

Uji Efek Antihiperurikemia Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) pada Tikus Betina Galur Wistar

*Elin Yulinah Sukandar, I Ketut Adnyana, Septa Readi

Sekolah Farmasi, Institut Teknologi Bandung, Jalan Ganesha 10 Bandung 40132

Abstrak

Daun sirsak (*Annona muricata* L.) digunakan secara tradisional untuk menangani berbagai penyakit termasuk untuk menurunkan asam urat. Dalam penelitian ini telah dilakukan uji antihiperurikemia ekstrak etanol daun sirsak dosis 100 mg/kg bb, 200 mg/kg bb dan 400 mg/kg bb pada tikus Wistar betina yang diberi asam urat 1 g/kg bb dan kalium oksonat 200 mg/kg bb. Hasil menunjukkan ekstrak etanol daun sirsak dosis 100 mg/kg bb, 200 mg/kg bb dan 400 mg/kg bb dapat menurunkan kadar asam urat dalam serum yang berbeda bermakna terhadap kontrol ($p < 0,05$) tetapi tidak meningkatkan ekskresi asam urat dalam urin dibandingkan kontrol ($p > 0,05$).

Kata kunci: *Annona muricata* L., antihiperurikemia, asam urat.

Abstract

Soursop (*Annona muricata* L.) leaves have been used traditionally for treatment some diseases including to decrease uric acid. The objective of this research is to test antihyperuricemic effect of soursop leaves extract at a dose of 100 mg/kg bw, 200 mg/kg bw, and 400 mg/kg bw in female Wistar rats that induced by uric acid 1 g/kg bw and potassium oxonate 200 mg/kg bw. Those doses could decrease uric acid level in the serum ($p < 0.05$) but did not increase excretion uric acid in the urine ($p > 0.05$) compared to control groups.

Keywords: *Annona Muricata* L., antihyperuricemic, uric acid.

Pendahuluan

Pirai merupakan salah satu jenis arthritis yang disebabkan deposit kristal mononatrium urat pada cairan sinovial dan jaringan lain. Asam urat mulai mengendap pada suhu tubuh dan pH darah normal jika kadarnya lebih dari 7,0 mg/dL disebut hiperurikemia (Kumar *et al.* 2006). Asam urat terakumulasi dalam tubuh disebabkan peningkatan produksi atau/ dan penurunan ekskresi asam urat melalui urin.

Berdasarkan laporan Dinas Kesehatan Propinsi Jawa Tengah, proporsi kasus hiperurikemia dari tahun ke tahun mengalami peningkatan dibandingkan dengan kasus penyakit tidak menular lainnya. Selama setahun kasus hiperurikemia meningkat dari 5,7% menjadi 8,7% pada tahun 2008 di Kota Tegal. Hasil rekapitulasi yang dilakukan bagian Rekam Medik di RSUD Kardinah Kota Tegal selama tahun 2008 adalah 40% dari 1068 penderita baik rawat inap maupun penderita rawat jalan yang melakukan pemeriksaan kadar asam urat menderita hiperurikemia (Kumar *et al.* 2006).

Terapi non farmakologi pirai adalah mengubah pola hidup seperti mengatur pola makan dengan mengurangi atau tidak mengkonsumsi makanan tinggi

purin dan tidak mengkonsumsi alkohol. Selain itu terapi farmakologi yang dilakukan adalah mengurangi rasa nyeri akibat agregasi kristal mononatrium urat dengan antiinflamasi, menurunkan sintesis asam urat dengan inhibitor xantin oksidase, dan meningkatkan ekskresi asam urat melalui urin dengan urikosurik (DiPiro *et al.* 2008)

Bahan alam telah banyak digunakan sebagai pengobatan alternatif pirai. Salah satunya tumbuhan sirsak (*Annona muricata* L.) yang telah digunakan masyarakat sebagai obat jerawat, bisul, mual, diare, hepatitis, batuk, reumatik, dan hipertensi (Ditjen POM Depkes RI 1989). Aktivitas penghambatan xantin oksidase dari ekstrak etanol daun sirsak telah diuji secara *in vitro* sebesar $73,1 \pm 0,6\%$ dibandingkan aktivitas allopurinol $98,1 \pm 1,2\%$ (Yanti 2010). Berdasarkan data tersebut penelitian ini bertujuan untuk menguji efek antihiperurikemia dari ekstrak daun sirsak secara *in vivo* pada model hewan hiperurikemia.

