

Uji Aktivitas Antihiperurisemia Ekstrak n-Heksana, Etil Asetat, dan Etanol 70% Daun Tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) pada Mencit Jantan Hiperurisemia

(*Antihyperuricemic activity of n-Hexane, Ethyl acetate, and Ethanol 70% of Tempuyung Leaves (Sonchus arvensis L.) on Hyperuricemic Male Mice*)

Ferani Cendrianti, Siti Muslichah, Evi Umayah Ulfa
Fakultas Farmasi Universitas Jember
Jln. Kalimantan 37, Jember 68121
e-mail korespondensi: siti.m3@gmail.com

Abstract

The purpose of this research was to study the activity of Sonchus arvensis leaves extract as antihyperuricemics agent on hyperuricemic male mice. Eighteen male mice were divided into six groups, i.e the first group as a normal control K(N); the second group as a negative control K(-) treated chicken liver juice 0,2 % b/v orally; the third group as a positive control K(+) treated allopurinol 10 mg/kg BW orally; the fourth to six groups P1, P2, and P3 were treated with n-hexane, ethyl acetate, and ethanol 70% of Sonchus arvensis leaves extract 300 mg/kg BW orally for 4 days. Pottasium oxonate 300 mg/kg BW i.p was induced 1 hour before the blood samples was collected. The blood samples was taken from vena ophtalmicus. The concentration of uric acid was determined with FS DHBSA. Data was analyzed using one way ANOVA and LSD test. The result showed that activity of ethyl acetate and ethanol 70% extract of Sonchus arvensis leaves has significant effect in reducing the concentration of uric acid in hyperuricemic mice. Base on phytochemistry screening it has flavonoid and terpenoid. The substance that estimated has antihyperuricemic activity was flavonoid.

Keywords: hyperuricemic, *Sonchus arvevsis* L., flavonoid.

Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas ekstrak daun *Sonchus arvensis* L. sebagai agen antihiperurisemia pada mencit jantan hiperurisemia. Delapan belas mencit dibagi menjadi enam kelompok. Kelompok I sebagai kontrol normal K(N); kelompok II sebagai kontrol negatif K(-) diberi jus hati ayam 0,2% b/v; kelompok tiga sebagai kontrol positif K(+) diberi alopurinol 10 mg/kg BB; kelompok IV-VI P1, P2, dan P3 diberi ekstrak n-heksana, etil asetat, dan etanol 70% daun tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) dosis 300 mg/kg BB. Sediaan uji diberikan secara oral selama 4 hari. Kalium oksonat 300 mg/kg BB i.p diinduksikan 1 jam sebelum pengambilan darah. Sampel darah diambil dari vena mata. Konsentrasi asam urat diukur dengan reagen asam urat FS DHBSA (3,5-dikloro-2-hidroksil-asam benzensulfonat). Data yang didapat kemudian dianalisis menggunakan ANOVA satu arah kemudian dilakukan uji BNT. Hasil yang didapat adalah ekstrak etil asetat dan etanol 70% daun *Sonchus arvensis* L. memiliki aktivitas yang tidak berbeda signifikan satu sama lain. Berdasarkan skrining fitokimia ekstrak mengandung flavonoid dan terpenoid. Senyawa yang diduga memiliki aktivitas antihiperurisemia adalah flavonoid.

Kata Kunci: hiperurisemia, *Sonchus arvensis* L., flavonoid.

Pendahuluan

Prevalensi hiperurisemia telah mengalami peningkatan di seluruh dunia baik negara maju dan berkembang [1]. Angka kejadian hiperurisemia di masyarakat dan berbagai kepustakaan barat sangat bervariasi, diperkirakan antara 2,3 – 17,6% [2]. Sedangkan tingkat kejadian hiperurisemia di Indonesia masih belum diketahui dengan pasti, namun berdasarkan dari beberapa penelitian diperoleh data tingkat kejadian hiperurisemia. Diantaranya di Sinjai (Sulawesi Selatan) diperoleh angka prevalensi 10% pada pria dan 4% pada wanita. Di Bandungan (Jawa Tengah) didapatkan angka prevalensi pada pria 24,3% dan wanita 11,7%. Sedangkan di kota Minahasa prevalensinya mencapai angka 34,30% pada pria dan 23,31% pada wanita untuk usia dewasa muda [3]. Menurut hasil penelitian yang dilakukan oleh *Health Professionals Follow-up Study* (HPFS) dan *The Third National Health and Nutrition Examination Survey III* (NHANES), menyatakan bahwa terjadinya peningkatan prevalensi hiperurisemia berhubungan dengan gaya hidup [4].

