

AKTIVITAS ANTIHIPERURIKEMIA EKSTRAK ETIL ASETAT DAN ETANOL BUAH SALAK VARIETAS BONGKOK (*Salacca edulis* Reinw.) PADA TIKUS GALUR WISTAR

[Antihyperuricemic Activity of Ethyl Acetate and Ethanol Extracts of Snake Fruit var. Bongkok (*Salacca edulis* Reinw.) on Wistar Rat]

Leni Herliani Afrianti^{1)*}, Elin Yulinah Sukandar²⁾, I Ketut Adnyana²⁾, dan Slamet Ibrahim³⁾

¹⁾Departemen Teknologi Pangan Universitas Pasundan Bandung

²⁾Farmakologi-Farmasi Klinik, Sekolah Farmasi Institut Teknologi Bandung

³⁾Farmasi Kimia Analisis, Sekolah Farmasi Institut Teknologi Bandung

Diterima 07 Januari 2009 / Disetujui 21 Juni 2011

ABSTRACT

The aims of the study was to determine antihyperuricemic activity of ethyl acetate and ethanol extracts of snake fruit (*Salacca edulis* Reinw.) var. Bongkok on Wistar male rats. Wistar male rats administered with 100 and 200 mg/kg b.w ethyl acetate extract and 200 mg/kg b.w ethanol extract and simultaneously induced with potassium oxonate peritoneally and uric acid orally showed decreased uric acid serum level significantly as compared to control group at 6th and 7th hour ($p < 0.05$). Meanwhile ethanol extract at 100 mg/kg bw did not affect uric acid serum level significantly. Determination of uric acid level in urine of the rats, indicated that administration of ethanol extract at 200 mg/kg bw, or probenecid as a standard at 45 mg/kg bw, increased excretion of urine uric acid level significantly as compared to control group at 7th hour ($p < 0.05$). Additionally, administration of ethyl acetate extract at 100 and 200 mg/kg bw did not show an increase of uric acid excretion in urine. Mechanism of action of the ethyl acetate extract and ethanol extract as an antihyperuricemic agent has been proposed by inhibition of xanthine oxidase activity which decrease the synthesis of uric acid. Hence, the mechanism of action of antihyperuricemia of the ethanol extract was suggested to be an uricosuric i.e. increases the excretion of urine uric acid and xanthine oxidase inhibitory.

Key words : Snake fruit var. Bongkok, ethyl acetate extract, ethanol extract, Antihyperuricemic, probenecid, Wistar male rat

PENDAHULUAN

Salah satu penyakit generatif adalah pirai, penyakit ini ditandai dengan terjadinya hiperurikemia yaitu kondisi asimtomatik dimana kadar asam urat dalam darah melebihi normal. Kadar normal asam urat dalam darah seorang pria adalah 3,4-7,0 mg/dL, sedangkan wanita lebih rendah yaitu 2,4-5,7 mg/dL. Asam urat merupakan produk akhir dari metabolisme purin. Asam urat dihasilkan dari pemecahan makanan dan sisa pembuangan makanan yang mengandung purin atau berasal dari nukleotida purin yang diproduksi oleh tubuh. Tingginya kadar asam urat di dalam darah disebabkan banyaknya hasil metabolisme purin, sedangkan ekskresi asam urat melalui urin terlalu sedikit (Katzung, 2002). Enzim yang berperan dalam sintesis asam urat adalah xantin oksidase yang aktif bekerja dalam hati, usus halus dan ginjal. Tanpa bantuan enzim ini, asam urat tidak dapat dibentuk. Xantin oksidase adalah kompleks metalo-flavoprotein yang mengoksidasi hipoksantin menjadi xantin, dan xantin menjadi asam urat (Fields *et al.*, 1996). Selama proses oksidasi terjadi pembentukan radikal bebas yang dapat meningkatkan aktivitas xantin oksidase sehingga kadar asam urat dalam tubuh akan meningkat. (Al-Qirim *et al.*, 2002; Fields *et al.*, 1996; Vogel *et al.*, 1997; Zhu *et al.*, 2004).