Percobaan

Bahan

Daun sirsak (*Annona muricata* L.), etanol, air suling, natrium urat, kalium urat, allopurinol, probenesid, carboxymethylcellulose sodium (CMC-Na), kit

* Penulis korespondensi. E-mail: elin@fa.itb.ac.id

pereaksi asam urat, amil alkohol, serbuk magnesium, kloroform, pereaksi Dragendorff, pereaksi Mayer, besi (III) klorida, pereaksi Liebermann-Burchard, amonia, toluena, butanol, asam asetat, asam klorida pekat, asam sulfat, benzena, eter, natrium hidroksida, pereaksi Steasny, pakan tikus standard, kit pereaksi asam urat (PT. Rajawali Nusindo).

Alat

Neraca analitik, seperangkat alat refluks, rotavapor, oven, seperangkat alat destilasi, seperangkat alat penetapan kadar air, lemari pendingin, vial, tabung mikrosentrifuga, kertas saring, corong pisah, cawan penguap, krus silika, bejana kromatografi, pelat KLT GF254, spatula, tabung reaksi, batang pengaduk, gelas ukur, gelas kimia, labu Erlenmeyer, pipet tetes, alat suntik oral tikus (jarum sonde), alat suntik, alat penimbang tikus, restainer tikus, alat sentrifuga, mikropipet, inkubator 18°C-25°C, lemari pendingin, fotometer (Tecno168), dan spektrofotometer UV-Vis (Hewlett Packard 8435).

Hewan Uji

Tikus betina galur Wistar, jenis kelamin betina, bobot 150–200 g, usia 8-12 minggu, diperoleh dari Laboratorium Hewan Farmakologi Sekolah Farmasi ITB.

Pembuatan Ekstrak

Pembuatan ekstrak dilakukan dengan cara refluks menggunakan cairan penyari etanol 95%. Ekstrak encer dipekatkan dengan alat penguap rotavapor. Ekstrak kemudian disimpan di tempat yang kering dan sejuk.

Penyiapan Sediaan Induksi, Uji dan Pembanding

Sediaan induksi, uji dan pembanding dibuat dengan mendispersikan natrium urat, kalium oksonat, ekstrak, allopurinol dan probenesid masing-masing dalam CMC-Na 0,5%.

Perlakuan Hewan Uji

Masing-masing kelompok hewan uji ditimbang setelah dipuaskan selama 18 jam. Pada saat jam ke-0, tiap tikus masing-masing kelompok diambil sampel darah sebagai data baseline dan diberikan loading water air minum 5 mL. Kemudian tiap kelompok hewan uji diinduksi dengan natrium urat 1 g/kg bb secara oral dan dibantu kalsium oksonat (200 mg/kg bb) secara intraperitoneal. Pada menit ke-30, tikus diberi sediaan uji dengan 3 dosis (100 mg/kg bb, 200 mg/kg bb, dan 400 mg/kg bb), pembanding allopurinol 13,5 mg/kg bb, pembanding 50 mg/kg bb dan kontrol CMC-Na 0,5%. Kemudian hewan uji

dimasukkan ke kandang metabolisme dengan ketentuan 1 hewan uji per kandang. Sampel darah di ambil pada jam ke-1; jam ke-1,5; jam ke-2; jam ke-2,5 dan jam ke-5. Sampel urin dikumpulkan 24 jam setelah perlakuan (Anindya 2011).

Pengambilan Cuplikan Darah Sampel

Darah tikus diambil sebanyak 0,5 mL dengan memotong ujung ekor tikus dan dimasukkan ke dalam tabung mikrosentrifuga. Selanjutnya darah disentrifuga dengan kecepatan 12.000 rpm selama 10 menit. Serum dipisah ke tabung mikrosentrifuga lain lalu disentrifuga dengan kecepatan 12.000 rpm selama 2 menit. Serum dapat diukur kadar asam uratnya atau disimpan dalam pembeku lemari pendingin sampai pengukuran dapat dilakukan.

