

**UJI AKTIVITAS ANTIHIPERURISEMIA EKSTRAK
ETANOL DAUN BIDARA (*Ziziphus spina-christi* L.)
TERHADAP MENCIT PUTIH JANTAN**

DRAFT PROPOSAL



Oleh:

ELSA INDAH PERMATA
NIM: 1904106

**PROGRAM STUDI S1 FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS PERINTIS INDONESIA
PADANG
2023**

BAB I. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Pada beberapa tahun terakhir tingkat penyebaran hiperurisemia mengalami peningkatan di seluruh dunia (Pokhrel *et al.*, 2015). Menurut data Global Burden of Diseases (GBD) menyatakan bahwa tingkat penyebaran hiperurisemia di Indonesia mencapai sebesar 18%. Hiperurisemia cenderung mengalami peningkatan pada pria yang berumur diatas 30 tahun dan pada wanita yang berumur diatas 50 tahun. Sehingga dapat dikatakan bahwa pria lebih besar berisiko terkena hiperurisemia dibandingkan wanita. Hal ini disebabkan karena, pada wanita terdapat hormon esterogen yang dapat membantu meningkatkan eksresi asam urat melalui ginjal, sehingga asam urat dalam tubuh dapat terkontrol (Sitanggang, 2006).

Pada umumnya obat yang digunakan untuk mengatasi hiperurisemia adalah obat yang dapat menghambat pembentukan asam urat, seperti allopurinol. Allopurinol memiliki mekanisme kerja dengan cara menghambat enzim xantin oksidase yang dapat mengubah hipoxantin menjadi xantin dan mengubah xantin menjadi asam urat (Mutschler, 1991). Allopurinol memiliki efek samping seperti reaksi alergi kulit, kerusakan hati, nyeri kepala, ginjal, gangguan saluran pencernaan, diare dan rasa mual. Dengan adanya efek samping tersebut, maka diperlukan adanya penemuan inhibitor xantin oksidase terbaru dari sumber daya alam, khususnya tumbuhan obat sebagai pengganti alternatif dari allopurinol yang dapat mengobati penyakit asam urat serta dapat meminimalisir efek samping yang ditimbulkan.

Salah satu tanaman yang dapat berperan dalam proses penurunan kadar asam urat di dalam darah ialah tumbuhan bidara (*Ziziphus spina-christi* L.). Tumbuhan

bidara (*Ziziphus spina-christi* L.) merupakan salah satu tumbuhan yang memiliki banyak manfaat, sebagian dari masyarakat menggunakan tumbuhan bidara sebagai obat tradisional untuk mengatasi hiperurisemia. Di India masyarakat menggunakan tumbuhan bidara sebagai obat diare, kencing manis dan malaria, sedangkan di Malaysia rebusan kulit kayunya dimanfaatkan sebagai obat sakit perut dan sebagian masyarakatnya menggunakan daun bidara untuk kecantikan seperti mengatasi jerawat, kriptik dan lingkaran hitam pada bawah mata (Latif, 2000).

Berdasarkan invetsigasi fitokimia pada tumbuhan bidara (*Ziziphus spina-christi* L.) telah menunjukkan bahwa tanaman ini mengandung flavonoid, sterol, alkaloid peptida, siklopeptida, asam betulinat, glikosida saponin (Essam *et al.*, 2017). Berdasarkan dari kandungan metabolit sekundernya, senyawa flavonoid yang terkandung pada tumbuhan daun bidara dapat berperan sebagai alternatif untuk pengobatan hiperurisemia yang bekerja dengan menghambat kerja dari enzim xantin oksidase. Maka dari itu, senyawa flavonoid mampu mengatasi penyakit asam urat pada manusia, karena mekanisme kerjanya yang dapat mampu mengurangi pembentukan asam urat di dalam darah dengan cara menghambat enzim xantin oksidase.

Studi skrining farmakologis menunjukkan bahwa ekstrak air dari tumbuhan bidara (*Ziziphus spina-christi* L.) bagian kulit akar memiliki aktivitas antinosiseptik pada mencit, sedangkan pada ekstrak methanol dari tumbuhan bidara (*Ziziphus spina-christi* L.) bagian kulit batang memiliki efek antidiare terhadap tikus (Essam *et al.*, 2017). Pada penelitian sebelumnya, tumbuhan bidara memiliki kandungan fenolat yang dapat berfungsi sebagai mencegah tumbuhnya bakteri (Nurul Marfuah, 2019).

Pada penelitian ini, pengukuran kadar asam urat dilakukan pada mencit putih jantan, karena mencit jantan memiliki sistem hormonal yang satabil, perbandingan tingkat stress pada mencit jantan lebih sedikit dari pada mencit betina yang mungkin dapat mengganggu penelitian, serta mencit jantan lebih mudah dikendalikan sehingga hasilnya akan lebih akurat. Berdasarkan latar belakang di atas, maka dilakukan penelitian tentang “Uji Aktivitas Antihiperurisemia Ekstrak Etanol Daun Bidara (*Ziziphus spina-christi* L.) Terhadap Mencit Putih Jantan”.