Senyawa antioksidan alami tumbuhan umumnya adalah senyawa golongan flavonoid. Flavonoid merupakan salah satu golongan senyawa aromatik alam. Beberapa flavonoid dari suatu tanaman dapat mengendalikan kenaikan kadar asam urat plasma tikus percobaan dengan mencegah pembentukan radikal bebas (Al-Qirim *et al.*, 2002; Zhu *et al.*, 2004).

Menurut Al-Qirim *et al.*, (2002), senyawa flavonoid dan alkaloid dalam daun *khat* (*Catha edulis*) yang terdapat di Afrika Timur dan Arab dapat menurunkan kadar asam urat (5%) dan glukosa (33%) serum pada hewan tikus. Ekstrak *Biota orientalis* digunakan untuk terapi pirai dan rematik. Pada tanaman tersebut terkandung quercetin dan rutin yang secara *in vitro* dapat menghambat aktivitas xantin oksidase dan secara *in vivo* dapat menurunkan kadar asam urat dalam serum tikus hiperurikemia (Zhu *et al.*, 2004).

Senyawa baru yang berhasil diisolasi dalam ekstrak etil asetat buah salak Bongkok yaitu asam metil-pirol-2,4-dikarboksilat yang mempunyai aktivitas antioksidan dan dapat menghambat xantin oksidase secara *in vitro* (Afrianti *et al.*, 2006). Senyawa asam metil-pirol-2,4-dikarboksilat konsentrasi 0,01; 0,02; 0,2; 2; dan 2000 µg/ml mampu meredam aktivitas xantin oksidase masing-masing sebesar 27,7; 30,5; 37,3; 50,3 dan 50,6% dengan IC₅₀ 48,86 µg/ml (Afrianti *et al.*, 2007). Tujuan penelitian adalah menentukan aktivitas antihiperurikemia ekstrak etil asetat dan etanol dari buah salak (*Salacca edulis* Reinw.) varietas Bongkok pada tikus galur Wistar.

*Korespondensi Penulis
Email : leni_priyatno@yahoo.com

METODOLOGI

Bahan dan alat

Bahan yang digunakan adalah buah salak varietas Bongkok dari Desa Congeang Kabupaten Sumedang. Pelarut etil asetat, etanol, air suling, bahan untuk induksi adalah CMC-natrium, kit pereaksi asam urat, asam urat, kalium oksonat dari laboratorium SINDO.

Peralatan yang digunakan adalah neraca analisis, *tunnel drier*, tabung maserasi, rak dan tabung reaksi, lemari pendingin, autoclaf, vial, mikropipet 50 μ l dan 500 μ l, *Fotometer Tecno 108*, jarum oral, jarum suntik, dan alat penguang vakum putar.

Hewan uji

Tikus percobaan yang digunakan adalah tikus putih jantan galur Wistar usia \pm 2 bulan dengan bobot 120-150 \pm 9,8 yang diperoleh dari Sekolah Ilmu Teknologi Hayati Institut Teknologi Bandung.

Pembuatan simplisia dan ekstraksi simplisia buah salak Bongkok

Buah salak Bongkok dikukus pada 60-70°C, selama 15 menit dan dikeringkan dengan *Tunnel dryer* pada suhu 40°C selama 5 hari. Kemudian dilakukan penggilingan untuk mendapatkan serbuk simplisia buah salak Bongkok. Ekstraksi simplisia dilakukan dengan maserasi menggunakan pelarut etil asetat, dan etanol. Ekstraksi dilakukan dengan maserasi-perkolasi pada suhu ruang (23-27°C) dengan pelarut etil asetat dan etanol masing-masing selama 3 x @ 24 jam.

Pembuatan suspensi natrium urat

Sebanyak 0,4 g NaOH dilarutkan ke dalam 400 mL air destilasi pada *beaker glass*. Lalu ditambahkan 1,69 g asam urat. Larutan tersebut dibiarkan pada suhu ruang (23-27 °C) selama 12 jam dan larutan supernatan disaring. Kemudian endapandicuci 3 kali dengan natrium klorida 0,9% dingin, dibiarkan sampai kering (mengkristal). Kemudian diambil 0,25 g kristal lalu disuspensikan dengan CMC-Na 0,5% sebagai zat pensuspensi. Suspensi untuk injeksi yang 15 mg/kg bb Na-urat disimpan dalam vial multiple dose (Vogel,1997; Zhu *et al.*, 2004).

