi sebagai antioksidan dengan cara menghambat xantin oksidase sehingga radikal bebas tidak terbentuk³⁵. Selain itu, gingerol dan shogaol dapat meningkatkan sekresi insulin sehingga gula darah menurun dan produksi radikal bebas juga menurun³⁵. Kedua mekanisme ini akan mencegah terjadinya stress oksidatif dan selanjutnya akan terjadi mekanisme seperti yang telah dijelaskan sebelumnya. Sesuai dengan penelitian Yi et al. tahun 2019 bahwa shogaol memiliki efek melawan kerusakan ginjal pada tikus diabetes dan penelitian Song et al. tahun 2019 bahwa gingerol memiliki efek protektif renal pada tikus diabetes.

Kombinasi delja 2 memiliki efek terkuat dengan perbedaan signifikan antar kelompok perlakuan. Hal ini dapat disebabkan karena pemberian dosis kombinasi delja 2 yang lebih tinggi daripada kombinasi delja 1. Semakin tinggi dosis herbal maka semakin tinggi pula efek farmakologinya²⁴. Pemberian kombinasi delja 1 dan delja 2 dapat menurunkan diameter glomerulus karena zat aktif yang dimiliki masing-masing herbal dengan mekanisme yang telah dijelaskan sebelumnya.

Terjadi penurunan diameter glomerulus pada seluruh kelompok perlakuan, namun masih berbeda signifikan dengan diameter glomerulus pada kelompok (KN). Durasi pemberian obat akan sangat berpengaruh pada efek yang dihasilkan pada suatu individu, begitu pula dengan dosis pemberian yang tepat²². Pemotongan yang tidak tepat, fiksasi yang tidak sempurna, potongan yang terlalu tebal, pisau

yang tidak tajam, dan pewarnaan yang tidak sempurna akan berpengaruh pada kualitas morfologi jaringan yang menjadi bias penelitian³³. Hal ini dapat disebabkan karena peneliti belum terbiasa dengan preparasi jaringan. Selain itu, kadar radikal bebas meningkat akibat hiperglikemia dan stres yang tidak diseimbangi dengan efek antioksidan biji kedelai dan jahe. Proses penyondean untuk memasukkan obat pada tikus dapat menyebabkan stress pada tikus. Pada kelompok KN tidak dilakukan penyondean sedangkan kelompok perlakuan lainnya dilakukan penyondean. Proses handling seperti memegang atau mengangkat tikus juga merupakan salah satu stressor pada tikus²¹. Stress akan meningkatkan kadar hormon kortisol dan mengatur metabolisme karbohidrat dan protein. Peningkatan glukosa akan meningkatkan kadar radikal bebas yang kemudian akan terjadi proses yang telah dijelaskan sebelumnya. Oleh karena perbedaan tingkat stress yang signifikan pada masing-masing kelompok menyebabkan diameter glomerulus kelompok perlakuan tidak sama dengan kelompok KN.

KESIMPULAN

1. Pemberian ekstrak biji kedelai, rimpang jahe, kombinasi delja 1 dan delja 2 menurunkan kadar MDA ginjal dan diameter glomerulus.
2. Pemberian delja II mampu menurunkan kadar MDA ginjal lebih kuat dibandingkan bentuk tunggal rimpang jahe dan sari biji kedelai
3. Pemberian delja II mampu menurunkan peningkatan diameter glomerulus lebih kuat dibandingkan bentuk tunggalnya.

SARAN

Melakukan uji resistensi insulin untuk mengetahui kondisi diabetes militus tipe 2 pada tikus dan uji efektifitas dosis pada herbal.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih kepada IOM dan FK UNISMA yang telah mendanai penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Cohen L, Friedman E, Narva A, et al. Diabetic Kidney Disease (serial online) 2009. Available at URL:http://www.diabeteseducator.org/export/sites/aade/_resources/pdf/Diabetic_Kidney_Disease_2009.pdf
2. PERNEFRI. 2014. 7th Report of Indonesia Renal Registry
3. Nishikawa T, Edelstein D, Du XL, Yamagishi S, Matsumura T, Kaneda Y,

