

Anti Hipertensi Minuman Serbuk Instan Campuran Ekstrak Buah Delima Merah (*Punica granatum* Linn.) dan Ekstrak Daun Sirih Merah (*Piper crocatum*) pada Tikus Hipertensi

Tri Dewanti Widyarningsih; Novita Wijayanti dan Rosita Mega Syafrilia
Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, FTP Universitas Brawijaya
Jalan Veteran, Malang 65145

Korespondensi, email: tridewantiw@ub.ac.id

ABSTRAK

Secara empiris buah delima merah dan daun sirih merah masing-masing telah biasa digunakan sebagai terapi penyakit hipertensi. Pembuatan serbuk instan campuran ekstrak buah delima merah dan ekstrak daun sirih merah sebagai serbuk instan tentu akan lebih praktis dan awet dalam penggunaannya sebagai minuman fungsional. Tujuan penelitian ini adalah untuk menghasilkan proporsi serbuk instan campuran dari ekstrak buah delima dan ekstrak daun sirih merah yang terbaik dan mengujinya sebagai antihipertensi pada tikus hipertensi yang diinduksi menggunakan NaCl 2% dan prednisone 1.5 mg/kg. Hasil penelitian menghasilkan perlakuan terbaik serbuk instan campuran ekstrak buah delima merah dan ekstrak daun sirih merah dengan proporsi 4:1 dengan aktivitas antioksidan (IC₅₀) 59.43 µg/mL, total fenol 984.24 mgGAE/6g serta total flavonoid 362.46 mgQE/6g. Hasil pengujian antihipertensi terbaik pada dosis 2 (1850.01 mg/kg BB) dengan presentase penurunan tekanan darah sistolik tikus 38.31%, kadar BUN 77.55% serta kadar kreatinin 58.10%.

Kata kunci: ekstrak buah delima merah, ekstrak daun sirih merah, antihipertensi, kreatinin dan *Blood Urea Nitrogen* (BUN).

ABSTRACT

Empirically, red pomegranates and red betel leaves each are commonly used as a therapy for hypertension. Making instant powder mixture of red pomegranate extract and red betel leaf extract as instant powder will certainly be more practical and durable in its use as a functional beverage. The aim of this study was to produce the best proportion of instant powder mixture from pomegranate extract and red betel leaf extract and test it as antihypertensive in hypertensive rats induced using 2% NaCl and prednisone 1.5 mg / kg. The results showed the best treatment of instant powder of red pomegranate extract and red betel leaf extract with a proportion of 4: 1 with antioxidant activity (IC₅₀) 59.43 µg / mL, total phenol 984.24 mgGAE / 6g and total flavonoids 362.46 mgQE / 6g. The best antihypertensive test results at dose 2 (1850.01 mg / kg BB) with a percentage reduction in rat systolic blood pressure 38.31%, BUN levels 77.55% and creatinine levels 58.10%.

PENDAHULUAN

Orang disebut hipertensi bila tekanan darah sistolik ≥ 140 mmHg atau tekanan darah diastolik ≥ 90 mmHg [1]. Penelitian di Amerika (*American Heart Association*) periode 2007 sampai 2010), membuktikan bahwa penderita hipertensi mencapai 77.90 juta orang dan hanya 47.50% yang tahu bahwa mereka menderita penyakit tersebut. Sedangkan di Indonesia mencapai 15 juta orang menderita hipertensi [2]. Menurut *American College of Physicians* (2004), menyatakan bahwa hipertensi terjadi akibat penyempitan pembuluh arteri karena mengalami kontraksi berlebihan dalam memompa darah sehingga lapisan dari dinding pembuluh menebal [3]. Hipertensi dalam jangka waktu yang lama dapat mengganggu ginjal berdasarkan *National Kidney Foundation* (NKF) tahun 2011 yang menyebutkan bahwa dua penyebab utama penyakit gagal ginjal adalah diabetes dan hipertensi [2]. Selain itu, menurut penelitian Handoyo (2006) menyatakan bahwa kadar kreatinin yang lebih tinggi 8 kali dari umumnya dideteksi pada pasien hipertensi, serta hingga 75% penyakit gagal ginjal disebabkan oleh hipertensi [4].

Menurut Mayanti (2013), pengobatan hipertensi dengan obat sintetis yang dilakukan secara terus menerus seperti kaptopril, enalapril, dan lainnya akan memberikan efek samping yang tidak baik bagi tubuh seperti batuk, mual, mengantuk hingga penyakit degeneratif seperti kerusakan hati dan ginjal [5]. Pengobatan hipertensi alternatif dapat dilakukan secara alami menggunakan bahan alami atau herbal yang mengandung senyawa bioaktif, yaitu senyawa yang mempunyai efek fisiologis dalam tubuh yang berpengaruh positif terhadap kesehatan manusia [6]. Daun sirih merah serta buah delima merah masing-masing secara empiris telah digunakan sebagai antihipertensi [7]. Menurut Nisa (2014), senyawa antosianin dalam daun sirih merah dan buah delima merah mampu melancarkan peredaran darah dengan mengurangi viskositas darah [8]. Menurut Hung dan Yen (2002), asam kafeat dan tanin punicalagin pada delima merah mampu menjadi penghambat reseptor α dan β sehingga angiotensin II tidak bisa menempel [9]. Menurut Amic (2002), kandungan asam ferulik juga berperan sebagai pengangkal radikal bebas dan bersifat diuretik [10]. Kandungan kaempferol, luteolin, myricetin, quercetin pada buah delima merah dan daun sirih merah berperan sebagai zat pembentuk diuretik pada tubuh, berperan sebagai *scavenger* dengan menghambat dihasilkannya agen oksidatif seperti produksi ROS oleh sel darah perifer, menghambat paparan oksidatif dalam tubuh yang melindungi lipid dan protein agar tidak berubah menjadi lipid peroksida dan protein teroksidasi serta membantu hormon glutathione yang berfungsi menghilangkan peroksida menjadi asam lemak hidroksil tidak beracun [11].