Hiperurisemia adalah suatu kondisi dimana kadar asam urat dalam darah lebih besar dari nilai normal, yang pada laki-laki dikatakan hiperurisemia apabila kadar asam uratnya diatas 7 mg/dL dan pada perempuan di atas 6 mg/dL. Hiperurisemia apabila dibiarkan akan memicu terjadinya kerusakan ginjal seperti nefrolitiasis, nefropati urat, dan nefropati asam urat [5]. Selain itu, hiperurisemia juga dapat menyebabkan arthritis gout dan memicu timbulnya penyakit kardiovaskuler [6]. Keseimbangan produksi dan ekskresi asam urat merupakan kunci kendali asam urat dalam darah. Kelebihan produksi dan kurangnya ekskresi asam urat menyebabkan kadar asam urat dalam darah meningkat. Jumlah asam urat yang diekskresi sedikit karena asam urat tidak larut dalam air [7].

Pemanfaatan kekayaan alam di Indonesia salah satunya sebagai obat herbal yang digunakan untuk mengobati beberapa penyakit sudah dilakukan sejak dahulu kala, salah satunya adalah pemanfaatan tanaman

sebagai antihiperurisemia. Salah satu tanaman yang diduga memiliki aktivitas antihiperurisemia adalah daun tempuyung (*Sonchus arvensis* L.). Daun tumbuhan ini memiliki banyak khasiat diantaranya untuk mengatasi kelebihan asam urat, diuretik, batu ginjal, kencing batu, batu empedu, bengkak, penenang batuk, asma, penurunan kadar kolesterol dan bronkitis. Tempuyung mengandung ion-ion mineral antara lain silika, kalium, magnesium, natrium dan beberapa flavonoid (kaempferol, luteolin-7-O-glukosida, dan apigenin-7-O-glukosida), kumarin (skopoletin), taraksterol, inositol, serta asam fenolat (sinamat, kumarat, dan vanilat) [8]. Pada penelitian sebelumnya, ekstrak air, etanol dan flavonoid daun tempuyung dilaporkan dapat menghambat enzim xantin oksidase *in vitro*, namun dalam penelitian ini belum diketahui bagaimana aktivitas ekstrak daun tempuyung *in vivo* [8].

Hal inilah yang mendorong peneliti untuk mengkaji lebih lanjut mengenai khasiat daun tempuyung. Peneliti akan mengkaji lebih dalam khasiat dari tanaman tempuyung dengan menggunakan metode ekstraksi bertingkat. Kemudian akan diujikan secara *in vivo* pada mencit putih jantan yang sebelumnya dikondisikan hiperurisemia. Ekstrak diperoleh dengan cara maserasi bertingkat menggunakan pelarut nonpolar (*n*-heksana), semipolar (etil asetat), dan polar (etanol 70%) dengan tujuan untuk dapat memisahkan senyawa aktif yang terdapat dalam daun tempuyung.

Metode Penelitian

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain *rotary evaporator* (Heidolph-Laborota 4000), neraca analitik digital (Ohaus), neraca lengan (Ohaus) oven, blender, mess, *hot plate* (Barnstead), seperangkat alat gelas (Pyrex), sonde, spuit dengan jarum suntik (Terumo), pipa kapiler hematokrit, vortex (Barnstead), mikropipet (Socorex), mikrotip, sentrifuge (Hermler), vial, dan fotometer (Biolyzer 100), bunsen, pinset, penjepit kayu, Lampu UV (Chromato-Ue® C-75), densitometer (CAMAG TLC Scanner 3), chamber.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain simplisia daun tempuyung, pelarut

n-heksana, etil asetat, etanol 70%, CMC-Na 0,5%, kalium oksonat (Aldrich Chemical Company), jus hati ayam, alopurinol (Kimia Farma), dan kit reagen (3,5-Dichloro-2-hydroxy-benzensulfonic acid (DHBSA) dan kromogen (4 Aminoantipyrine), fase gerak asam asetat:air (1,5:8,5), sitrat borat, anisaldehyd sulfat, fase diam selulose GF₂₅₄ (Merck).

Hewan Uji

Hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini yaitu mencit putih jantan berjumlah 18 ekor dengan umur 2,5–3,5 bulan, berat badan 20g–30g.