Pengambilan sampel urin

Urin tikus hewan uji diukur volumenya. Urin sebanyak 1 mL urin dilarutkan dalam 9 mL akuades lalu dihomogenkan.

Pengukuran Kadar Asam Urat Serum

Serum sebanyak 10 µL dicampur dengan 0,5 mL kit pereaksi asam urat lalu dihomogenkan. Kemudian serum diinkubasi pada suhu 18°C – 25°C selama ± 10 menit kemudian diukur kadar asam-uratnya dengan spektrofotometer UV-Vis (Hewlett Packard 8435) pada panjang gelombang 546 nm.

Pengukuran Kadar Asam Urat Urin

Larutan urin sebanyak 10 µL dicampur dengan 0,5 mL kit pereaksi asam urat lalu dihomogenkan. Kemudian serum diinkubasi pada suhu 18°C – 25°C selama ± 10 menit kemudian diukur kadar asam-uratnya dengan spektrofotometer UV-Vis (Hewlett Packard 8435) pada panjang gelombang 546 nm.

Hasil dan Pembahasan

Pada penelitian ini digunakan bahan uji berupa daun sirsak (*Annona muricata* L.). Daun tanaman tersebut digunakan sebagai bahan obat pirai secara turunturun. Daun sirsak diesktraksi secara refluks dengan pelarut etanol dan dipekatkan dengan menggunakan rotavapor. Dari hasil ekstraksi diperoleh rendemen 5,91% (88,65 g dari 1,5 kg simplisia). Ekstrak tersebut selanjutnya dikarakterisasi mutu (Tabel 1) dan dilakukan penapisan fitokimia ekstrak (Tabel 2).

Ekstrak etanol juga dikarakterisasi secara kromatografi lapis tipis menggunakan gel silika GF₂₅₄ dengan fase gerak etil asetat, asam format dan air (24:1:1). Penampak bercak yang digunakan adalah H₂SO₄

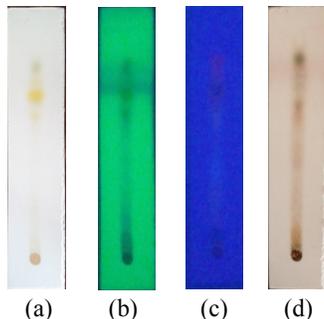
pekat 10% dalam metanol dan memberikan pola kromatogram seperti pada Gambar 1.

Tabel 1. Hasil Karakterisasi Ekstrak Etanol Daun Sirsak

Karakteristik Ekstrak	Hasil
Persentase Rendemen	5,91%
Bobot jenis (b/v)	0,84 g/mL
Kadar air (v/b)	15,00%
Kadar sari larut air (b/b)	13,08%
Kadar sari larut etanol (b/b)	21,47%
Susut pengeringan (b/b)	20,11%

Tabel 2. Hasil Penapisan Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Sirsak

Golongan Senyawa	Hasil
Alkaloid	-
Flavanoid	+
Fenol	+
Kuinon	+
Saponin	-
Steroid/Triterpenoid	+
Tanin	+



Gambar 1. Pola kromatogram ekstrak etanol daun sirsak. (a) di bawah sinar tampak; (b) di bawah sinar UV λ 254 nm; (c) di bawah sinar λ 366 nm; (d) setelah disemprot H_2SO_4 10% dalam metanol.