1.2. Rumusan Masalah

1. Apakah pemberian ekstrak etanol daun bidara (*Ziziphus spina-christi* L.) dapat menurunkan kadar asam urat pada mencit hiperurisemia?
2. Apakah variasi dosis ekstrak etanol daun bidara (*Ziziphus spina-christi* L.) dapat menurunkan kadar asam urat pada mencit hiperurisemia?
3. Apakah lama waktu pemberian ekstrak etanol daun bidara (*Ziziphus spina-christi* L.) dapat menurunkan kadar asam urat pada mencit hiperurisemia?

1.3. Tujuan Penelitian

1. Untuk mendapatkan data bahwa pemberian ekstrak etanol daun bidara (*Ziziphus spina-christi* L.) dapat menurunkan kadar asam urat pada mencit hiperurisemia.
2. Untuk mendapatkan data bahwa variasi dosis ekstrak etanol daun bidara (*Ziziphus spina-christi* L.) dapat menurunkan kadar asam urat pada mencit hiperurisemia.
3. Untuk mendapatkan data bahwa lama waktu pemberian ekstrak etanol daun bidara (*Ziziphus spina-christi* L.) dapat menurunkan kadar asam urat pada mencit hiperurisemia.

1.4. Manfaat Penelitian

1. Memberikan informasi dan data ilmiah tentang kandungan daun bidara (*Ziziphus spina-christi* L.) yang dapat bermanfaat sebagai pengobatan penyakit asam urat.
2. Memberi informasi kepada pembaca tentang efek farmakologis penggunaan ekstrak etanol daun bidara (*Ziziphus spina-christi* L.).
3. Dapat menjadi dasar pengembangan lebih lanjut tentang ekstrak daun bidara (*Ziziphus spina-christi* L.) sebagai obat tradisional.
4. Sebagai bahan pembelajaran dan pengetahuan bagi peneliti tentang penggunaan tumbuhan sebagai obat tradisional.

1.5. Hipotesa Penelitian

- a. H₀: Pemberian ekstrak etanol daun bidara (*Ziziphus spina-christi* L) tidak dapat menurunkan kadar asam urat pada mencit hiperurisemia.
H₁: Pemberian ekstrak etanol daun bidara (*Ziziphus spina-christi* L) dapat menurunkan kadar hiperurisemia mencit putih jantan.
- b. H₀: Pemberian variasi dosis ekstrak etanol daun bidara (*Ziziphus spina-christi* L.) tidak dapat kadar asam urat pada mencit hiperurisemia.
H₁: Pemberian variasi dosis ekstrak etanol daun bidara (*Ziziphus spina-christi* L.) dapat menurunkan kadar asam urat pada mencit hiperurisemia.
- c. H₀: Lama waktu pemberian ekstrak etanol daun bidara (*Ziziphus spina-christi* L.) tidak dapat menurunkan kadar asam urat pada mencit hiperurisemia.
H₁: Lama waktu pemberian ekstrak etanol daun bidara (*Ziziphus spina-christi* L.) dapat menurunkan kadar asam urat pada mencit hiperurisemia.

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Tinjauan Biologi Tumbuhan Bidara (*Ziziphus spina-christi* L.)

2.1.1 Klasifikasi Tumbuhan

Klasifikasi tanaman menurut Tjitrosoepomo (2010) adalah sebagai berikut:



Gambar 1. Daun Bidara

Kingdom : Plantae

Divisi : Magnoliophyta

Kelas : Magnoliopsida

Ordo : Rosales

Famili : Rhamnaceae

Genus : *Zizhipusa*

Spesies : *Ziziphus spina-christi* L.

2.1.2 Nama Daerah dan Penyebarannya

Tumbuhan bidara termasuk famili Rhamanceae, di Jawa tanaman ini disebut widara dan di Sumbawa populer dengan nama goal. Di Indonesia, penyebaran tumbuhan bidara mencakup wilayah pulau Madura, Maluku, Bali, Jawa, dan paling banyak ditemukan di daerah Sumbawa (Heyne, 1987).

2.1.3 Morfologi Tumbuhan

Tanaman bidara (*Ziziphus spina-christi* L) memiliki bentuk batang yang bulat dan berkayu, memiliki warna hijau keabu-abuan dan pada setiap ruas batang memiliki duri tajam yang bewarna kemerahan. Tanaman *Ziziphus spina-christi* dapat tumbuh hingga mencapai 15 m yang dapat tumbuh di daerah kering. Tanaman ini selalu hijau atau semi menggugurkan daun (Latiff, A.M, 1991).