Tujuan dari penelitian ini yaitu menghasilkan serbuk instan dari campuran ekstrak buah delima merah dan daun sirih merah yang terbaik. Juga mengujinya sebagai antihipertensi pada tikus hipertensi yang diinduksi NaCl 2% dan prednisone 1.5 mg/kg. Parameter yang diamati selain penurunan tekanan darah, BUN dan kreatinin juga gambaran histopatologi ginjal tikus.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Daun sirih merah yang dibeli di Metiara Medika Batu, buah delima merah yang dibeli di Tokoh Swalayan Lailai, hewan uji berupa tikus wistar jantan, bobot 150-200 gram berumur 2 bulan yang diperoleh dari penyedia tikus untuk analisa di Singosari Malang, bahan kimia yang digunakan yaitu asam galat, *quercetin*, Na_2CO_3 , NaNO_2 , folin-ciocalteu, 1,1 difenil-2-pikridhidrazil (DPPH), NaCl, maltodestrin 5%, AlCl_3 , *sodium hypochlorite*, *sodium hydroxide*, reagen *urease*, reagen *sodium salicylate*, *sodium nitroprusside*, *phosphate buffer*, standart urea, *picric acid*, *sodium hydroxide*, detergen dan standart kreatinin, obat Prednison serta obat kaptopril didapatkan dari tokoh kimia Makmur Sejati, tokoh kimia Panadia, tokoh kimia Krida Tama dan Laboratorium Kimia dan Biokimia Pangan Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya Malang,

Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah *freeze dryer*, *sphygmomanometer* spesifikasi CODA™ Kent Scientific Standart IEC 60320, *spektrofotometer*, *thermometer* tipe Durax, *blender* tipe Philips, timbangan analitik, *hematocrit*, *mikropipet*, *mikrotube glassware*, pengaduk, panci, alat penyaring, pisau, kain saring, kompor, alat sonde, tempat minum, penutup serta kandang tikus.

Desain Penelitian

Penelitian ini dilakukan melalui dua tahap penelitian. Tahap I adalah pembuatan serbuk instan dari campuran ekstrak buah delima merah dan daun sirih merah menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 6 perlakuan dan 3 kali ulangan sehingga didapatkan 18 satuan percobaan. Perlakuan yang digunakan yaitu proporsi ekstrak buah delima merah dan daun sirih merah (1:1; 1:2; 1:4; 2:3; 3:2; dan 4:1) terhadap kadar total fenol, total flavonoid dan aktivitas antioksidan IC₅₀. Data yang didapatkan selanjutnya dilakukan pemilihan perlakuan terbaik menggunakan *Multiple Attribute Test*. Hasil perlakuan terbaik kemudian dikeringkan menggunakan mesin pengering *Freeze dryer* dengan penambahan maltodekstrin 5%.

Tahap II adalah pengujian efek antihipertensi serbuk instan pada hewan coba tikus wistar jantan yang diinduksi NaCl 2% dan prednisone 1.5 mg/kg sehingga hipertensi. Data hasil pengukuran tekanan darah dihitung menggunakan metode *Nested Design* (Desain Tersarang). Digunakan 2 faktor dalam perhitungan, faktor 1 yaitu perlakuan pemberian dosis dan faktor 2 yaitu hasil presentase pengukuran penurunan tekanan darah tiap Minggu selama masa intervensi.

Berikut faktor 1 :

- A1 → KN : Kelompok Kontrol Negatif
- A2 → KP : Kelompok Kontrol Positif Hipertensi
- A3 → KO : Kelompok Kontrol Obat (Kaptopril 2.5 mg/kgBB)
- A4 → KDS : Kelompok perlakuan dosis 1 (616.67 mg/kgBB)
- A5 → KDD : Kelompok perlakuan dosis 2 (1850.01 mg/kgBB)

Kemudian berikut faktor 2 :

- B1 : presentase selisih pengukuran tekanan darah antara Minggu ke-0 hingga Minggu ke-1
- B2 : presentase selisih pengukuran tekanan darah antara Minggu ke-0 hingga Minggu ke-2
- B3 : presentase selisih pengukuran tekanan darah antara Minggu ke-0 hingga Minggu ke-3

Selain pengujian penurunan tekanan darah, juga pengujian penurunan kadar BUN serta kreatinin ikus wistar hipertensi, kemudian dilakukan histopatologi ginjal. Data hasil pengukuran kadar BUN dan kreatinin dihitung menggunakan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL) yaitu pengaruh

pemberian dosis serbuk instan terhadap presentase penurunan kadar BUN dan kreatinin dari Minggu ke-0 dan Minggu ke-3. Berikut perlakuan dosis serbuk instan terhadap presentase penurunan kadar BUN dan kreatinin :

- KN : Kelompok Kontrol Negatif
- KP : Kelompok Kontrol Positif Hipertensi
- KO : Kelompok Kontrol Obat (Kaptopril 2.5 mg/kgBB)
- KDS : Kelompok perlakuan dosis 1 (616.67 mg/kgBB)
- KDD : Kelompok perlakuan dosis 2 (1850.01 mg/kgBB)

Tahapan Penelitian

Tahapan penelitian pada tahap I yaitu pembuatan serbuk instan:

1. Sortasi bahan baku bertujuan untuk mendapatkan bahan baku yang memiliki kriteria yang masih baik dan belum mengalami kerusakan.
2. Pencucian dilakukan pada bahan baku dengan dicuci di air mengalir untuk menghilangkan kotoran serta bahan asing lain.
3. Penimbangan bahan baku masing-masing sebanyak 50 gram menggunakan timbangan analitik.
4. *Blanching* metode uap suhu 80°C sehingga bahan baku dikukus dengan panci kukus sesuai waktu masing-masing yaitu daun sirih merah selama 2 menit dan buah delima selama 7 menit.
5. Ekstraksi menggunakan *blender* tipe Philips. Proses ekstraksi terdiri dari bahan baku dan penambahan aquades dengan perbandingan 1:10 yang dilakukan secara bertahap untuk mendapatkan hasil yang maksimal dari kandungan dalam bahan baku. Bahan baku sebanyak 50 gram ditambah 250 ml aquades diblender pertama terlebih dahulu, kemudian hasil ampas pertama ditambah aquades 250 ml serta diblender lagi.
6. Penyaringan menggunakan kertas saring kasar yang ditumpuk dua.
7. *Mixing* dengan perbandingan buah delima dan daun sirih merah yaitu 1:1; 1:2; 1:4; 2:3; 3:2; 4:1.
8. Pengeringan dilakukan pada ekstrak dengan perbandingan hasil perlakuan terbaik menggunakan mesin *freeze dryer*. Hasil perbandingan perlakuan terbaik kemudian ditambah dengan maltodekstrin 5% [12].

Tahap pelaksanaan pengujian antihipertensi pada hewan coba (*in vivo*) dilakukan selama 3 minggu. Tahapan sebelum perlakuan yaitu tahap induksi hipertensi menggunakan NaCl 2% dan prednisone 1.5 mg/kgBB selama 2 minggu (minggu ke-0), tahap perlakuan selama 3 minggu (minggu ke-1, ke-2 dan ke-3). Pengujian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh penurunan tekanan darah dan kadar BUN/kreatinin produk serbuk instan pada tikus wistar jantan. Ada 3 tahap yaitu masa adaptasi, masa induksi hipertensi dan masa intervensi.

Pada masa adaptasi, tikus dipelihara didalam kandang individu dan diberi pakan pelet jenis Comfeed PARS AD-II dan minum secara *ad libitum*. Masing-masing kandang diberi alas sekam dan dibersihkan dengan mengganti sekam selama 4 hari sekali. Pakan tikus diganti tiap hari dengan ditimbang berat 15 g, sedangkan minum diisi sekitar 200 ml.

Selama 2 minggu tikus kelompok kontrol negatif (KN) hanya diberi aquades, sedangkan tikus kelompok kontrol positif (KP), kontrol obat (KO), dan kontrol perlakuan produk serbuk instan dosis 1 dan dosis 2 (KDS dan KDD) dibuat hipertensi dengan diberi perlakuan pemberian NaCl 2% dan prednison 1.5 mg/kgBB. Seluruh perlakuan diberikan melalui oral dengan disonde.

Pada masa intervensi selama 21 hari (pengukuran tiap Minggu dari Minggu ke-1 hingga Minggu ke-3) kontrol negatif (KN) dan kontrol Positif (KP) hanya disonde dengan aquades, kelompok kontrol obat (KO) disonde dengan kaptopril 2.5 mg/kgBB, tikus kelompok kontrol perlakuan serbuk instan dosis 1 (KDS) diberi sebanyak 616.67 mg/kgBB serta dosis 2 (KDD) diberi sebanyak 1850.01 mg/kgBB serbuk instan sampel.

Besarnya dosis yang akan diberikan pada hewan coba, dilakukan analogi dengan dosis manusia. Menurut Shaw (2007), perhitungan dosisnya sebagai berikut:

1. Rata-rata konsumsi minuman serbuk instan perkemasan untuk manusia dengan berat manusia 60 kg adalah 6 g.

2. Dosis untuk tikus dengan berat rata-rata 1 kg adalah :

$$\text{HED (Human Equivalent Dose)} = 6 \text{ g}/60 \text{ kg} = 0,1 \text{ g/kg}$$

$$\text{Animal Dose} = \text{HED} \times (\text{Human Km}/\text{Animal Km})$$

$$= 0,1 \text{ g/kg} \times (37/6)$$

$$= 0,6167 \text{ g/kg}$$

$$= 616,67 \text{ mg/kg}$$

Dosis yang digunakan untuk pengujian yaitu :

$$\text{Dosis 1} = 616,67 \text{ mg/kgBB};$$

$$\text{Dosis 2} = 616,67 \times 3 = 1850,01 \text{ mg/kgBB}$$

Pengukuran tekanan darah dilakukan pada akhir tahap induksi hipertensi (Minggu ke-0) serta setiap minggu pada masa intervensi selama 21 hari (Minggu ke-1 hingga Minggu ke-3). Pengukuran kadar BUN/kreatinin dilakukan pada awal masa intervensi (Minggu ke-0) dan akhir masa intervensi (Minggu ke-3). Pengukuran tekanan darah dilakukan dengan alat *sphygmomanometer* melalui ekor tikus yang akan menunjukkan tekanan darah dalam satuan mmHg.

Data yang diperoleh dianalisa dengan Analisis Varian (ANOVA) dilanjutkan dengan uji beda nyata yaitu BNT (Beda Nyata Terkecil) menggunakan selang kepercayaan 5% serta DMRT (Duncan Multiple Range Test) dengan selang kepercayaan 1% dan 5%. Sedangkan pengujian perlakuan terbaik menggunakan metode Zeleny.

Analisa Aktivitas Antioksidan (IC₅₀)

Prosedur analisa aktivitas antioksidan IC₅₀ berdasarkan Sharma and Bhat (2009), yaitu ekstrak dibuat dengan berbagai pengenceran seperti 100, 200, 300, 400, 500 dan 600 ppm dalam aquades. Masing-masing pengenceran diambil 2 ml dan dimasukkan dalam tabung reaksi. Masing-masing pengenceran ditambahkan reagen DPPH sebanyak 1 ml dalam tabung reaksi. Larutan kemudian divortex dan dilakukan absorbansi pada panjang gelombang 517 nm [13].