Berdasarkan penelitian sebelumnya, ekstrak etanol daun sirsak 0,1% telah terbukti aktivitas penghambatan xantin oksidase secara *in vitro* yakni $73,10 \pm 0,60\%$ sedangkan pembanding allopurinol konsentrasi 0,1% menghambat $98,10 \pm 1,20\%$ (Anindya 2011). Ekstrak etanol daun sirsak tersebut memiliki efek urikostatik seperti allopurinol. Pada

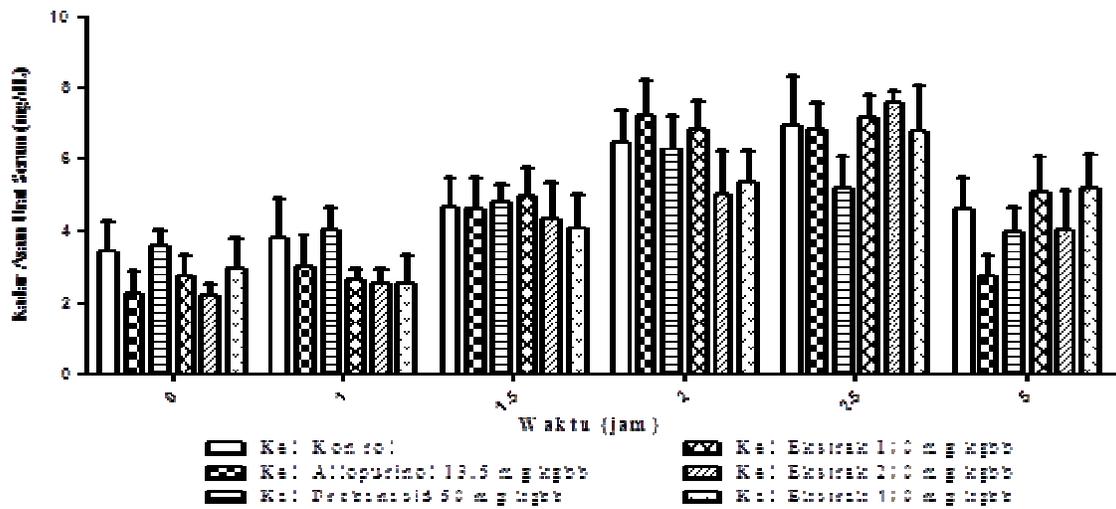
penelitian ini dapat dibuktikan efek ekstrak etanol daun sirsak dapat menurunkan asam urat serum tetapi tidak meningkatkan asam urat urin setelah diinduksi dengan asam urat dan kalium oksonat. Tikus memiliki urikase yang menguraikan asam urat sehingga perlu diberi inhibitor urikase yaitu kalium oksonat.

Asam urat merupakan produk akhir rangkaian reaksi degradasi purin. Asam urat tidak memiliki aktivitas farmakologis sehingga harus segera diekskresikan. Sebagian hewan memiliki enzim urikase yang mengubah asam urat menjadi senyawa lebih larut dalam air yakni allantoin sehingga bisa diekskresikan melalui urin. Manusia tidak memiliki enzim urikase sehingga akumulasi asam urat melebihi batas normal dapat terjadi. Manifestasi klinik dari peningkatan kadar asam urat tubuh adalah penyakit pirai dengan gejala bengkak, nyeri serta inflamasi pada jaringan dan persendian karena deposit kristal mononatrium (DiPiro et al. 2008).

Obat standar antihiperurikemia digunakan dalam percobaan ini adalah allopurinol yang bersifat urikostatik dan probenesid yang bersifat urikosurik. Kedua senyawa aktif tersebut telah digunakan dalam pengobatan pirai kronis dengan mekanisme kerja yang berbeda. Allopurinol diabsorpsi hingga 90% di saluran cerna dengan waktu paruh 2 jam. Allopurinol dan metabolit utamanya oksipurinol memiliki efek urikostatik dengan menghambat xantin oksidase sehingga menghambat perubahan hipoxantin menjadi xantin dan xantin menjadi asam urat.

Probenesid dapat meningkatkan pengeluaran asam urat melalui. Probenesid segera diabsorpsi di saluran cerna dan dapat menghambat daerah transpor aktif sehingga reabsorpsi asam urat di tubulus proksimal menjadi turun. Dalam tubuh manusia, waktu paruh probenesid bergantung pada dosis dan berkisar antara 5 hingga 8 jam (Katzung 2007).