Daun pada tanaman *Zizhipus sina-christi* memiliki bentuk bundar atau bulat telur seperti oval, memiliki tulang daun 3, yang bewarna hijau tua, tepi daunnya tumpul atau membulat dan terlihat dari bawah daunnya bewarna putih (Van Steenis, 2018 dalam Sareng 2018). Helai daun yang berbentuk bundar memiliki panjang 2-9 cm dan lebar 1,5-5 cm.

Bunga pada tanaman *Ziziphus spina-christi* memiliki bentuk payung menggarpu yang tumbuh di ketiak daun yang memiliki panjang 1-2 cm, berisi 7-20 kuntum. Bunga-bunga tanaman ini berukuran kecil, yang memiliki garis tengah dengan ukuran 2-3 mm, meiliki warna kekuningan. Kelopak bunganya bertaju 5 yang berbentuk delta (menyegitiga), memiliki rambut di luarnya dan gundul dibagian sisi dalam, memiliki mahkota 5, agak seperti sudip, cekung dan melengkung (Latiff, A.M, 1991).

Buah pada tumbuhan bidara berbentuk bulat hingga seperti bulat telur, berkulit halus atau kasar, mengkilap, tipis namun liat, bewarna kekuningan, kemerahan hingga kehitaman jika masak. Daging buahnya putih, memiliki rasa yang manis. Biji terlindungi dalam tempurung yang berbingkul dan beralur tak teratur, berisi 1-2 inti biji yang coklat berbentuk jorong (Latiff, A.M, 1991).

2.1.4 Manfaat Tumbuhan

Tanaman bidara (*Zizipus spina-christi* L.) memiliki manfaat yang sangat banyak, mulai dari pengobatan penyakit hingga untuk kecantikan. Untuk pengobatan penyakit tanaman bidara dapat dimanfaatkan untuk mengobati abses (bisul), gangguan hati, demam, asma, luka, bengkak dan diare (Morton, 1987; Arbonnier, 2000 dalam Gsareng). Selain itu tanaman *Ziziphus spina-christi* juga dapat dimanfaatkan sebagai antiinflamasi (meredakan peradangan, serta nyeri), antimikroba, mencegah terjadinya penyakit tumor, antifungi (Prior, 2003). Sedangkan dalam dunia kecantikan tanaman bidara dapat digunakan sebagai antioksidan (mencegah penuaan) (Najafi, 2013).

2.1.5 Tinjauan Kimia Tumbuhan

Berdasarkan penelitian-penelitian yang telah dilakukan, tumbuhan bidara (*Ziziphus spina-christi* L.) mengandung berbagai macam senyawa kimia, yaitu:

NO	SENYAWA KIMIA	SUMBER
1.	Sterol, alkaloid peptide, siklopeptida, asam betulinat, glikosida saponin, flavonoid.	(Essam <i>et al.</i> , 2017)
2.	Asam amino, vitamin c, polifenol, triterpenoid, asam lemak, polisakarida,	(Amany <i>et al.</i> , 2022)
3.	Lipid, protein, asam seanotik.	(Asgarpanah & Khoskam, 2012)
4.	Sapogenin, natrium (pada buah), kalium (pada buah), kalsium (pada buah).	(Amro <i>et al.</i> , 2021)
5.	Antrakuinon	(Dangonggo <i>et al.</i> , 2012)

2.1.6 Tinjauan Farmakologi

Menurut penelitian yang dilakukan oleh (Najafi, 2013), menyatakan bahwa pada ekstrak methanol dan etanol daun bidara memiliki aktivitas antioksidan. Pemberian ekstrak etanol daun bidara (*Ziziphus spina-christi* L.) dengan dosis 100

mg, 150 mg, 200 mg memiliki aktivitas sebagai antipiretik (F. Nughrahwati, 20016). Selain itu masyarakat juga menggunakan tanaman bidara untuk mengobati flu, diare dan sebagai obat luka. Studi skrining farmakologis menunjukkan bahwa ekstrak air dari tumbuhan bidara (*Ziziphus spina-christi* L.) bagian kulit akar memiliki aktivitas antinosiseptif pada mencit, sedangkan pada ekstrak methanol dari tumbuhan bidara (*Ziziphus spina-christi* L.) bagian kulit batang memiliki efek antidiare terhadap tikus (Essam *et al.*, 2017).

2.1.7 Ekstraksi

Ekstrak adalah sediaan kental yang diperoleh dengan mengekstraksi senyawa aktif dari simplisia nabati atau hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dari massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (Dirjen POM, 1995).

Dari hasil ekstraksi diperoleh ekstrak. Ekstrak adalah sediaan cair yang diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati atau hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian sehingga memenuhi yang telah ditetapkan (Dirjen POM, 1995).

