

Uji Aktivitas Anti Hiperurisemia Ekstrak n-Heksana, Etil Asetat,
dan Etanol 70% Biji Jinten Hitam (*Nigella sativa*)
terhadap Mencit Hiperurisemia
(*Anti Hyperuricemic activity of n-Hexane, Ethyl acetate, and
Ethanol 70% of Black Cumin Seed (Nigella sativa)
on Hyperuricemic Mice*)

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

Abstract

The aim of this study was to determine the *in vivo* anti-hyperuricemic effect of black cumin extract. Black cumin was extracted with n-hexane, ethyl acetate, and ethanol 70% continuously. Fifteen mice were divided into five groups K-, K+, P1, P2, and P3. Group K- as negative control (chicken liver juice 0,2 % b/v) and group K+ as positive control (allopurinol 10 mg/kg b.w.). Group P1, P2, and P3 received n-hexane, ethyl acetate, and ethanol 70% black cumin extract. The extracts were given to mice in 200 mg/kg b.w dose for 4 days. The blood samples were taken an hour after potassium oxonate injection (300 mg/kg b.w) to inhibit uricase enzym. The data was collected and analyzed using one way ANOVA and LSD test. The result showed that activity of ethyl acetate extract of black cumin has no significant difference of positive control. Based on phytochemistry screening it has terpenoid, saponin, and alkaoid. Terpenoid has anti-hyperuricemic effect but its mechanism still unknown.

Keywords: hyperuricemic, *Nigella sativa*, terpenoid.

Abstrak

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas anti hiperurisemia *in vivo* dari ekstrak biji jinten hitam yang diperoleh secara maserasi bertingkat. Lima belas mencit dibagi dalam lima kelompok yaitu K-, K+, P1, P2, dan P3. Kelompok K- adalah kontrol negatif (jus hati ayam 0,2% b/v) dan kelompok K+ adalah kontrol positif (alopurinol 10 mg/kg BB). Kelompok P1, P2, dan P3 diberi ekstrak n-heksana, etil asetat, dan etanol 70 % biji jinten hitam berturut-turut dengan dosis 200 mg/kg BB. Semua sediaan uji diberikan selama 4 hari. Sampel darah diambil 1 jam setelah induksi kalium oksonat (300 mg/kg BB), hal ini untuk menghambat enzim urikase yang dapat melarutkan asam urat dalam air. Data yang didapat kemudian dianalisis menggunakan ANOVA satu arah kemudian kemudian dilakukan uji BNT. Hasil yang didapat adalah ekstrak etil asetat memiliki aktivitas yang tidak berbeda signifikan dengan kontrol positif. Berdasarkan hasil penapisan fitokimia ekstrak etil asetat mengandung senyawa terpenoid, saponin, dan alkaloid. Terpenoid diduga memiliki aktivitas anti hiperurisemia, namun belum diketahui.

Kata Kunci: hiperurisemia, *Nigella sativa*, terpenoid.

Pendahuluan

Hiperurisemia meningkat secara cepat di seluruh dunia. Prevalensi hiperurisemia di

Indonesia sekitar 29% dan sering terjadi pada suku Minahasa, Toraja dan Batak [1]. Asam urat erat kaitannya dengan hiperurisemia. Seseorang dikatakan kelebihan asam urat jika kadar asam

urat dalam serum orang dewasa lebih dari 7,0 mg/dl pada pria dan 6,0 mg/dl pada wanita. Terjadinya peningkatan kadar asam urat dalam darah melewati batas normal akan menimbulkan rasa sakit atau nyeri [2]. Keadaan ini disebut dengan hiperurisemia [3], sedangkan peradangan pada daerah persendian akibat pengendapan asam urat dikenal sebagai *gout*. Penyakit ini merupakan kelainan metabolik akibat deposisi kristal natrium urat pada jaringan atau akibat kelebihan asam urat di dalam cairan ekstra seluler [4]. 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 [5].