Jalan Penelitian

Proses ekstraksi

Serbuk daun tempuyung diekstraksi secara maserasi bertingkat menggunakan pelarut *n*-heksana (nonpolar), etil asetat (semipolar), dan etanol 70% (polar) secara berurutan masing-masing selama 3x24 jam. Penyarian dilakukan sebanyak tiga kali. Ekstrak yang diperoleh dari ketiga macam pelarut tadi dipisahkan dengan *rotavapour*, kecuali pelarut etil asetat. Ekstrak dengan pelarut etil asetat diuapkan sampai kering dalam lemari asam.

Pengujian terhadap Mencit Hiperurisemia

Hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit putih jantan dengan berat rata-rata 20-30 gram dan berumur 2-3 bulan. Hewan uji yang berjumlah 18 ekor mencit dibagi menjadi enam kelompok, masing-masing kelompok terdiri dari 3 ekor.

KN : Kontrol normal, tidak diberi perlakuan apapun.

K- : Kontrol hiperurisemia, diberi pakan standar dan jus hati ayam selama 12 hari sebanyak 2 kali sehari kemudian pada hari ke 9 hingga hari ke 12 diberi CMC Na 0,5%.

K+ : Kontrol obat, diberi pakan standar dan jus hati ayam selama 12 hari sebanyak 2 kali sehari kemudian pada hari ke 9 hingga hari ke 12 diberi alopurinol 10 mg/kg BB.

P1 : Diberi pakan standar dan jus hati ayam selama 12 hari sebanyak 2 kali sehari kemudian pada hari ke 9 hingga hari ke 12 diberi ekstrak *n*-heksana daun tempuyung dosis 300 mg/kg BB per oral.

P2 : Diberi pakan standar dan jus hati ayam selama 12 hari sebanyak 2 kali sehari kemudian pada hari ke 9 hingga hari ke 12 diberi ekstrak etil asetat daun tempuyung dosis 300 mg/kg BB per oral.

P3 : Diberi pakan standar dan jus hati ayam selama 12 hari sebanyak 2 kali sehari kemudian pada hari ke 9 hingga hari ke 12 diberi ekstrak etanol 70% daun tempuyung dosis 300 mg/kg BB per oral.

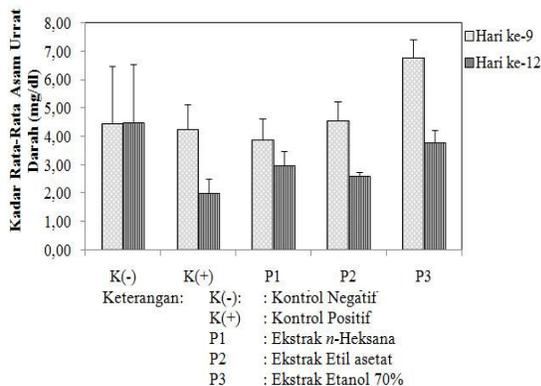
Kadar asam urat ditetapkan pada hari 9 dan ke 12 setelah pemberian ekstrak biji jinten hitam berdasarkan reaksi enzimatis menggunakan reagen asam urat DHBSA. Penetapan kadar asam urat dilakukan dengan cara 10 μ L serum ditambahkan 500 μ L reagen, ditunggu 10 menit pada suhu ruangan \pm 20 – 25 $^{\circ}$ C. Selanjutnya larutan sampel, standar dan blanko dibaca absorbansinya dengan menggunakan fotometer pada panjang gelombang 546 nm.

Analisa Data

Data yang diperoleh kemudian diolah menggunakan program SPSS dengan melihat uji normalitas (*Shapiro-Wilk*) dan uji homogenitas (*Lavene*) yang digunakan sebagai syarat uji analisis varian satu arah ANOVA untuk melihat perbedaan rata-rata dari dua atau lebih kelompok perlakuan dan dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT). Jika salah satu syarat untuk uji ANOVA tidak dipenuhi, maka dilakukan uji *Kruskal-Wallis* untuk melihat adanya perbedaan, selanjutnya dilakukan uji Mann-Whitney [9].