Tujuan ekstraksi adalah untuk menarik dan memisahkan senyawa yang mempunyai kelarutan yang berbeda-beda dalam berbagai pelarut komponen kimia yang terdapat dalam alam baik dari tumbuhan, hewan maupun biota laut dengan, menggunakan pelarut organik tertentu. Metode ekstraksi menggunakan pelarut dapat dilakukan secara dingin yakni maserasi dan perkolasi dan secara panas yaitu

refluks, soxhlet, digesti, infusa dan dekok (Dirjen POM, 2000). Beberapa metode ekstraksi yang digunakan, yakni:

1. Cara dingin (Depkes RI, 2000)

a. Maserasi

Maserasi merupakan metode ekstraksi dengan proses perendaman bahan dengan pelarut yang sesuai dengan senyawa aktif yang akan diambil dengan pemanasan rendah atau tanpa adanya proses pemanasan.

b. Perkolasi

Perkolasi adalah cara penyarian yang dilakukan dengan mengalirkan cairan penyari melalui serbuk simplisia yang telah dibasahi. Kekuatan yang berperan pada perkolasi antara lain gaya berat, kekentalan, daya larut, tegangan permukaan, difusi, osmosa, adesi, daya kapiler, dan daya geseran.

2.2. Asam Urat

2.2.1 Pengertian Asam Urat

Asam urat merupakan produk akhir dari katabolisme atau pemecahan purin di dalam tubuh. Katabolisme termasuk proses metabolisme tubuh yang merombak suatu substrat kompleks menjadi molekul yang lebih kecil. Katabolisme purin ini membutuhkan enzim xantin oksidase yang terdapat di hati dan usus. Purin merupakan salah satu komponen asam nukleat yang terdapat di dalam inti sel tubuh semua makhluk hidup. Asam urat biasanya terjadi pada persendiaan atau ginjal.

Penyakit ini menimbulkan peradangan dan rasa nyeri pada bagian sendi tempat menumpuknya kristal asam urat yang saling bergesekkan pada saat sendi bergerak (Ersi, 2013) Kadar asam urat berkaitan erat dengan produksi purin dan asupan purin yang dikonsumsi. Asam urat yang merupakan hasil buangan ini harus

dikeluarkan oleh ginjal dari dalam tubuh melalui urin dan sebagian kecil melalui feses. Kadar asam urat yang normal tergantung dari usia dan jenis kelamin, kadar asam urat wanita dewasa 2,4–5,7 mg/dl, pria dewasa 3,4–7,0 mg/dl, dan anak-anak 2,8–4,0 mg/dl (Ersi, 2013). Mencit dikatakan mengalami hiperurisemia bila kadar asam uratnya sebesar 1,7–3,0 mg/dl, dan kadar asam urat normal pada mencit adalah 0,5–1,4 mg/dL (Nurcahyanti, 2007).

2.2.2 Hiperurisemia

Hiperurisemia adalah suatu keadaan terjadinya peningkatan kadar asam urat di dalam darah (diatas 7,0 mg/dl untuk pria dan 6,0 mg/dl untuk wanita). Pada pria nilai normal kadar asam urat berkisar antara 3,5–7,0 mg/dl, sedangkan pada Wanita berkisar antara 2,4–6,0 mg/dl (Murray, 2005). Hiperurisemia disebabkan oleh kelainan genetik dalam system metabolisme tubuh yang menyebabkan tubuh menghasilkan asam urat yang berlebih atau disebabkan karena tubuh tidak dapat mengeliminasi asam urat dari tubuh. Asam urat merupakan produk akhir katabolisme atau pemecahan purin dalam tubuh. Purin merupakan salah satu komponen asam nukleat yang terdapat dalam inti sel tubuh makhluk hidup. Penyakit asam urat ini menimbulkan peradangan dan rasa nyeri pada bagian persendian tempat menumpuknya kristal asam urat yang saling bergesekkan pada saat sendi bergerak (Ersi, 2013).

2.2.3 Etiologi Hiperurisemia

Pada beberapa penelitian menunjukkan bahwa faktor risiko terjadinya gout erat hubungannya dengan usia, kadar kreatinin dalam serum, kadar *Blood Urea Nitrogen* (BUN), jenis kelamin, tekanan darah, berat badan, stress, trauma, dislipidemia, pasien dengan kerusakan ginjal dan konsumsi alkohol. Pada penderita

gout, kadar asam urat dalam serum rata-rata adalah 7,0 mg/dl untuk pria sedangkan pada wanita berkisar antara 6,0 mg/dl. Resiko pria menderita gout 10 kali lebih sering dibandingkan wanita (Burns *et al.*, 2008).