Penggunaan obat herbal dapat digunakan untuk mengobati beberapa penyakit, salah satunya adalah hiperurisemia. Salah satu tanaman yang diduga memiliki aktivitas anti hiperurisemia adalah jinten hitam (*Nigella sativa*). Jinten hitam mengandung senyawa kaemferol dan quersetin yang dapat menghambat enzim xantin oksidase [6]. Pada penelitian sebelumnya, ekstrak air jinten hitam terbukti dapat menurunkan kadar asam urat dalam darah *in vivo* [7]. Ekstrak *n*-heksana dan etil asetat biji jinten hitam dilaporkan dapat menghambat enzim xantin oksidase *in vitro* [8]. Berdasarkan hal di atas, maka peneliti tertarik untuk melakukan uji aktivitas ekstrak biji jinten hitam *in vivo*. 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 biji jinten hitam.

Metode Penelitian

Prosedur Ekstraksi

Serbuk biji jinten hitam diekstraksi secara maserasi bertingkat menggunakan pelarut *n*-heksana (nonpolar), etil asetat (semipolar), dan etanol 70% (polar) secara berurutan masing-masing selama 2x24 jam. Penyarian dilakukan sebanyak tiga kali. Ekstrak yang diperoleh dari ketiga macam pelarut tadi dipekatkan dengan *rotavapour*, kecuali pelarut etil asetat. Ekstrak dengan pelarut etil asetat dikeringkan 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 20 ekor mencit dibagi menjadi lima kelompok, masing-masing kelompok terdiri dari 4 ekor.

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 biji jinten hitam dosis 200 mg/kg BB per oral.

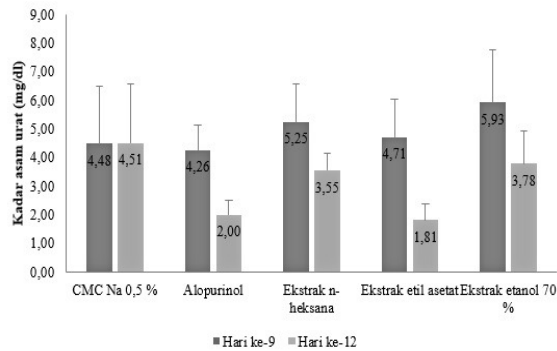
P2 : Diberi pakan standar dan jus hati ayam selama 12 hari sebanyak 2 kali sehari kemudian pada hari ke 9 hingga hari ke 12 diberi ekstrak etil asetat biji jinten hitam dosis 200 mg/kg BB per oral.

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% biji jinten hitam dosis 200 mg/kg BB per oral.

Kadar asam urat ditetapkan pada hari 9 dan ke 12 setelah pemberian ekstrak biji jinten hitam berdasarkan reaksi enzimatik menggunakan reagen uric acid DHBSA. Penetapan kadar asam urat dilakukan dengan cara 10 μ L serum ditambahkan 500 μ L reagen, ditunggu 30 menit pada suhu ruangan. Selanjutnya larutan sampel, standar dan blanko dibaca absorbansinya dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 546 nm.

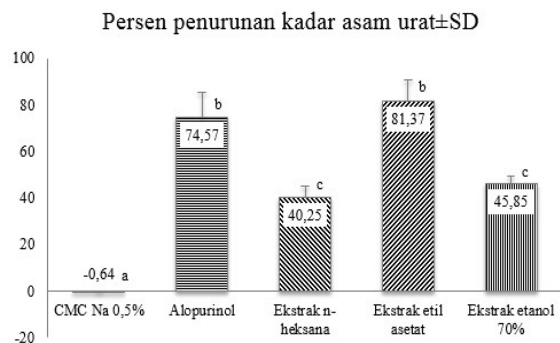
Hasil Penelitian

Hasil pengamatan uji aktivitas anti hiperurisemia ekstrak biji jinten hitam dapat dilihat pada Gambar 1. Pada hari ke-9 semua kelompok mencit mengalami kondisi hiperurisemia yaitu dengan kadar lebih dari 1,7 mg/dl. Pada hari ke-12 kelompok kontrol positif dan semua kelompok perlakuan mengalami penurunan kadar asam urat. Pada kelompok negatif tidak terjadi penurunan kadar asam urat.



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

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



Gambar 2. Persen penurunan kadar asam urat

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

Jika ketiga ekstrak dibandingkan dengan kontrol positif, ekstrak etil asetat memiliki signifikansi lebih besar dari $\alpha 0,05$. Dari hasil didapatkan bahwa ekstrak etil asetat memiliki nilai persen penurunan yang tidak berbeda signifikan dengan kontrol. Ekstrak etil asetat memiliki nilai persen penurunan yang paling tinggi ($81,37 \pm 9,48 \%$) diikuti etanol 70 % ($45,85 \pm 3,62 \%$) dan ekstrak *n*-heksana ($40,25 \pm 4,77 \%$). Ekstrak etanol 70 % dan *n*-heksana menunjukkan hasil yang tidak berbeda signifikan.