Analisa Total Fenol

Prosedur analisa total fenol menurut George, *et al.* (2005) yaitu 0.2 ml ekstrak diambil dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi, 1 ml reagen Folin ciocalteau 10% dan 0.8 ml Na₂CO₃ 7,5% ditambahkan ke dalam tabung reaksi, campuran divortex agar homogen, campuran diinkubasi di dalam suhu ruang selama 30 menit dan diabsorbansi larutan diukur pada panjang gelombang 765 nm serta dibandingkan dengan standart asam galat [14].

Analisa Total Flavonoid

Prosedur analisa total flavonoid menurut Atanassova, *et al.* (2011), yaitu 1 ml ekstrak ditambah 4 ml aquades dan 0,3 ml NaNO₂ 5%, larutan diinkubasi selama 5 menit, kemudian larutan ditambahkan 0,3 ml AlCl₃ 10% dan diinkubasi 6 menit, lalu larutan ditambah dengan 2 ml NaOH 1 M dan 2.4 ml aquades, serta larutan kemudian divortex dan dilakukan absorbansi pada panjang gelombang 401 nm [15].

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Hasil Analisa Kandungan Kimia Perlakuan Proporsi Ekstrak

Tabel 1. Hasil Analisa Aktivitas Antioksidan (IC₅₀), Fenol, Serta Flavonoid Proporsi Ekstrak Buah Delima Merah dan Daun Sirih Merah

Perbandingan Ekstrak Delima Merah : Daun Sirih Merah	IC ₅₀ (µg/mL)	Total Fenol (µg/mL)	Total Flavonoid (µg/mL)
1:4	298.46 ± 6.91 ^d	389.53 ± 3.10 ^c	710.29 ± 2.86 ^c
1:2	223.20 ± 4.93 ^{ab}	399.10 ± 1.64 ^d	764.57 ± 2.86 ^e
2:3	343.17 ± 3.07 ^e	329.70 ± 1.71 ^b	526.00 ± 6.23 ^b
1:1	376.20 ± 12.16 ^f	256.47 ± 1.64 ^a	458.86 ± 2.86 ^a
3:2	267.50 ± 10.85 ^c	410.57 ± 0.82 ^e	715.52 ± 2.18 ^d
4:1	211.60 ± 1.35 ^a	419.31 ± 1.,25 ^f	788.38 ± 13.87 ^f

Keterangan : Data dari rerata 3 kali ulangan

Hasil analisa aktivitas antioksidan (IC₅₀), menunjukkan bahwa proporsi 4:1 memiliki aktivitas antioksidan tertinggi, hal ini didukung dari Yen (2008) yang menyatakan bahwa makin cepat

nilai absorbansi turun maka makin besar potensial antioksidan tersebut dalam mendonorkan hidrogen [16]. Selain itu, senyawa bioaktif yang terekstrak dari buah delima merah lebih banyak dibandingkan daun sirih merah seperti tanin terhidrolisis serta golongan polifenol dan glikosidanya yang bersifat polar sehingga bisa terekstrak bersama air, dibandingkan kandungan daun sirih merah yang banyak mengandung minyak atsiri [17]. Kandungan delima memiliki senyawa *hydrolyzable* tanin (punicalagin) dan flavonoid yang tinggi pada ekstrak segar buah delima merah [18]. Menurut Seeram (2006), menyatakan bahwa senyawa punicalagin bertanggung jawab dalam 50% dari total aktivitas antioksidan pada buah delima merah, serta senyawa yang terisolasi dari jus buah delima merah yaitu asam galat, asam ellagic, tannin, total antosianin dan spesifik antosianin yaitu cyaniding-3-O- β -glucopyranoside, cyaniding-3,5-di-O- β -glucopyranoside, delphinidin-3-O- β -glucopyranoside, dan pelagornidin-3-O- β -glucopyranoside, selain itu dalam 1 L jus buah delima merah mengandung 4.37 g/L isomer punicalagin [11].

Kandungan fenol pada perbandingan 4:1 merupakan yang tertinggi, hal ini didukung dari kandungan delima merah yang tinggi polifenol. Menurut Seeram (2006), polifenol yang terlarut dalam jus buah delima merah antara 0.2 hingga 1.0% terdiri dari flavonoid (kuersetin, myricetin, kaempferol, luteolin) dan *hydrolyzable* tanin (HTs) [11]. HTs merupakan polifenol yang dominan pada jus buah delima merah dan menyumbangkan hingga 92% dari aktivitas antioksidan, selain itu HTs yang ditemukan pada jus buah delima merah selain punicalagin yaitu punicalin, pedunculagin, asam gallic dan ester asam ellagic dari glukosa [11]. Menurut Nigris (2007), bahwa polifenol punicalagin bersifat larut air dan bioavailabilitasnya tinggi [18]. Kandungan senyawa bioaktif dari daun sirih merah yaitu lebih dominan minyak atsiri hingga 1-4.2% serta hanya 30% dari minyak atsiri tersebut yang mengandung fenol sehingga senyawa bioaktif yang ikut terekstrak dengan pelarut aquades lebih sedikit [19]. Menurut Dzakiyyah (2000) senyawa dengan polaritas tinggi lebih cocok untuk ekstraksi senyawa-senyawa fenol karena senyawa fenol bersifat polar seperti aquades [20].

Kandungan flavonoid pada proporsi 4:1 paling tinggi didukung dari kandungan antioksidan yang terekstrak dari buah delima merah lebih banyak dibandingkan daun sirih merah karena kandungan flavonoidnya seperti antosianin mencapai 17 mg/g pada buah delima merah serta kandungan flavonoid glikosidanya yang bersifat polar karena adanya gula yang terikat yang menyebabkan mudah larut dalam air [21]. Selain itu, menurut Ata (2010), identifikasi UV-Vis menunjukkan bahwa jenis flavonoid yang terdapat pada daun sirih merah adalah senyawa flavonol, flavanon, isoflavon dan auron [22].