- Yorek MA, Beebe D, Oates PJ, Hammes HP, Giardino I, Brownlee M: Normalizing mitochondrial superoxide production blocks three pathways of hyperglycaemic damage. *Nature* 404:787–790, 2000
4. Sulistyoningrum E. 2014. Perubahan seluler dan molekuler pada nefropati diabetik. *Mandala of Health*. VOL 7 : 01
 5. Asni, E., dkk. 2009. Pengaruh Hipoksia Berkelanjutan Terhadap Kadar Malondialdehid, Glutation Tereuksi, dan Aktivitas Katalase Ginjal Tikus, *Maj Kedokt Indon*, 59(12): 595-600.
 6. Wang X, Zhao X, Feng T, Jin G, Li Z. 2016. Rutin Prevents High Glucose-Induced Renal Glomerular Endothelial Hyperpermeability by Inhibiting the ROS/Rhoa/ROCK Signaling Pathway. *Planta Med*. 82: 1252–1257
 7. Elmarakby, AA. dan Sullivan , JC. 2010. Relationship Between Oxidative Stress and Inflammatory Cytokines. *Cardiovascular Therapeutics*. Vol 00 : 1–11
 8. Reddy GR, Kotlyarevska K, Ransom RF, Menon RK. 2008. The podocyte and diabetes mellitus: is the podocyte the key to the origin of diabetic nephropathy. *Curr Opin Nephrol Hypertens*, 17:32-6
 9. Brownlee, M. 2005. The Pathobiology of Diabetic Complications a Unifying Mechanism. *Diabetes*. Vol 54 : 1615 – 1625
 10. Eddy, A.A., 2004, Proteinuria and Interstitial Injury, *Nephrol Dial Transplant*, 19, 277 – 281.
 11. Sattar, N., Hussain, F., Iqbal, T. and Sheikh, M., 2012. Determination of in vitro antidiabetic effects of Zingiber officinale Roscoe. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 48(4), pp.601-607.
 12. Li, Y., Tran, V., Duke, C. and Roufogalis, B., 2012. Preventive and Protective Properties of Zingiber officinale (Ginger) in Diabetes Mellitus, Diabetic Complications, and Associated Lipid and Other Metabolic Disorders: A Brief Review. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2012, pp.1-10.
 13. Villegas R, Gao YT, Gong Y, Li HL, Elasy TA, Zheng W, et al. Legume and soy food intake and the incidence of type 2 diabetes in the Shanghai Women's Health Study. *Am J Clin Nutr* 2008;87:162–7.
 14. Xiao, C., 2008. Health Effects of Soy Protein and Isoflavones in Humans. *The Journal of Nutrition*, 138(6), pp.1244S-1249S.
 15. Balcombe JP, Barnard ND, Sandusky C. 2004. Laboratory routines cause animal stress. *Contemporary Topics*, 43(6): 42 – 51.
 16. Muntafiah, A., Yulianti, D., Cahyaningtyas, A. H., Damayanti, I. 2017. Pengaruh Ekstrak Jahe Merah (Zingiber Officinale) Dan Madu Terhadap Kadar Kolesterol Total Tikus Model Diabetes Melitus. Universitas Jendral Soedirman. *Scripta Biologica*, 4(1), 1–3
 17. Reis, J. F., Monteiro, V. V., de Souza Gomes, R., do Carmo, M. M., da Costa, G. V., Ribera, P. C., & Monteiro, M. C. 2016. Action mechanism and cardiovascular effect of anthocyanins: a systematic review of animal and human studies. *Journal of translational medicine*, 14(1), 315.
 18. Rutledge AC., Adeli K. Fructose and the Metabolic syndrome pathophysiology and Molecular Mechanism. *Nutr Rev* 2007; 65:S13-23. 2007.
 19. Lenzen, S. The mechanisms of alloxan and streptozotocin-induced diabetes, *Clinical and Experimental Diabetes and Metabolism*. 2007.
 20. Murray, R. K., D. K. Granner, P. A. Mayes, and V. W. Rodwell. Biokimia Harper. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta. 2014.
 21. Handayani W, Lyrwati D, Andarini S, Rudjanto A. Pengaruh kombinasi susu kedelai dan jahe terhadap peningkatan sensitivitas insulin pada tikus model resistensi insulin (studi in silico dan in vivo). Disertasi. Program Doktor Ilmu Kedokteran. Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. 2018.
 22. Manohara, G.D.I. et al. Pengaruh pemberian sari tauge kacang hijau terhadap ketebalan tunika intima-media aorta abdominalis pada tikus wistar jantan yang diberi stres fisik. Jember. Fakultas kedokteran universitas jember. 2015.
 23. Tzi Bun. Soybean-Biochemistry, Chemistry, and Physiology. Croatia: InTech. 2011.
 24. Brantley, S. J., Argikar, A. A., Lin, Y. S., Nagar, S., & Paine, M. F. Herb-Drug Interactions: Challenges and Opportunities for Improved Predictions. *Drug Metabolism and Disposition*, 42(3), 301–317. Doi :10.1124/dmd.113.055236. 2013
 25. S. Prahasuti et al 2019. Anti Antioxidant potential ethanolic extract of Glycine max (L.)