Gangguan hiperurisemia disebabkan oleh tingginya kadar asam urat di dalam darah, yang dapat menyebabkan terjadinya penumpukan kristal di daerah persendian sehingga menimbulkan rasa nyeri. Penyebab lainnya tingginya konsentrasi bahan pangan sumber protein, terutama purin. Bahan makanan yang mengandung purin tinggi adalah hati, jantung, otak, paru-paru daging, kacang-kacangan (Almatsier, 2003).

Asupan makanan tinggi purin berpengaruh terhadap kadar asam urat dalam tubuh. Secara ilmiah purin terdapat dalam tubuh dan dijumpai pada semua makanan. Jika asupan makanan tinggi purin berlebih, sementara tubuh sudah mengalami peningkatan kadar asam urat, maka purin yang masuk akan semakin banyak dan menjadi timbunan kristal asam urat. Apabila penimbunan kristal terbentuk di cairan sendi, maka terjadilah penyakit gout dan jika penimbunan terjadi di ginjal, maka akan muncul batu asam urat ginjal yang disebut batu ginjal. Sehingga seseorang yang sudah terkena penyakit asam urat sebaiknya harus menghindari bahan makanan yang mengandung sumber purin sehingga dilakukan untuk membatasi asupan purin menjadi 100-150 mg purin perhari (Dewanti, 2010).

2.2.4 Metabolisme Asam Urat

Hiperurisemia merupakan hasil akhir dari metabolisme purin, baik purin yang berasal dari bahan pangan, maupun dari hasil pemecahan purin asam nukleat tubuh. Proses pembentukan asam urat Sebagian besar berasal dari metabolisme nukleotida purin endogen, *guanylic acid* (GMP), *inosinic acid* (IMP), dan *adenylic acid*

(AMP). Perubahan *hypoxantin* dan *guanin* menjadi *xantin* dikatalis oleh enzim *xantin oksidase* dengan produk akhir asam urat. Asam urat merupakan produk yang tidak dapat dimetabolisme lebih lanjut. Hanya 5% asam urat yang terikat plasma dan sisanya akan difiltrasi secara bebas oleh glomerulus.

Dari semua asam urat yang difiltrasi, 99% akan direabsorpsi oleh tubulus proksimal. Kemudian 7-10% fraksi asam urat akan disekresi oleh tubulus distal (Vedercchia *et al.*, 2000; Dincer *et al.*, 2002; Berry *et al.*, 2004).

2.2.5. Patofisiologi Hiperurisemia

Hiperurisemia dapat menyebabkan penumpukan kristal monosodium urat. Peningkatan atau penurunan kadar asam urat serum yang mendadak mengakibatkan serangan gout. Apabila kristal asam urat mengendap dalam sebuah sendi, maka selanjutnya respon inflamasi akan terjadi dan serangan gout pun mulai. Apabila serangan terjadi berulang-ulang mengakibatkan penumpukan kristal natrium urat yang dinamakan tofus yang akan mengendap dibagian erifer tubuh seperti ibu jari kaki, tangan, dan telinga (Smelzer, 2001).

2.2.6 Penatalaksanaan Hiperurisemia

Kadar hiperurisemia pada tiap inividu sangat bervariasi, tergantung pada faktor endogen dan faktor eksogen (Hochberg *et al.*, 2010). Pengobatan hiperurisemia dan gout dapat didasarkan pada usaha untuk menurunkan produksi asam urat atau meningkatkan eksresi asam urat oleh ginjal. Obat allopurinol menghambat pembentukan asam urat melalui mekanisme penghambat enzim *Xantin Oksidase*, kemudian enzim ini bekerja dengan menghambat hipoxantin menjadi xantin, dan selanjutnya menjadi asam urat (Alegantina, 2000).

Obat-obatan urikosurik merupakan obat yang dapat meningkatkan ekskresi asam urat. Obat ini bekerja dengan cara menurunkan kadar asam urat dengan menghambat reabsorpsi tubulus ginjal terhadap asam urat, sehingga dapat meningkatkan ekskresi asam urat melalui ginjal. Sulfipirazon dan probenesid merupakan contoh obat urikosurik yang paling umum digunakan. Jika seorang pasien menggunakan obat urikosurik, maka pasien tersebut memerlukan intake cairan sekurang-kurangnya 1500 ml/hari agar dapat ekskresi asam urat (Harrison, 2008).

Rekomendasi obat untuk serangan gout akut yang onsetnya <12 jam adalah kolkisin dengan dosis awal 1 mg diikuti 1 jam kemudian 0,5 mg. terapi pilihan lain diantaranya OAINS, kortikosteroid oral. Kolkisin dan OAINS tidak boleh diberikan pada pasien yang mengalami gangguan fungsi ginjal berat. (Perhimpunan Reumatologi Indonesia, 2018).