2. Perlakuan Terbaik Serbuk Instan

Berdasarkan hasil analisa kandungan kimia dari perlakuan proporsi buah delima merah dan daun sirih merah didapatkan hasil proporsi perlakuan terbaik yang kemudian akan dikeringkan menggunakan

freeze drying dengan penambahan maltodekstrin 5%. Hasil analisa kandungan kimia serbuk instan sebelum dan sesudah dikeringkan dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil Analisa Kandungan Kimia Serbuk Instan Sebelum dan Sesudah Dikeringkan

Parameter	Sebelum Dikeringkan	Setelah Dikeringkan
Analisa Antioksidan IC ₅₀	211.60 ± 1.35 µg/mL	59.43 ± 5.43 µg/mL
Total Fenol	419.31 ± 1.25 µg/mL	164.04 ± 0.49 mgGAE/g
Total Flavonoid	788.38 ± 13.87 µg/mL	60.41 ± 0.36 mgQE/g
Kadar Air	97.00 ± 0.35 %	2.35 ± 0.28 %

Keterangan : Data berasal dari 3 kali ulangan. Kondisi sampel :

- Sebelum dikeringkan : bentuk sampel ekstrak segar
- Setelah dikeringkan : bentuk sampel serbuk dengan penambahan maltodekstrin 5%.

Kandungan kimia pada serbuk instan mengalami peningkatan. Menurut Suryadi (2013), bahwa *freeze dryer* memiliki keunggulan dibandingkan pengeringan lainnya yakni dapat mempertahankan stabilitas produk, stabilitas struktur bahan serta meningkatkan daya rehidrasi dibandingkan metode pengeringan lainnya [23]. Proses *freeze drying* menggunakan suhu <-10°C dan tekanan <2 mmHg sehingga hasil pengeringan memberikan tekstur yang lebih berpori dan struktur yang tidak menyusut serta daya rehidrasi yang tinggi [24].

3. Pengujian Penurunan Tekanan Darah

Tabel 5. Data presentase penurunan tekanan darah tikus (mmHg)

Perlakuan	Minggu ke-0	Minggu ke-3	% Penurunan
Kontrol Negatif	106 ± 9.69	95 ± 14.82	3.76 a
Kontrol Positif	198 ± 17.06	201 ± 2.94	-2.55 a
Kaptopril (2,5 mg/kgBB)	204 ± 13.45	97 ± 2.06	37.43 b
Dosis 1 (616,67 mg/kgBB)	213 ± 16.50	112 ± 6.85	33.78 b
Dosis 2 (1850,01 mg/kgBB)	208 ± 9.76	98 ± 2.75	38.31 b

Keterangan : Data dari rerata 4 kali ulangan

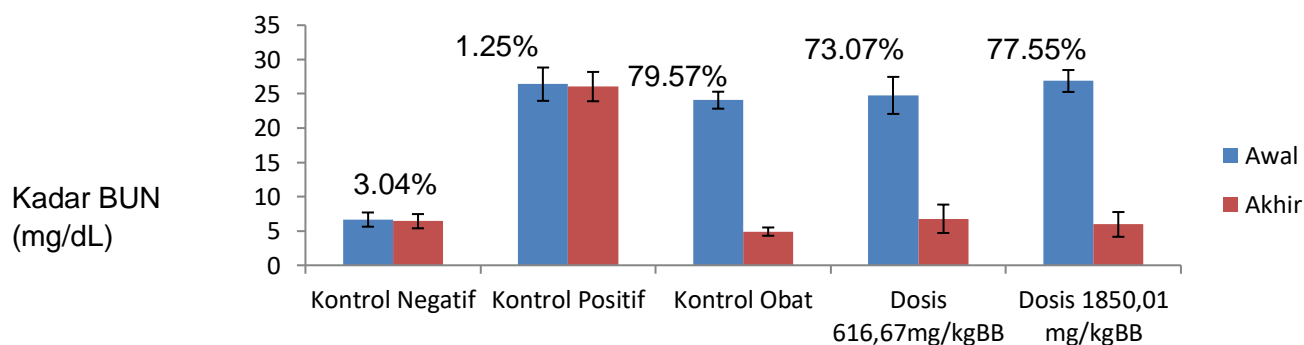
Presentase penurunan oleh kaptopril tidak berbeda nyata dengan dosis 2 (1850.01 mg/kgBB). Menurut Prasetyo (2014), obat kaptopril bekerja menurunkan tekanan darah dengan berperan sebagai *Angiotensin Converting Enzym Inhibitor (ACE Inhibitor)* yaitu menghambat pembentukan angiotensin 2 dari angiotensin 1, dalam hal ini angiotensin 2 berperan dalam menaikkan tekanan [25]. Sedangkan senyawa bioaktif pada serbuk instan menurunkan tekanan darah dengan berperan sebagai *Angiotensin Receptor Blocker (ARB)* yaitu menghentikan angiotensin 2 untuk menempel pada reseptor yang berada pada endotel sehingga produksi hormon aldosterone tidak meningkat [26].