Hasil Penelitian

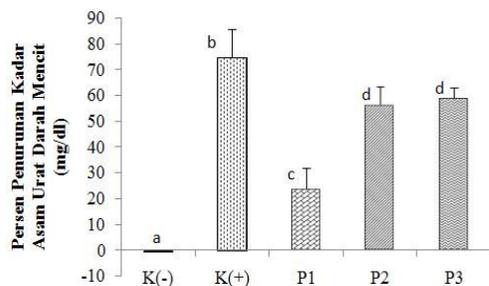
Tahapan awal dari penelitian ini adalah proses ekstraksi. Proses ekstraksi dilakukan secara maserasi bertingkat menggunakan pelarut *n*-heksana, etil asetat, dan etanol 70%. Diperoleh % rendemen dari masing-masing pelarut berturut-turut sebesar 6,8; 2,26; 14,44. Setelah diperoleh ekstrak kental dilakukan pengujian terhadap hewan coba. Dari proses pengujian tersebut diperoleh kadar asam urat mencit sebelum dan sesudah perlakuan. Hasil pengamatan secara grafik mengenai uji aktivitas antihiperurisemia ekstrak daun tempuyung dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Grafik kadar asam urat hari ke-9 dan hari ke-12

Dapat terlihat adanya perbedaan kadar asam urat serum sebelum (hari ke-9) dan sesudah (hari ke-12) diberi perlakuan. Pada hari ke-9 sebelum hewan uji diberikan perlakuan larutan uji, kadar asam urat serum hewan uji menunjukkan adanya peningkatan dari rentang nilai kadar menciit normal yaitu sebesar 0,5-1,4 mg/dl. Menciit dikatakan hiperurisemia bila kadar asam uratnya 1,7-3,0 mg/dl [10]. Data kadar asam urat hewan uji pada hari ke-12 setelah diberi perlakuan larutan uji menunjukkan adanya penurunan kadar bila dibandingkan dengan hari ke-9

Dari hasil perhitungan rata-rata persen penurunan didapat data seperti pada Gambar 2.



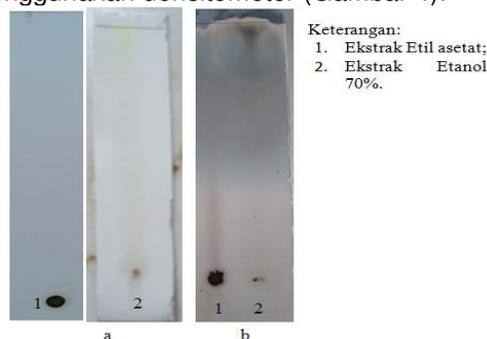
Gambar 2. Persen penurunan kadar asam urat ± SD

Keterangan: Perbedaan huruf menunjukkan adanya perbedaan bermakna ($p < 0,05$); $n = 3$

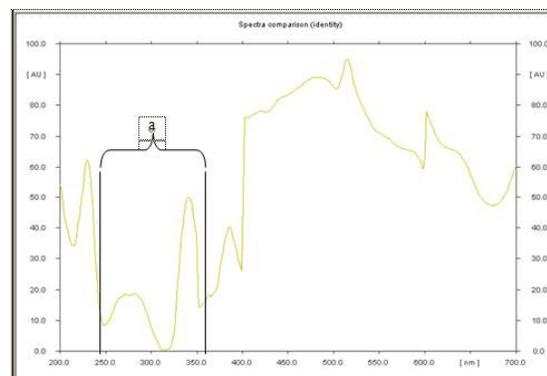
Jika ketiga ekstrak dibandingkan dengan kontrol positif, ekstrak etil asetat dan etanol 70% memiliki aktivitas antihiperurisemia yang sebanding. Dari hasil didapatkan bahwa ekstrak etil asetat dan etanol 70% memiliki nilai persen penurunan yang lebih kecil dibanding dengan alopurinol 10 mg/kg BB. Ekstrak etil asetat memiliki nilai persen penurunan yang paling tinggi ($56,482 \pm 6,778$) diikuti etanol 70%

($58,764 \pm 4,153$) dan ekstrak *n*-heksana ($23,905 \pm 7,808$).

Ekstrak yang memiliki persen penurunan tertinggi kemudian diuji skrining fitokimia. Berdasarkan hasil skrining fitokimia terdapat beberapa senyawa yang terkandung dalam ekstrak etil asetat adalah senyawa saponin dan terpenoid. Adanya terpenoid pada ekstrak etil asetat diperkuat dari hasil kromatografi lapis tipis yang memberikan perubahan warna ungu saat diberi penampak noda anisaldehyd sulfat (Gambar 3). Sedangkan kandungan senyawa dalam ekstrak etanol 70% diantaranya; saponin, flavonoid dan polifenol. Adanya kandungan senyawa flavonoid pada ekstrak etanol 70% terlihat dari adanya perubahan warna noda menjadi kuning intensif saat diberikan penampak noda sitrat borat (Gambar 3) dan kemudian identifikasi spektra menggunakan densitometer (Gambar 4):



Gambar 3. Perubahan warna noda saat diberikan penampak noda (a) Sitrat borat; (b) anisaldehyd sulfat.