Terapi penurunan kadar asam urat dibedakan menjadi 2 kelompok, yaitu: kelompok xantin oksidase (allopurinol dan febuxostat) dan kelompok urikosurik (probenecid). Allopurinol merupakan obat pilihan pertama untuk menurunkan kadar asam urat, diberikan mulai dosis 100 mg/hari. Jika terjadi toksisitas akibat obat allopurinol, salah satu pilihan terapi adalah dengan memberikan urikosik dengan probenecid 1-2 gr/hari (Perhimpunan Reumatologi Indonesia, 2018).

Terapi serangan asam urat akut atau gout arthritis dapat diberikan golongan obat NSAID, seperti Indomethasin dan Naproxen. Pemberian NSAID biasanya lebih dapat ditolerir dibandingkan kolkhsin dan lebih mempunyai efek yang lebih bagus (Depkes RI, 2006). Obat NSAID bekerja dengan cara mengurangi prostaglandin yang terkait dengan nyeri serta peradangan yang ditimbulkan oleh

kadar asam urat. Golongan obat NSAID seperti indometasin dan naproxen dapat menimbulkan efek samping serius pada saluran cerna, dan ginjal. Obat golongan COX 2 *inhibitor* seperti celecoxib merupakan pilihan pada penderita gout arthritis dengan masalah saluran cerna (Cronstein dsn Terkeltaub, 2006).

2.2.7 Metode Pemeriksaan Asam Urat

1. Metode POCT (Tes strip)

Pada metode strip tes pemeriksaan kadar asam urat menggunakan katalis dengan teknologi biosensor yang dirancang khusus. Tes strip dirancang sedemikian rupa sehingga Ketika darah dimasukkan ke dalam zona reaksi strip, katalis asam urat memicu oksidasi asam urat dalam darah. Metode strip tes memiliki kelebihan waktu pemeriksaan lebih cepat, kurang dari lima menit, tidak memerlukan sampel dalam jumlah besar serta pengoperasian dari alat sangat mudah.

2. Metode Enzimatik

Metode enzimatik bekerja dengan memecah asam urat menjadi allantoin dan hydrogen peroksida. Selanjutnya dengan adanya peroksidase, akan bereaksi dengan 4-aminoantipirin dan N-ethyl-N(hydroxy-3-sulfopropyl)-m-toluidin (TOOS) menghasilkan senyawa bewarna biru keunguan (DiaSys, 2015). Metode ini memiliki kelebihan harga reagen yang lebih murah.

3. Pemeriksaan Holistik

Pemeriksaan holistic adalah pemeriksaan yang menyeluruh dimana pemeriksaan dilakukan dari kapan terjadinya nyeri, bagaimana dapat terjadinya nyeri. Setelah itu dilihat dari Riwayat kesehatan, baru ditegakkan diagnosis.

2.2.8 Allopurinol

Allopurinol adalah obat yang digunakan untuk mengobati kelebihan asam urat di dalam darah. Obat allopurinol merupakan inhibitor oksidase xantin yang diberikan secara oral. Obat ini memiliki banyak efek samping terhadap kesehatan seperti radang hati dan menyebabkan reaksi alergi. Maka dari itu perlu alternatif lain yang memiliki aktivitas yang serta pengobatan yang lebih baik dan memiliki efek samping yang rendah.

Allopurinol bekerja dengan cara menurunkan kadar asam urat melalui mekanisme penghambat enzim xantin oksidase, enzim ini bekerja dengan menghambat hipoxantin dan selanjutnya menjadi asam urat (Alegantina, 2000). Dalam tubuh allopurinol mengalami metabolisme menjadi aksipurinol (alloxantin) yang juga bekerja sebagai penghambat enzim xantin oksidase.

2.2.9 Kalium Oksonat

Kalium oksonat merupakan garam yang terbentuk dari reaksi kalium hidroksida dengan asam oksonat. Kalium oksonat memiliki rumus molekul $C_4H_2KN_3O_4$ dan berat molekul sebesar 195,17g/mol. Kalium oksonat juga memiliki sifat fisika kimia yaitu bentuknya serbuk berwarna putih, titik didih pada $300^{\circ}C$, dan kelarutannya dalam air sebesar 5 mg/ml (Darminto, 2010). Kalium oksonat adalah inhibitor enzim urikase yang bersifat kompetitif dalam meningkatkan kadar asam urat dengan mencegah asam urat menjadi allantoin, sehingga dapat digunakan sebagai indikator hiperurisemia.

Penghambatan enzim urikase oleh kalium oksonat menyebabkan asam urat akan tertumpuk dan tidak tereliminasi dalam bentuk urin. Dosis efektif kalium oksonat sebagai inhibitor urikase yakni 250 mg/Kg BB (Suhendi *et al.*, 2011).