- Merr. Var. Detam and daidzein. J. Phys.: Conf. Ser. 1374 012020
26. Ponnusha, B.S., Subramaniam, S., Pasupathi, P., Subramaniam, B., Virumandy, R. 2011. Antioxidant and Antimicrobial properties of Glycine Max-A review. *Int J Cur Bio Med Sci*, 1(2): 49 – 62.
 27. Xiang X .Wang Z Zhu Y Bian L Yang Y Dosage of streptozocin in inducing rat model of type 2 diabetes mellitus. Institute for Nutrition and Food Safety, China CDC, Beijing.2010.
 28. Yi, J. K., Ryoo, Z. Y., Ha, J. J., Oh, D. Y., Kim, M. O., & Kim, S. H. (2019). Beneficial effects of 6-shogaol on hyperglycemia, islet morphology and apoptosis in some tissues of streptozotocin-induced diabetic mice. *Diabetology & metabolic syndrome*, 11, 15.
 29. Song, S., Dang, M. & Kumar, M. 2019. Anti-inflammatory and renal protective effect of gingerol in high-fat diet/streptozotocin-induced diabetic rats via inflammatory mechanism. *Inflammopharmacol* 27, 1243–1254.
 30. Jalili C, Rashidi I, Roshankhah S, Jalili F, Salahshoor MR. 2020. Protective Effect of Genistein on the Morphine-Induced Kidney Disorders in Male Mice. *Electron J Gen Med*, 17(3):em213.
 31. Trujillo, J., Cruz, C., Tovar, A., Vaidya, V., Zambrano, E., Bonventre, J. V., Gamba, G., Torres, N., & Bobadilla, N. A. 2008. Renoprotective mechanisms of soy protein intake in the obese Zucker rat. *American journal of physiology. Renal physiology*, 295(5), F1574–F1582.
 32. Giacco, Ferdinando. Brownlee, Michael. 2010. *Oxidative Stress and Diabetic Complication*. Greenville Avenue, Dalla : American Heart Association.
 33. Musyarifah, Z., Agus, S. 2018. Proses Fiksasi pada Pemeriksaan Histopatologik. *Jurnal Kesehatan Andalas*, 7(3):443-453
 34. Khandouzi N., F, S., A, R., T, R., P, H. and M, M., 2020. *The Effects Of Ginger On Fasting Blood Sugar, Hemoglobin A1c, Apolipoprotein B, Apolipoprotein A-I And Malondialdehyde In Type 2 Diabetic Patients*. [online] PubMed. Available at: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25561919/>> [Accessed 8 september 2020].
 35. Sondari, D. et al. 2017. Teknologi ekstraksi fluida superkritis dan maserasi pada zingiber officinale roscoe : aktivitas antioksidan dan kandungan fitokimia. *Jurnal Sains Materi Indonesia*, 18(2), pp.74–80.
 36. Yulia, R., Tanzil, A. & Merrill, L. 2015. An Assay of Antioxidant Activity of Methanolic Extract of Various Types of Soybean. *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*, 01(02), pp.122–131.
 37. Del, D., Stewart, A.J. & Pellegrini, N. 2005. A review of recent studies on malondialdehyde as toxic molecule and biological marker of oxidative stress. *Jurnal of Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases*. 15(1). pp.316–328.