Perlakuan hewan coba

Pemberian ekstrak dan kontrol positif (obat) secara oral berturut-turut selama 5 hari dilakukan pada tiga puluh enam ekor tikus jantan Wistar dikelompokkan secara acak menjadi enam kelompok, sebagai berikut ini :

- (i) Kelompok kontrol negatif (CMC 0,5%)
- (ii) Kelompok yang diberi ekstrak etil asetat dosis 100 mg/kg bb
- (iii) Kelompok yang diberi ekstrak etil asetat dosis 200 mg/kg bb
- (iv) Kelompok yang diberi ekstrak etanol dosis 100 mg/kg bb
- (v) Kelompok yang diberi ekstrak etanol dosis 200 mg/kg bb
- (vi) Kelompok yang diberi kontrol positif probenesid (45 mg/kg bb).

Pada hari ke-6 pemberian ekstrak dan obat dihentikan, kemudian masing-masing tikus dipuaskan selama 12 jam. Pada hari ke-7 pada jam ke-0 dilakukan pengambilan darah pada seluruh kelompok untuk memperoleh kondisi normal. Setelah itu dilakukan induksi suspensi kalium oksonat (200 mg/kg bb) secara intraperitoneal dan Na-urat (15 mg/kg bb) secara oral pada seluruh kelompok tikus. Pada jam ke-4,5,6 sampai jam ke-10 dilakukan pengambilan 0,5 mL sampel darah pada seluruh kelompok.

Persiapan sampel darah

Darah diambil sebanyak 0,5 mL dengan cara memotong ujung ekor tikus kemudian dimasukkan ke dalam tabung Eppendorff dan disentrifuga dengan kecepatan 12.000 rpm selama 5 menit. Serum yang sudah terpisah dipindahkan ke dalam tabung Eppendorff lain dan dilakukan penetapan kadar dalam asam urat serum.

Pengukuran kadar asam urat dalam serum

Penetapan kadar asam urat dalam serum darah dilakukan dengan metode enzimatis PAP uricase. Sebanyak 5 μ L serum dicampurdengan 0,25 mL kit pereaksi asam urat, diinkubasi pada suhu 37°C selama 5 menit, lalu diukur kadar asam urat dengan menggunakan alat Spektrofotometer *Tecno 108* pada panjang gelombang 546 nm.

Persiapan sampel urin

Persiapan sampel urin dilakukan sama dengan seperti sampel darah. Namun setelah dilakukan induksi seluruh kelompok tikus ditempatkan pada kandang penampungan urin, dan pada hari ke-7 dilakukan pengambilan urin pada seluruh kelompok.

Pengukuran kadar asam urat dalam urin

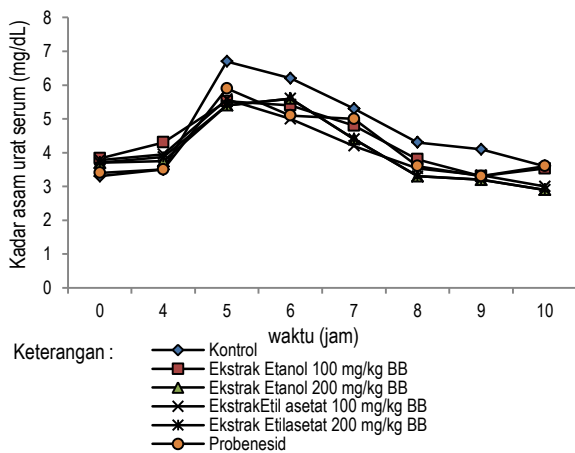
Sebanyak 1 mL urin ditambah 9 mL aquades dikocok hingga homogen. Kemudian diambil 20 μ L dan dicampur dengan 1 mL kit pereaksi asam urat, diinkubasi pada suhu 37°C selama 10 menit, lalu diukur kadar asam urat dengan menggunakan alat *Fotometer Tecno 108* pada panjang gelombang 546 nm. Analisis statistik yang digunakan untuk menentukan kebermaknaan efekkadar asam urat adalah dengan *t*-student pada batas kepercayaan 95%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penurunan kadar asam urat dalam serum dan urin

Hasil pengukuran kadar asam urat pada jam ke-0 (kondisi normal) tidak menunjukkan perbedaan bermakna ($p < 0,05$) terhadap kontrol pada seluruh kelompok tikus. Hal ini dapat disimpulkan bahwa kondisi normal seluruh kelompok tikus adalah homogen yaitu memiliki kadar asam urat yang sama.