Presentase penurunan tekanan darah pada dosis 2 lebih besar dibandingkan dosis 1 didukung dari semakin tingginya dosis maka semakin efektif kinerja senyawa bioaktifnya. Mekanisme

penurunan tekanan darah menurut Iraz (2005) dari serbuk instan yaitu simpatolitik dengan menurunkan curah jantung dimana asam kafeat menempel pada reseptor β_1 yang berfungsi dalam menurunkan tahanan perifer sehingga otot-otot pada jantung dapat memompa darah dengan mudah serta menurunkan kemungkinan pecahnya arteri, mempengaruhi reseptor β_2 dalam peranannya sebagai penghambat ACE (*Angiotensin Converting Enzym*) atau ACE inhibitor [25]. Selain itu, menurut Iraz (2005) dan Seeram (2006), asam kafeat dan punicalagin juga menempel pada reseptor α_1 dimana akan menghambat menempelnya angiotensin 2 yang akan menyebabkan vasokonstriksi pada pembuluh darah. Mekanisme penurunan tekanan darah juga berasal dari sifat antioksidan sebagai zat pembentuk diuretik yaitu senyawa bioaktif seperti tanin, kuersetin, kaempferol, asam kafeat, asam ferulik dan kuersetin meningkatkan ekskresi natrium, Cl^- atau HCO_3^- yang merupakan elektrolit luar sel dan bersifat diuretik [26]. Selain itu, flavonoid (kuersetin, antosianin, kaempferol) dapat meningkatkan urinasi dan pengeluaran elektrolit melalui pengaruhnya terhadap kecepatan filtrasi glomerulus (GFR) dalam kapsula bowman dengan berperan layaknya kalium, yaitu mereabsorpsi cairan ion-ion elektrolit seperti natrium yang ada didalam intraseluler darah untuk menuju yang ekstraseluler memasuki tubulus ginjal [27].

4. Penurunan Kadar Blood Urea Nitrogen (BUN)

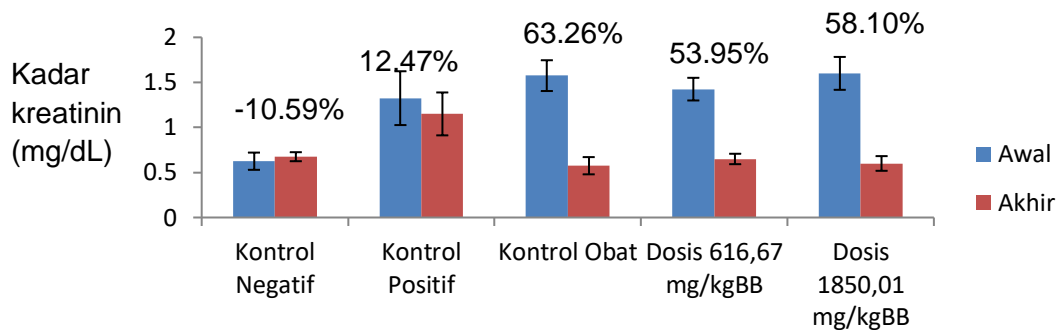
Penurunan tekanan darah akan memberi efek terhadap penurunan kadar BUN dan kreatinin tikus. Grafik presentase penurunan kadar BUN dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Grafik Presentase Penurunan Kadar BUN

Presentase penurunan kadar BUN pada dosis 2 lebih besar dibandingkan dosis 1 yaitu 77.55% serta ditunjukkan dengan kadar BUN dalam kondisi normal (6-21 mg/dL). Dengan penurunan tekanan darah maka akan menyebabkan tekanan darah yang mengalir ke ginjal menjadi normal dan mengurangi beban kinerja ginjal sehingga memberikan waktu bagi ginjal untuk meregenerasi sel serta nefron menjadi lebih baik. Perbaikan fungsi ginjal ditandai dengan penurunan kadar BUN. Menurut Zulfiani (2015), kandungan senyawa flavonoid dan antosianin mampu membantu ginjal dalam proses regenerasi sel, perbaikan struktur ginjal, menghindari kematian sel [28].

5. Penurunan Kadar Kreatinin



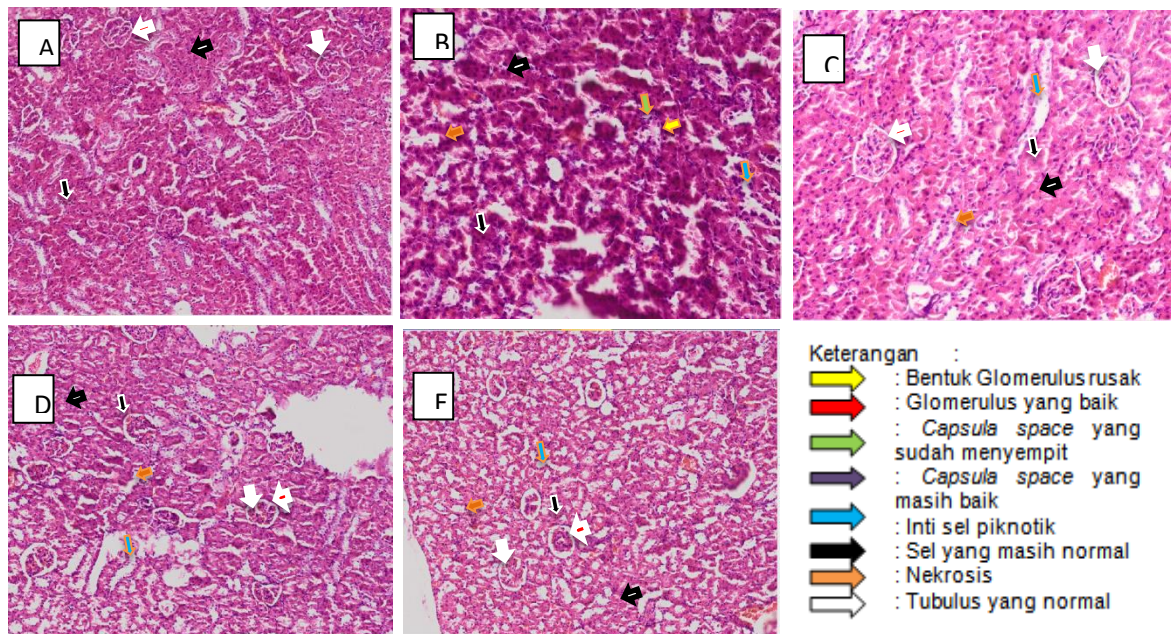
Gambar 3. Grafik Presentase Penurunan Kreatinin