BAB III. METODE PENELITIAN

3.1. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini akan dilakukan $\pm$ 6 bulan (Oktober – April tahun 2023) di Laboratorium Farmakologi Fakultas Farmasi Universitas Perintis Indonesia.

3.2. Desain Penelitian

Desain penelitian yang digunakan adalah desain penelitian eksperimental. Hewan uji yang digunakan adalah Mencit putih jantan yang berumur 2-3 bulan dengan berat badan 20-30 gram sebanyak 25 ekor.

Penelitian ini dilakukan dengan mengekstraksi daun bidara menggunakan etanol 70% dengan metode maserasi. Ekstrak yang diperoleh di berikan kepada mencit yang telah diinduksi hiperurisemia dengan jus hati ayam dan selanjutnya diamati penurunan kadar asam urat mencit tersebut dengan perbandingan yaitu Allopurinol.

3.3. Alat dan Bahan

3.3.1 Alat

Alat yang digunakan adalah botol maserasi, corong (*Pyrex*), kertas saring, batang pengaduk, pipet tetes, buret (*Pyrex*), aluminium foil, beaker glass (*Pyrex*), timbangan hewan, timbangan analitik, gelas ukur (*Pyrex*), kaca arloji, plat tetes, krus porselen, mortir dan stamper, tabung reaksi (*Pyrex*), rak tabung reaksi, vial, spatel, alat sonde, alat *GCU*, *rotary evaporator* (*Bucht*).

3.3.2 Bahan

Daun Bidara (*Ziziphus spina-christi* L.), etanol 70%, kloroform, serbuk Mg, H₂SO₄, asam asetat anhidrat, kloroform amoniak HCl pekat, FeCl₃, Na-CMC,

mencit jantan dengan berat badan 20-30 gram, Allopurinol, Kalium oksonat, jus hati ayam sebagai makanan diet purin tinggi.

3.4. Tahapan Penelitian

3.4.1 Pengambilan Sampel

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah daun bidara (*Ziziphus spina-christi* L.) yang diambil di daerah Kambang, Kec. Lengayang, Kab. Pesisir Selatan, Sumatera Barat.

3.4.2 Identifikasi Sampel

Identifikasi sampel dilakukan di Herbarium Jurusan Biologi FMIPA Universitas Andalas (UNAND) Padang, Sumatera Barat.

3.4.3 Pembuatan Simplisia

Daun tumbuhan bidara diambil sebanyak 5 kg, dicuci bersih, kemudian dikeringkan diudara terbuka pada suhu ruangan dan tidak terkena cahaya matahari langsung. Setelah kering, daun sungkai dihaluskan dengan menggunakan blender hingga menjadi serbuk simplisia.

3.4.4 Ekstrak Daun Bidara

Daun bidara diambil dan dicuci bersih, kemudian dikeringkan diudara terbuka pada suhu ruangan dan tidak terkena cahaya matahari langsung. Setelah kering, daun bidara dihaluskan menggunakan blender hingga menjadi serbuk simplisia. Daun bidara diekstraksi secara maserasi menggunakan etanol 70%, dilakukan pengadukan secara kontinyu (3 x 24 jam). Setelah 5 hari ekstrak tersebut dipisahkan dengan menggunakan kertas saring, lalu dilakukan remaserasi, yaitu dilakukan pengulangan penyaringan sampai mendapatkan ekstrak bening, dan maserat hasil pemisahan dikumpulkan. Selanjutnya maserat diuapkan dengan

menggunakan *rotary evaporator* hingga didapatkan ekstrak etanol kental (Departemen Kesehatan RI, 2000).

3.5. Karakteristik Ekstrak Etanol Daun Bidara (*Ziziphus spina-christi* L.)

3.5.1 Pemeriksaan Organoleptis

Dilakukan pengamatan panca indera yang meliputi warna, bentuk, bau dan rasa.

3.5.2 Pemeriksaan Kelarutan

Pemeriksaan kelarutan dilakukan dengan melarutkan ekstrak kental pada air dan etanol 95 % (Djamal, 2010).

3.5.3 Penentuan Rendemen Ekstrak

Sampel yang telah dibersihkan ditimbang (A) dan ekstrak diperoleh ditimbang kembali (B). Rendemen dihitung dengan rumus (Departemen Kesehatan RI, 2008).

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{B \text{ (gram)}}{A \text{ (gram)}} \times 100 \%$$

Keterangan :

A = Berat sampel awal (g)

B = Berat ekstrak yang diperoleh (g)

3.5.4 Penentuan Susut Pengeringan

Bertujuan untuk menunjukkan batas maksimum (rentang) senyawa yang hilang pada proses pengeringan. Krush porselen dipanaskan dalam oven 105°C selama 30 menit, kemudian didinginkan dalam desikator dan berat awal di timbang (W_0). Masukkan ekstrak sebanyak 1-2 gram kedalam krush tersebut dan di timbang kembalu (W_1). Kemudian krush di goyang secara perlahan agar ekstrak merata. Masukkan ke dalam oven, buka tutup krush dan biarkan krush terbuka dalam oven.