Induksi hiperurikemia dengan pemberian kalium oksonat dan natrium urat dilakukan pada jam ke-0 setelah pemberian zat uji dan kontrol selama 5 hari memberikan pengaruh yaitu pada jam ke-4 sampai jam ke-7 kadar asam urat masih mengalami kenaikan dibandingkan jam ke-0 (Gambar 1).



Gambar 1. Kadar asam urat dalam serum tikus jantan galur Wistar yang diberi ekstrak buah salak Bongkok dan probenesid

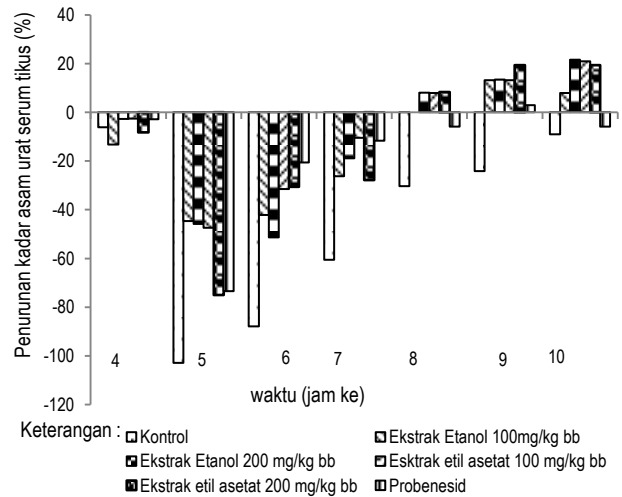
Tikus jantan Wistar yang diberi ekstrak etilasetat buah salak Bongkok 100 mg/kg bb, 200 mg/kg bb, dan ekstrak etanol 200 mg/kg bb dapat menurunkan kadar asam urat serum yang berbeda bermakna ($p < 0,05$) dibandingkan kontrol pada jam ke-6 dan ke-7. Namun, pemberian probenesid sebagai pembanding tidak menunjukkan penurunan kadar asam urat serum yang tidak berbeda bermakna ($p < 0,05$) dibandingkan kontrol. Hal ini disebabkan karena probenesid tidak menunjukkan efek yang dapat menurunkan kadar asam urat dalam darah, karena kerja probenesid adalah sebagai urikosurik. Pemberian kalium oksonat dan natrium urat dapat menyebabkan peningkatan kadar asam urat serum secara signifikan. Namun ekstrak tanaman *Biotaorientalis* yang mengandung quersetin dan rutin diberikan selama 1, 3 dan 5 hari sebelum perlakuan hiperurikemia secara signifikan mengurangi tingkat asam urat serum tikus dibandingkan kontrol (Zhu *et al.*, 2004). Quersetin dan rutin dalam *Biota orientalis* mengandung flavonoid yang dapat mengurangi asam urat serum pada tikus yang diinduksi dengan kalium oksonat secara *in vivo* dan menghambat aktivitas enzim xantinoksidase pada hati tikus secara *in vitro* (Nagao *et al.*, 1999).

Pengujian secara *in vitro* ekstrak etilasetat mampu meredam 50 persen enzim xantin oksidase dengan IC_{50} 24,75 μ g/mL dan senyawa asam metil-pirol-2,4-dikarboksilat merupakan senyawa dari isolasi ekstrak etilasetat menghambat 50 persen aktivitas enzim xantin oksidase dengan IC_{50} adalah 48,86 μ g/mL (Afrianti *et al.*, 2010). Secara *in vivo* ekstrak etilasetat dapat menurunkan kadar asam urat serum, tetapi tidak dapat meningkatkan ekskresi asam urat melalui urin. Pada Gambar 2 yang menggambarkan pengaruh ekstrak dan obat dalam menurunkan kadar asam urat serum tikus dapat dilihat pada jam ke-4 peningkatan kadar asam urat untuk semua kelompok hampir sama dibandingkan jam ke-0.