Gambar 4. Spektra flavonoid yang terkandung dalam ekstrak etanol 70% daun tempuyung

Pembahasan

Hiperurisemia merupakan faktor resiko terpenting dalam perkembangan gout dan memicu terjadinya peningkatan kadar asam urat [11]. Meningkatnya resiko hiperurisemia juga

dihubungkan dengan perkembangan penyakit lain seperti hipertensi, hiperlipidemia, diabetes, obesitas dan penyakit jantung. Kadar asam urat merupakan faktor kunci penghambat gout dan penyakit lainnya [12].

Pencegahan terhadap peningkatan kadar asam urat diperlukan untuk menghambat berkembangnya penyakit lain. Pencegahan dapat dilakukan dengan cara menggunakan agen hipourisemia. Dimana terdapat dua mekanisme dari agen hipourisemia yaitu, penghambat xantin oksidase (urikostatik) dan urikosurik. Urikostatik bekerja langsung pada enzim yang berperan pada proses pembentukan asam urat yaitu xantin oksidase, dengan cara menghambat konversi hipoxantin menjadi xantin dan kemudian menjadi asam urat. Urikosurik mekanisme kerjanya melalui peningkatan ekskresi asam urat. Karena urikosurik bekerja langsung pada proses reabsorpsi asam urat dalam ginjal, dimana agen urikosurik akan terikat langsung pada urat atau transporter urat (URAT 1) [13]. Salah satu tanaman yang diduga berkhasiat sebagai antihiperurisemia adalah daun tempuyung. Daun tempuyung terbukti memiliki aktivitas antihiperurisemia *in vitro* [8]. Namun, aktivitas antihiperurisemia *in vivo* masih belum diketahui dengan jelas.

Berdasarkan dari hasil penelitian aktivitas antihiperurisemia *in vivo* seperti yang terlihat pada Gambar 1 menunjukkan bahwa mencit mengalami peningkatan kadar asam urat setelah diberi perlakuan jus hati ayam selama 9 hari dan pemberian kalium oksonat. Pemberian sediaan uji dilakukan selama 4 hari, dari Gambar 1 dapat terlihat adanya penurunan kadar asam urat darah mencit pada hari ke-12. Hal ini dapat diartikan bahwa masing-masing ekstrak daun tempuyung memiliki kemampuan menurunkan kadar asam urat.

Setelah diperoleh data peningkatan dan penurunan kadar asam urat dapat dihitung persen penurunannya. Tujuannya adalah untuk mengetahui besarnya persen penurunan pada masing-masing kelompok, dimana nilai persen penurunan ini mewakili aktivitas antihiperurisemia. Rata-rata persen penurunan didapat dengan menghitung persen penurunan masing-masing sampel dalam suatu kelompok kemudian dibuat rata-rata. Rata-rata persen penurunan yang didapat dari kelima kelompok perlakuan dapat dilihat pada Gambar 2. Dari

Gambar 2 dapat diketahui bahwa persentase penurunan kadar asam urat pada kelompok perlakuan dengan nilai tertinggi terdapat pada kelompok ekstrak etanol 70%. Persen penurunan kadar asam urat terendah terjadi pada kelompok *n*-heksana.

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh penulis didapatkan hasil bahwa antara ketiga ekstrak daun tempuyung, ekstrak etanol 70% memiliki persen penurunan yang lebih tinggi apabila dibanding dengan dua ekstrak lainnya. Namun, secara statistik ekstrak etanol 70% dan etil asetat menunjukkan tidak adanya perbedaan yang bermakna, hal ini mengindikasikan bahwa kedua ekstrak tersebut memiliki aktivitas antihiperurisemia yang sebanding. Jadi, dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol dan etil asetat mengandung senyawa yang berpotensi sebagai antihiperurisemia. Namun aktivitas dari ekstrak etanol dan etil asetat tidak lebih besar apabila dibanding dengan alopurinol. Hal ini kemungkinan disebabkan karena konsentrasi senyawa yang berpotensi sebagai antihiperurisemia sedikit atau kemungkinan disebabkan karena senyawa flavonoid yang terkandung dalam tempuyung dalam wujud flavonoid glikosida, yang mana aktivitas penghambatannya lebih kecil dibanding senyawa induknya yaitu apigenin dan luteolin [14]. Senyawa yang terkandung dalam daun tempuyung yang diduga memiliki aktivitas antihiperurisemia adalah golongan senyawa flavonoid. Mekanisme aktivitas antihiperurisemia *in vivo* flavonoid daun tempuyung masih belum diketahui dengan pasti. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut.