Asam urat diberikan dalam bentuk garamnya, mononatrium urat, dalam dosis tinggi secara oral untuk menciptakan hiperurikemia pada hewan uji. Kondisi hiperurikemia dijaga pada batas waktu tertentu dengan pemberian kalium oksonat dosis 200 mg/kgbb secara intraperitoneal. Urikase dihambat oleh kalium oksonat pada waktu kurang dari 1,5 jam hingga 5 jam sehingga tidak mampu menguraikan asam urat menjadi produk lebih larut air yakni allantoin. Pada kelompok kontrol yang diinduksi sebagai model hewan hiperurikemia memiliki profil kadar asam urat serum maksimal yakni $6,94 \pm 1,37$ mg/dL pada jam ke-2,5 dan menurun pada jam ke-5 $4,60 \pm 0,87$ mg/dL.



Gambar 2. Kadar asam urat serum tikus betina Wistar mg/dL ($p < 0,05$; one way ANOVA; $n = 5$).

Pada jam ke-0 sebelum diinduksi hiperurikemia kelompok ekstrak etanol daun sirsak dosis 100 mg/kg bb, 200 mg/kg bb dan 400 mg/kg bb tidak berbeda bermakna terhadap kontrol dan pembanding ($p > 0,05$). Setelah 30 menit dari induksi asam urat, setiap kelompok diberi zat uji atau zat pembanding. Pengukuran kadar asam urat serum tiap kelompok dilakukan pada jam ke-1; jam ke-1,5; jam ke-2; jam ke-2,5 dan jam ke-5 (Gambar 2).

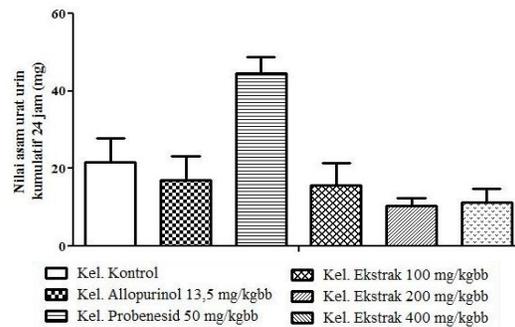
Kelompok kontrol menggambarkan kondisi hiperurikemia sehingga dapat dibandingkan efek penurunan asam urat serum dari kelompok pembanding dan kelompok ekstrak. Pada kelompok pembanding yakni allopurinol memiliki penurunan asam urat serum signifikan melalui penghambatan xantin oksidase pada selang jam ke-2,5 dan ke-5. Kadar asam urat serum kelompok allopurinol berbeda bermakna terhadap kelompok kontrol pada jam ke-5 ($p = 0,03$). Kelompok probenesid memiliki penurunan kadar asam urat serum berbeda bermakna pada jam ke-2,5 terhadap kelompok kontrol karena terjadi peningkatan ekskresi asam urat dalam urin ($p = 0,006$).

Kelompok ekstrak etanol daun sirsak dosis 100 mg/kg bb ($p = 0,022$), 200 mg/kg bb ($p = 0,011$) dan 400 mg/kg bb ($p = 0,012$) mengalami penurunan asam urat yang berbeda bermakna terhadap kelompok kontrol pada jam ke-1 berturut-turut dengan $p = 0,022$; $0,011$ dan $0,012$.

Pada jam ke-1,5, kadar asam urat serum seluruh kelompok ekstrak tidak berbeda bermakna terhadap pembanding dan kontrol ($p > 0,05$). Selanjutnya pada jam ke-2, kadar asam urat kelompok ekstrak etanol daun sirsak 200 mg/kg bb dan 400 mg/kg bb berbeda

bermakna terhadap kelompok kontrol pada jam kedua ($p = 0,024$ dan $0,007$). Kelompok ekstrak dosis 100 mg/kg bb, 200 mg/kg bb dan 400 mg/kg bb tidak memiliki perbedaan bermakna terhadap kelompok kontrol pada jam ke-2; ke-2,5; dan ke-5 ($p > 0,05$). Ekstrak etanol daun sirsak memiliki efek penurunan kadar asam urat serum relatif cepat dibanding allopurinol tetapi durasi kerjanya singkat.