Kadar asam urat kelompok kontrol pada jam ke-5 sampai jam ke-10 mengalami peningkatan, meskipun persentasenya menurun, hal ini disebabkan kelompok kontrol tidak memiliki inhibitor urikase yang dapat menurunkan kadar asam urat serum. Pada jam ke-6 dan ke-7 ekstrak etilasetat dosis 100 dan 200 mg/kg bb menunjukkan peningkatan kadar asam urat

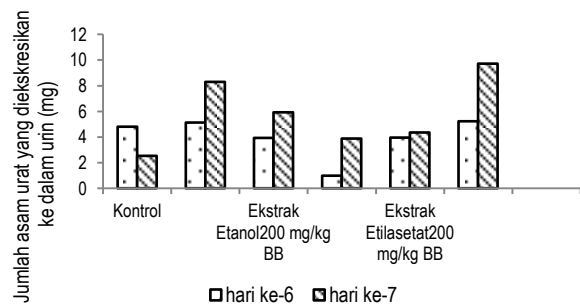
serum berbeda bermakna ($p < 0,05$) dibandingkan kontrol, bahkan pada jam ke-8 ekstrak etilasetat 100 dan 200 mg/kg bb dapat menurunkan kadar asam urat sekitar 7,9 dan 8,3%.

Pada jam ke-7 ekstrak etanol 200 mg/kg bb menunjukkan peningkatan kadar asam urat serum berbeda bermakna ($p < 0,05$) dibandingkan kontrol, dan pada jam ke-8 ekstrak etanol 200 mg/kg bb dapat menurunkan kadar asam urat sekitar 8%. Ekstrak etilasetat secara spesifik dapat menghambat peningkatan kadar asam urat pada tikus, sehingga diduga mempunyai kerja sebagai urikostatik.



Gambar 2. Persentase penurunan kadar asam urat serum tikus jantan galur Wistar yang diberi ekstrak buah salak Bongkok dan Probenesid setelah diinduksi dengan kalium oksonat dan Na-urat.; Persentase (-) menunjukkan terjadi peningkatan kadar asam urat serum, Persentase (+) menunjukkan terjadi penurunan kadar asam urat serum.

Pembandingan probenesid sebagai obat antipirai digunakan agar dapat dilihat kemampuan ekstrak dalam menurunkan kadar asam urat dengan ekskresi melalui ginjal yang dapat dilihat dengan penurunan kadar asam urat urin tikus Wistar (Gambar 3).



Gambar 3. Kadar asam urat dalam urin tikus jantan galur Wistar yang diberi ekstrak buah salak Bongkok dan probenesid setelah diinduksi kalium oksonat dan Na-urat.

Probenesid menghambat reabsorpsi tubulus proksimal, sehingga menurunkan kadar asam urat dalam darah. Kadar asam urat dalam urin tikus menunjukkan bahwa pada hari ke-7 yang diinduksi dengan kalium oksonat dan Na-urat; pada kelompok yang diberi ekstrak etanol 200 mg/kg dan probenesid

45 mg/kg bb terjadi ekskresi asam urat melalui urin dengan perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$) dibandingkan kelompok kontrol. Namun aktivitas ekskresi asam urat ekstrak etanol 200 mg/kg bb masih lebih rendah dibandingkan dengan probenesid 45 mg/kg bb. Hal ini terlihat dari jumlah asam urat dalam urin dari ekstrak etanol 200 mg/kg bb adalah 0,067 mg sedangkan pada probenesid adalah 0,084 mg. Meskipun demikian, ekstrak etanol 200 mg/kg bb dapat dinyatakan sebagai ekstrak yang mempunyai kemampuan sebagai urikosurik. Sedangkan pemberian ekstrak etil asetat tidak menunjukkan adanya peningkatan ekskresi asam urat melalui urin, hal ini terlihat pada dosis 100 mg/kg bb, jumlah asam urat yang dikeluarkan melalui urin hanya 0,019 mg, bahkan pemberian dosis 200 mg/kg bb tidak mampu mengekskresikan asam urat melalui urin.