Simpulan dan Saran

Ekstrak *n*-heksana, etil asetat, dan etanol 70% daun tempuyung dapat menurunkan kadar asam urat mencit hiperurisemia. Ekstrak etil asetat dan etanol 70% daun tempuyung 300 mg/kg BB memiliki aktivitas antihiperurisemia yang sebanding. Saran untuk penelitian ini adalah perlu dilakukannya penelitian lebih lanjut untuk mengetahui mekanisme aktivitas flavonoid daun tempuyung *in vivo*.

Daftar Pustaka

- [1] Nan, H., Qiao, Q., Dong, Y., Gao, W., Tang, B., Qian, R., dan Tuomilhto, J. The Prevalence of Hyperuricemia in a Population of The Coastal City of Qingdao, China. *The Journal of Rheumatology*, 2006. 33(7): 1346-1350.
- [2] Kurniari, P.K., Kambayana, G., dan Putra, T. Hubungan Hiperurisemia dan Fraction uric Acid Clearance di Desa Tegangan Pegrisingan Karangasem Bali. *Jurnal Penyakit Dalam*, 2011. 12(2): 77-80.
- [3] Manampiring, A.E., dan Bodhy, W. Prevalensi Hiperurisemia pada Remaja Obese di Kota Tomohon. Manado: Universitas Sam Ratulangi. 2011.
- [4] Choi, H.K. A Prescription for Lifestyle Change in Patients with Hyperuricemia and Gout. *Current Opinion of Rheumatology*, 2010. 22(2): 165-178.
- [5] Wortmann, R.L. dalam Horrison. Prinsip-prinsip Ilmu Penyakit Dalam Edisi 13. 2000. Jakarta: EGC Volume 5.
- [6] Namayandeh, S.M., Sadr, S.M., Moadares, M.M., dan Rafeie, M. Serum Uric Acid Levels and It's Association with Cardiovascular Risk Factors. *Iranian Public Health*, 2009. 38(1): 53-59.
- [7] Dipiro J.T., Talbert R.L., Yee G.C., Matzke, G.R., Wells, B.G., Posey, L.M. eds. *Pharmacotherapy: A Pathophysiological Approach*, 7th edition. 2011. New York, NY: McGraw Hill; 1739.
- [8] Wardani, C.G.T. Potensi Ekstrak Tempuyung dan Meniran sebagai Antiasam urat: Aktivitas Inhibitor terhadap Xantin Oksidase. 2008. Skripsi. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- [9] Besral. Pengolahan dan Analisa Data-I Menggunakan SPSS. 2010. Depok: Universitas Indonesia.
- [10] Roch-Ramel, F., dan Peters, G. Urinary Excretion of Uric Acid in Nonhuman Mammalian Species. [on line]. *Handbook Experiment Pharmacology*, 1978. 51(1): 211-255. http://link.springer.com/chapter/10.1007%2F978-3-642.66867-8_9. [16 Agustus 2013].
- [11] Kramer, H., dan Curhan, G. The Association between Gout and Nephrolithiasis: The National Health and Nutrition Examination Survey 1988-1994. *American Journal of Kidney Disease*, 2002. 40(1): 37-42.
- [12] Li-Ying, Wen-Hua, Zhou-Wen, Hong-Lei, Jing-Jing, Jian-Hua, Lei-Qian, dan Li-Zheng. Relationship between Hyperuricemic and Metabolic Syndrome. *Journal of Zheijang University Science B*, 2007. 8(8): 593-598.
- [13] Price, S. A., dan Wilson, L. M. *Patofisiologi Konsep Klinis Proses-Proses Penyakit*. 2005. Terjemahan oleh Adji Dharma. Jakarta: Buku Kedokteran EGC.
- [14] Sarawek, S. Xanthine Oxidase Inhibition and Antioxidant of an Artichoke (*Cyanara scolynes* L.) and It's Compound. Disertasi. 2007. Florida: Florida of University.