Ekstrak yang memiliki persen penurunan tertinggi diuji penapisan fitokimia. Berdasarkan hasil penapisan fitokimia terdapat beberapa senyawa seperti alkaloid, saponin, dan terpenoid.

Pembahasan

Mencit dikondisikan agar mengalami hiperurisemia dengan cara diinduksi jus hati ayam selama 9 hari. Sebelum pengambilan darah mencit diinjeksi dengan kalium oksonat. Kalium oksonat merupakan penghambat enzim urikase yang bisa mengubah asam urat menjadi allantoin yang larut dalam air. Kalium oksonat perlu diinduksikan agar kadar asam urat tidak berkurang akibat pengonversian dari enzim urikase.

Induksi jus hati ayam dan kalium oksonat terbukti dapat meningkatkan kadar asam urat darah pada mencit. Hal ini karena semua kelompok perlakuan kadarnya melebihi 1,7 mg/dL [7]. Dapat dilihat pada Gambar 1 setelah diberi perlakuan sediaan uji selama 4 hari kadar asam urat darah pada mencit menurun pada semua kelompok ekstrak. Hal ini berarti semua ekstrak memiliki kemampuan menurunkan kadar asam urat.

Dari data pengukuran yang didapat kemudian dihitung persen penurunannya. Tujuannya adalah untuk mengetahui besarnya persen penurunan pada masing-masing kelompok. 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 etil asetat. Persen penurunan kadar asam urat terendah terjadi pada kelompok *n*-heksana.

Kadar asam urat dapat diturunkan melalui penghambatan enzim xantin oksidase (inhibisi kompetitif). Penelitian mengenai penurunan kadar asam urat *in vitro* telah dilakukan oleh menggunakan metode spektrofotometri [8]. Ketika diuji *in vitro* aktivitas ekstrak etil asetat menunjukkan hasil mendekati alopurinol dibanding ekstrak *n*-heksana. Berdasarkan polaritasnya kadar flavonoid akan lebih banyak terdapat pada ekstrak etanol 70%. Tingginya kemampuan reduksi berhubungan dengan tingginya kadar flavonoid dan polifenol (8). Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh penulis didapatkan hasil bahwa ekstrak etil asetat justru memiliki persen penurunan yang lebih besar dibanding etanol 70%. Padahal pada ekstrak etil asetat tidak terdapat senyawa flavonoid. Persen penurunan yang besar ini

memperkuat dugaan bahwa terdapat senyawa lain yang dapat menurunkan kadar asam urat. Terpenoid pada ekstrak etil asetat diduga memiliki aktivitas menurunkan kadar asam urat. Menurut beberapa penelitian, jinten hitam memiliki senyawa utama yaitu *thymoquinone* [9]. *Thymoquinone* termasuk golongan senyawa terpenoid yang selalu dikaitkan pada berbagai aktivitas farmakologis [10]. Senyawa terpenoid memiliki aktivitas menurunkan kadar asam urat yang belum diketahui mekanismenya [11].

Ekstrak biji jinten hitam karena memiliki aktivitas antioksidan, analgesik, antiinflamasi, *rheumatoid arthritis*, dan memperbaiki sel-sel ginjal setelah mengalami nefrotoksitas [12-14]. Beberapa aktivitas tersebut berkaitan dengan komplikasi lanjut asam urat seperti risiko timbulnya artritis gout, nefropati gout, atau batu ginjal [15], oleh karena itu ekstrak biji jinten hitam dapat dijadikan alternatif yang baik sebagai alternatif pengobatan hiperurisemia.

Simpulan dan Saran

Ekstrak *n*-heksana, etil asetat, dan etanol 70% biji jinten hitam dapat menurunkan kadar asam urat. Ekstrak etil asetat biji jinten hitam dosis 200 mg/kg BB menunjukkan aktivitas anti hiperurisemia tertinggi ($56,12 \pm 19,49$ %) dibanding ekstrak *n*-heksana ($25,84 \pm 8,91$ %) dan etanol 70% ($37,24 \pm 7,78$ %). Saran untuk penelitian ini adalah perlu adanya kelompok kontrol normal untuk mengetahui persen koreksi masing-masing kelompok.