Hal yang menarik pada penelitian ini adalah ekstrak etanol mempunyai dua mekanisme, terlihat dengan terjadinya penurunan kadar asam urat dalam serum yang diduga berefek urikostatika dan juga berefek urikosurik karena ekskresi asam urat dalam urin menunjukkan peningkatan.

Asam urat merupakan produk akhir degradasi purin yang tidak mempunyai fungsi biologis dan hanya sebagai limbah. Hewan tingkat rendah seperti tikus mempunyai enzim urikase yang dapat merubah asam urat menjadi allantoin yang lebih larut, sehingga asam urat tidak terakumulasi. Sedangkan pada manusia asam urat tidak dimetabolisme dan harus di ekskresikan melalui urin (Katzung, 2002).

KESIMPULAN

Secara *in vivo* diketahui ekstrak etil asetat dapat berfungsi sebagai antihiperurikemia karena dapat menghambat aktivitas enzim xantin oksidase yang pada akhirnya menghambat pembentukan produksi asam urat pada tikus jantan galur Wistar. Ekstrak etanol sebagai antihiperurikemia mempunyai dua mekanisme kerja yaitu sebagai urikostatik yaitu dapat menurunkan kadar asam urat dalam serum dan urikosurik yaitu meningkatkan ekskresi asam urat melalui urin tikus Wistar.

UCAPAN TERIMAKASIH

Peneliti berterimakasih kepada Departemen Pendidikan dan Kebudayaan atas bantuan Beasiswa Pendidikan Pasca Sarjana

(BPPS) dan Lembaga Penelitian ITB yang telah membiayai penelitian ini melalui dana penelitian dari Riset KK ITB tahun 2006 dan 2007.

DAFTAR PUSTAKA

- Afrianti LH, Sukandar EY, Ibrahim S, Adnyana I K. 2006. Inhibisi Xanthin Oksidase ekstrak daging buah salak varietas Bongkok (*Salacca Edulis* Reinw.). J Infomatek 8(1)5-8.
- Afrianti LH, Sukandar EY, Ibrahim S, Adnyana I K. 2007. Xanthine Oxidase inhibitor activity of terpenoid and pyrrole compounds isolated from snake fruit (*Salacca edulis* Reinw) variety of Bongkok, J Applied Sciences 7(20): 3127-3130.
- Afrianti LH, Sukandar EY, Ibrahim S, Adnyana I K. 2010. Senyawa asam 2-metilester-1-H-pirol-4-karboksilat dalam ekstrak etil asetat buah salak varietas Bongkok (*Salacca Edulis* Reinw.) sebagai antioksidan antihiperurikemia. J Teknol dan Industri Pangan 21(1) 66-72.
- Al-Qirim TM, Shahwan M, Zaidi KR, Uddin Q, Banu N. 2002. Effect of khat, its constituent and restraint stress on free radical metabolism of rats., J Ethnopharm 83: 245 -250.
- Fields M, Charles GL, Mark DL. 1996. Allopurinol, an inhibitor of xanthine oxidase, reduces uric acid levels and modifies the signs associated with copper deficiency in rats fed fructose. J Free Radical Biology & Medicine 20(4) 595-600.
- Katzung BG. 2002. Farmakologi Dasar dan Klinik (terjemahan) Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Salemba Medika, Jakarta, 487-493.
- Nagao A, Seki M, Kobayashi H. 1999. Inhibition of xanthin oxidase by flavonoids. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry 63, 1787-1790.
- Vogel HG, Wolfgang HV. 1997. Drug discovery and evaluation pharmacological assay. Springer. Philadelphia. 178-179.
- Zhu ZX, Wang Y, Kong LD, Yang C, Zhang X. 2004. Effects of Biota orientalis extract and its flavonoid constituents, quercetin and rutin on serum uric acid levels in oxonate-induced mice and xanthine dehydrogenase and xanthine oxidase activities in mouse liver. J Ethnopharmacology 93:33-140.