Menurut Jeff (2011), kadar kreatinin normal yaitu 0.2-0.8 mg/dL dan salah satu penyebab kenaikan kadar kreatinin yaitu hipertensi [29]. Presentase penurunan kadar kreatinin dosis 2 lebih baik dibandingkan dosis 1. Hal ini didukung menurut Kochar *and* Rossel (1990), antioksidan berperan dalam mendonorkan atom hidrogennya pada sel yang mengalami radikal sehingga sel tersebut menjadi stabil kembali [30]. Selain itu, mekanisme penurunan tekanan darah dari serbuk instan yaitu simpatolitik dengan menurunkan curah jantung dimana senyawa bioaktif (asam kafeat, punicalagin) menempel pada reseptor β_1 yang berfungsi dalam menurunkan tahanan perifer sehingga otot-otot pada jantung dapat memompa darah dengan mudah sehingga volume darah yang masuk ke ginjal juga menurun dan mengurangi beban kerja ginjal dan sistem filtrasi kreatinin menjadi lancar.

6. Histopatologi Ginjal

Gambaran histopatologi ginjal tikus setelah mendapat perlakuan serbuk instan dan kaptopril dapat dilihat pada Gambar 4. Pada gambar histopatologi ginjal perlakuan serbuk instan menunjukkan adanya pengurangan nekrosis sel tubulus dan perbaikan struktur glomerulus dibandingkan kontrol positif. Pada glomerulus terlihat bentukan *capsular space* dengan jelas yang menunjukkan bahwa glomerulus mengalami perbaikan. Nekrosis merupakan kematian sel akibat kerusakan berat yang ditandai oleh kerusakan struktural seluler secara menyeluruh yang diikuti dengan lisisnya sel dan peradangan jaringan, kematian sel umumnya paling jelas ditunjukkan pada perubahan inti sel akan menyusut, batasnya tidak beraturan, dan berwarna lebih gelap yang disebut inti sel piknotik, selain itu ada kemungkinan inti hancur dan meninggalkan pecahan zat kromatin yang tersebar dalam sel yang disebut dengan karioreksis, hal ini menyebabkan kehilangan kemampuan untuk diwarnai dan disebut kariolisis [31]. Perbaikan histopatologi ginjal dikarenakan serbuk instan memiliki kemampuan antioksidan yang mampu memperbaiki histopatologi ginjal dengan menangkap radikal bebas, menghambat peroksidase lipid dan berperan dalam menurunkan

tekanan darah yang masuk ke dalam ginjal sehingga beban kerja ginjal berkurang dan mengalami regenerasi sel pada ginjal [31]. Pebaikan histopatologi ginjal pada perlakuan serbuk instan dosis 1850.01 mg/kgBB memberikan efek yang lebih mendekati kontrol negatif dibandingkan dosis 616.67 mg/kgBB.



Gambar 4. Histopatologi Ginjal Tikus (HE, 400x); Tikus Normal (A), Tikus Hipertensi (B), Tikus Hipertensi Terapi Kaptopril Dosis 2.5 mg/kgBB (C), Tikus Hipertensi Terapi Serbuk Instan Dosis 1 (D), Tikus Hipertensi Terapi Serbuk Instan Dosis 2 (E).

SIMPULAN

Serbuk instan campuran ekstrak buah delima merah dan daun sirih merah perlakuan proporsi terbaik yaitu 4 : 1 memberikan pengaruh terhadap aktivitas antioksidan (IC_{50}), fenol dan flavonoid yaitu aktivitas antioksidan (IC_{50}) 59.43 $\mu\text{g/mL}$, total fenol 984.24 mgGAE/6g serta total flavonoid 362.46 mgQE/6g.

Hasil pengujian antihipertensi terbaik pada hewan coba dengan dosis 2 (1850.01 mg/kg BB) terjadi penurunan presentase tekanan darah sistolik tikus 38.31%, kadar BUN 77.55% serta kadar kreatinin 58.10%.

DAFTAR PUSTAKA

- [1]. Gaziano, T.A. 2007. Reducing The Growing Burden of Cardiovascular Disease in The Developing Word. Health Aff. Millwood
- [2]. Lilyana. 2008. Faktor-faktor hipertensi. FKMUI. Jakarta