Daftar Pustaka

[1] Muniroh, L., Martini, S., Nindya, T.S., dan Solfaïne, R. "Minyak atsiri kunyit sebagai anti radang pada penderita gout arthritis dengan diet tinggi purin," *Makara, Kesehatan*, Vol.14, No.2 (2010) 57-64.

[2] Dipiro J.T., Talbert R.L., Yee G.C., Matzke, G.R., Wells, B.G., Posey, L.M. 2011. eds. *Pharmacotherapy: A Pathophysiological Approach*, 7th edition. New York, NY: McGraw Hill; 1739.

[3] Wortmann, R.L. dalam Horrison. 2000. *Prinsip-prinsip Ilmu Penyakit Dalam Edisi 13*. Jakarta: EGC Volume 5.

[4] Yulianto, Dede. 2009. Inhibisi Xantin Oksidase Secara In Vitro oleh Ekstrak Rosela (*Hibiscus Sabdariffa*) dan Ciplukan (*Physalis Angulata*). Skripsi. Bogor: Program Sarjana, Institut Pertanian Bogor.

[5] Dipiro J.T., Talbert R.L., Yee G.C., Matzke, G.R., Wells, B.G., Posey, L.M. 2011. eds. *Pharmacotherapy: A Pathophysiological Approach*, 7th edition. New York, NY: McGraw Hill; 1739.

[6] Merfort, I., Wray, V., Barakat, H.H., Hussein, S.A.M., Nawwar, M.A.M., Willuhn, G. 1997. Flavonol triglycosides from seeds of *Nigella sativa*. *Phytochemistry*; 46(2):359-363.

[7] Suhendi, A., Nurcahyanti, Muhtadi, dan Sutrisna, E.M. 2011. Aktivitas Antihiperurisemia Ekstrak Air Jinten Hitam (*Coleus ambonicus* Lour.) pada Mencit Jantan Galur Balb-C dan Standardisasinya. *Majalah Farmasi Indonesia*; 22(2):77-84.

[8] Boudiaf, K., Houcher, Z., Sobhi, W., and Benboubetra, M. 2010. Evaluation of Antioxidant and Anti-Xanthine Oxidoreductase Activities of *Nigella sativa* Linn seeds extracts. *Journal of Applied Biological Sciences*; 4(1): 7-16.

[9] Muhtasib, H.G., Najjar, N.E., and Stock, R.S. 2006. The medicinal potential of black seed (*Nigella sativa*) and its components. *Lead Molecules from Natural Products*; 133-153.

[10] Nickavar, B., Mojaba, F., Javidniab, K., and Amolia, M.A.R. 2003. Chemical Composition of the Fixed and Volatile Oils of *Nigella sativa* L. from Iran. *Fixed and Volatile Oils of Nigella sativa*; 629-631.

[11] Priyatno, L.H.A, Sukandar, E.Y, Ibrahim, S., dan Adnyana, K. 2007. Xanthine Oxidase Inhibitor Activity of Terpenoid and Pyrrole Compounds Isolate from Snake Fruit (*Salacca edulis* Reinw.) cv. Bongkok. *Journal of Applied Science*; 7(20): 3127-3130.

[12] Meziti, A., Meziti, H., Boudiaf, K., Mustapha B., and Bouriche, H. 2012. Polyphenolic Profile and Antioxidant Activities of *Nigella Sativa* Seed Extracts In Vitro and In Vivo. *World Academy of Science, Engineering and Technology*; 64(6):24-32.

[13] Rajsekhar, S. and Kuldeep B. 2011. Pharmacognosy and Pharmacology of *Nigella Sativa* – a Review. *International Research Journal of Pharmacy*; 2(11): 36-39.

[14] Hadzadeh, M.A., Khoei, A., Hadzadeh, Z., Parizady, M. 2007. Ethanolic Extract of *Nigella Sativa* L Seeds on Ethylene Glycol-Induced Kidney Calculi in Rats. *Urology Journal*; 4(2): 86-90.

[15] Hidayat, Rudy. 2009. Gout dan Hiperurisemia. *Medicinus*; 22(1): 47-50.