Sampel urin dikumpulkan selama 24 jam kemudian diukur nilai asam urat urin kumulatif seperti pada Gambar 3. Nilai asam urin kumulatif dihitung dari pengalihan kadar asam urat urin terhadap volume sampel urin.



Gambar 3. Nilai kumulatif asam urat urin tikus betina Wistar mg/dL ($p < 0,05$; t -test; $n = 5$).

Nilai kumulatif asam urat urin kelompok probenesid adalah $44,68 \pm 4,01$ mg yang berbeda secara bermakna terhadap kelompok kontrol $21,61 \pm 6,14$ mg ($p = 0,0001$). Hewan uji hiperurikemia diberikan

probenesid akan mengalami peningkatan ekskresi asam urat urin akibat inhibisi reabsorpsi asam urat urin di tubulus proksimal ginjal.

Nilai asam urat urin kelompok allopurinol adalah $17,08 \pm 6,14$ mg yang tidak berbeda secara bermakna terhadap kelompok kontrol ($p > 0,05$). Kadar asam urat urin kelompok allopurinol lebih rendah daripada kontrol. Penurunan kadar asam urat darah lebih berperan pada kelompok allopurinol sehingga jumlah asam urat yang diekskresikan menjadi lebih rendah.

Kelompok ekstrak sirsak 200 mg/kg bb menunjukkan nilai asam urat urin $10,32 \pm 2,08$ mg lebih rendah yang berbeda secara bermakna terhadap kontrol ($p = 0,0XX$). Kelompok ekstrak sirsak 100 mg/kg bb dan 400 mg/kg bb dengan nilai asam urat urin $15,77 \pm 0,95$ mg; $13,46 \pm 0,56$ mg lebih rendah yang tidak berbeda bermakna terhadap kontrol ($p > 0,05$). Seluruh kelompok ekstrak memiliki kadar asam urat urin lebih rendah berbeda secara bermakna terhadap probenesid. Oleh sebab itu, pemberian ekstrak daun sirsak dosis 100 mg/kg bb, 200 mg/kg bb dan 400 mg/kg bb tidak bersifat urikosurik.

Kesimpulan

Ekstrak etanol daun sirsak dosis 100 mg/kg bb, 200 mg/kg bb dan 400 mg/kg bb menunjukkan penurunan kadar asam urat dalam darah yang berbeda bermakna pada jam ke-1 terhadap kontrol ($p < 0,05$). Dosis 200 mg/kg bb dan 400 mg/kg bb menunjukkan penurunan kadar asam urat serum pada jam ke-2 yang berbeda bermakna terhadap kontrol ($p < 0,05$). Ekstrak etanol dosis 100 mg/kg bb, 200 mg/kg bb dan 400 mg/kg bb tidak meningkatkan pengeluaran asam urat dalam urin dibandingkan kontrol ($p > 0,05$).

Daftar Pustaka

Anindya AL, 2011, Aktivitas penghambatan Xantin Oksidase dan antioksidan Ekstrak Beberapa Tumbuhan Obat Tradisional, tugas akhir, Sekolah Farmasi-ITB, Bandung, 25.

DiPiro JT, Talbert RK, Yee GC, Matzke GR, Wells BG, Posey LM, 2008, Pharmacotherapy: A Pathophysiologic Approach, 10th edn, McGraw Hill Medical, New York, 593-595.

Ditjen POM Depkes RI, 1989, Materia Medika Indonesia, jil. V, Departemen Kesehatan republik Indonesia, Jakarta, 41-45.

Kumar V, Abbas AK, Fausto N, 2006, Robbins and Cotran pathologic Basis of Disease, 7th edn, saunders, Philadelphia, 1311.

Yanti L, 2010, Uji Aktivitas Antihiperuri-kemia dari Ekstrak Daun Salam (*Syzygium polianthum* Wight), Meniran (*Phyllanthus niruri* L.) serta Kombinasinya pada Tikus Jantan Wistar Hiperikemia, tesis magister, Sekolah Farmasi ITB, Bandung, 29-3.