- [3]. American College of Physicians (ACP). 2004. Living with Hypertension. The StayWell Company. American
- [4]. Handoyo dan Saryono. 2006. Kadar Ureum dan Kreatinin Darah Pada Pasien yang Menjalani Terapi Hemodialisis di Rumah Sakit Umum Margono Soekarjo Purwokerto. *Jurnal Ilmiah Kesehatan Keperawatan*. 2(1)
- [5]. Mayanti, S. 2013. Berbagai Efek Samping Serius dari Obat Kimia. <<http://uad.ac.id/waspadai-efek-samping-obat/>>. Tanggal akses: 2/07/2015
- [6]. Rahajeng E, Sulistyowati T. 2009. Prevalensi Hipertensi dan Determinannya di Indonesia. Departemen Kesehatan RI. Jakarta
- [7]. Kholifa M. 2010. Pengaruh Konsentrasi Ekstrak Etanol Buah Delima (*Punica granatum* Linn.) terhadap Peningkatan Apoptosis Sel Kanker Lidah Manusia SP-C1 In Vitro. Universitas Muhammadiyah. Surakarta
- [8]. Nisa G. K., Wahyunanto A.N., Yusuf H. 2014. Ekstraksi Daun Sirih Merah (*Piper crocatum*) dengan Metode Microwave Assisted Extraction (MAE). Universitas Brawijaya. Malang
- [9]. Hung, C. Y. and G. C. Yen. 2002. Antioxidant Activity of Phenolic Compounds Isolated from *Mesona procumbens* Helmsl. *Journal of Agricultural Food Chemistry* 50 : 2993-2997
- [10]. Amic, D., Davidovic-Amic D., Beslo D., and Trinasjtic N. 2013. Structure Radical Scavenging Activity Relationship of Flavonoids. *Croatia Chemical Acta* 76:55-61
- [11]. Seeram, P.; Risa S.; David H. 2006. Pomegranates Ancients Roots to Modern Medicine. Taylor and Francis Group. New York
- [12]. Yulianawati, S. 2015. Pengaruh Bahan Pengisi Terhadap Kandungan Bioaktif Daun Sirsak (Kajian Proporsi Bahan Pengisi dengan Jenis Pelarut). Program Strata 1 Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya. Malang
- [13]. Sharma O.P., and Bhat T.J. 2009. DPPH Antioxidant Assay Revisited. *Food Chemistry*. 113 : 1202-1205
- [14]. George C, Brat P, Alter P, and Amlot MJ. 2005. Rapid Determination of Polyphenol and Vitamin C in Plant Derived Product. *Journal of Agriculture, Food And chemistry*. 53 : 1370-1373
- [15]. Atanassova M., Georgieva S., and Ivancheva K. 2011. Total Phenolic and Total Flavonoid Contents, Antioxidant Capacity and Biological Contaminants in Medicinal Herbs. *Journal of The University of Chemical Technology and Metallurgy*, 46 (1) : 81-88
- [16]. Yen, G. C.; Hou, C. L.; Fang, S. C. 2008. Anti-inflammatory Effects of Phenolic Compounds isolated from The Fruits of *Artocarpus heterophyllus*. *Journal Agricultural Food Chemistry*. 10: 1021
- [17]. Andarwulan, N., Ratna B., and Diny A. 2010. Flavonoid Content and Antioxidant Activity of Vegetables From Indonesia. *Food Chemistry Journal*. 121:1231-1235
- [18]. Nigris, F; S. Williams; V. Sica. 2007. Effect of Pomegranate Extract Rich in Punicalagin on Oxidation-Sensitive Genes and eNOS activity at sites of Perturbed Shear Stress and Atherogenesis. <<http://cardiovascres.oxfordjournals.org/content/73/2/414>>. Tanggal akses: 2/10/2015
- [19]. Andrini LR. 2012. Surakarta. Uraian Tumbuhan. <<http://griyatanamanobat.com/uraian-tumbuhan/>>. Tanggal akses: 22/5/2015
- [20]. Dzakiyyah, A. 2000. Evaluasi Antioksidan Ekstrak Rimpang Kunyit, Kencur, Temu Giring dan Temu Kunci Menggunakan Sistem DPPH dan Linoleat. Skripsi FTP. UGM. Yogyakarta
- [21]. Andygyan, V. 2013. Pengaruh Pemberian Jus Kulit Delima (*Punica granatum*) Terhadap Kadar Kolesterol Total Wanita Hiperkolesterolemia. Program Sarjana Universitas Diponegoro. Semarang
- [22]. Ata, D. 2010. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid dari Daun Sirih Merah (*Piper betle* L. var *Rubrum*). <<https://elokkamilah.wordpress.com/research/abstrak-tahun-2010/>>. Tanggal akses: 9/10/2015

- [23]. Suryadi, J. 2013. Daya Antoksidan Ekstrak Etanol Kulit Buah Manggis Pengeringan Matahari Langsung dan Pengeringan Freeze Dryer. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Universitas Surabaya* 2(1)
- [24]. AmericanLyophilizer. 2015. Freeze Drying. <<http://freezedrying.com/freeze-dryers/general-principles-of-freeze-drying/>>. Tanggal akses: 3/12/2015
- [25]. Iraz, M., Ersin, F., Seda, T., Burhan, A., and Selim, E. 2005. Dose Dependent Effect of Caffeic Acid Phenethyl Ester on Heart Rate and Blood Pressure in Rats. Faculty of Medicine, Malatya, *Turkey Eur Journal gen Media*. 2(2):69-75
- [26]. Septian, B. A. dan Widyaningsih, T. D. 2014. Peranan Senyawa Bioaktif Minuman Cincau Hitam (*Mesona palustris* Bl.) Terhadap Penurunan Tekanan Darah Tinggi: Kajian Pustaka. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. 2(3) p. 198-202
- [27]. Adha A.C. 2009. Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Alpukat (*Persea americana* Mill.) Terhadap Aktivitas Diuretik Tikus Putih Jantan Sprague-Dawley. Skripsi. Fakultas Kedokteran Hewan. Institut Pertanian Bogor. Bogor
- [28]. Zulfiani, Syafriddin I., dan Salomo H. 2015. Pengaruh Pemberian Vitamin C dan E Terhadap Histologis Ginjal Mencit yang Dipajankan Monosodium Glutamat. Universitas Sumatera Utara. Sumatera Utara
- [29]. Jeff M., Mitzi A and Janet D. 2011. Regulation of Renal Urea Transport by Vasopressin. *American Clinical and Climatological Assosiation*. 122:82-92
- [30]. Kochar, S.P. dan B. Rossell. 1990. Detection Estimation and Evaluation of Antioxidants in Food System. In B.J.F. Hudson, editor. *Food Antioxidants*. Elvisier Applied Science. London
- [31]. Aprilidya, B., Masdiana C., Padaga dan Ayu D. 2015. Pengaruh Terapi Kasein Yogurt Susu Kambing Terhadap Kadar Malondehaldehide (MDA) dan Gambaran Histopatologi Ginjal Tikus Model Hipertensi Induksi DOCA-Salt. Program Kedokteran Hewan. Universitas Brawijaya