Panaskan selama 2 jam pada suhu 105°C, dinginkan dalam desikator kemudian timbang kembali (W_2). Ulangi perlakuan diatas hingga diperoleh bobot tetap (Departemen Kesehatan RI, 2008). Hasil penimbangan dicatat, dan hitung susut pengeringannya dengan persamaan :

$$\text{Susut Pengeringan} = \frac{(W_1 - W_0) - (W_2 - W_0)}{(W_1 - W_0)} \times 100 \%$$

Keterangan :

W_0 = Kurs timbang (g)

W_1 = Kurs timbang + ekstrak (g)

W_2 = Kurs timbang + hasil pengeringan (g)

3.5.5 Penetapan Kadar Abu

Timbanglah krus tabung kosong (W_0), kemudian tambahkan ekstrak kedalam sebanyak 2-3 gram kedalam krus yang sudah ditimbang (W_1), dipijarkan perlahan. Kemudian suhu dinaikkan secara bertahap hingga $600 \pm 25^\circ\text{C}$ sampai bebas karbon, selanjutnya dinginkan dalam desikator, serta timbang berat abu (W_2). Kadar abu dihitung dalam persen terhadap berat sampel awal (Departemen Kesehatan RI, 2000)

$$\text{Kadar Abu} = \frac{(W_2 - W_0)}{(W_1 - W_0)} \times 100 \%$$

Keterangan :

W_0 = Berat Krush Kosong

W_1 = Berat Krush + ekstrak

W_2 = Berat krush + hasil pemijaran

3.5.6 Uji Skrining Fitokimia

Ekstrak daun bidara dimasukkan kedalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 5 ml aquadest dan 5 ml kloroform dikocok dan dibiarkan sampai terbentuk 2 lapisan air dan kloroform (Harbone, 1987).

a. Uji Flavonoid (Metode Sianidin Test)

Ambil lapisan air 1-2 tetes, diteteskan pada plat tetes lalu tambahkan serbuk Mg dan HCl (p), terbentuknya warna merah menandakan adanya flavonoid

b. Uji Saponin

Ambil lapisan air, dikocok kuat-kuat dalam tabung reaksi, terbentuknya busa yang permanen ($\pm$ 15 menit) menunjukkan adanya saponin (Harborne, 1987).

c. Uji Terpenoid dan Steroid (Metode Simes)

Lapisan kloroform disaring dengan norit, hasil saringan dipipet 2-3 tetes dan dibiarkan mengering pada plat tetes, setelah kering tambahkan 2 tetes asam asetat anhidrat dan 1 tetes H_2SO_4 (p), jika terbentuk warna biru atau hijau menandakan adanya steroid, sedangkan bila terbentuk warna merah menunjukkan adanya terpenoid.

d. Uji Alkaloid (Metode Culvenore-Fitzgerald)

Ambil sedikit lapisan kloroform tambahkan 10 ml kloroform 10 ml kloroform amoniak 0,05 N, aduk perlahan tambahkan beberapa tetes H_2SO_4 2 N kemudian dikocok perlahan, biarkan memisah, lapisan asam ditambahkan beberapa tetes pereaksi mayer, reaksi positif alkaloid ditandai dengan adanya kabut putih hingga gumpalan putih.

e. Uji Fenolik

Ambil lapisan air 1-2 tetes, teteskan pada plat tetes lalu tambahkan pereaksi FeCl_2 , terbentuknya warna hijau kehitaman menandakan adanya gugus fenol.

3.6 Cara Kerja

3.6.1 Penyiapan Hewan Uji

Hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit putih jantan dengan berat badan 20-30 g. sebelum digunakan sebagai hewan percobaan, semua mencit di aklimitasi terlebih dahulu selama 7 hari untuk penyesuaian lingkungan, mengontrol kesehatan dan berat badan serta menyeragamkan makanannya.

3.6.2 Dosis Yang Direncanakan

- a. Dosis Ekstrak Etanol Daun Bidara

Dosis daun bidara yang digunakan adalah 100 mg/Kg BB, 150 mg/Kg BB dan 200 mg/Kg BB (F. Nughrhwati, 2016).

- b. Allopurinol yang digunakan adalah allopurinol tab 100 mg dengan dosis 13 mg/Kg BB.

- c. Dosis kalium oksonat yang digunakan adalah 250 mg/Kg BB.

3.6.3 Penyiapan Suspensi Ekstrak Etanol Daun Bidara

Suspensi ekstrak daun bidara dibuat dengan cara Na-CMC 0,5 % ditimbang 0,5 g lalu digerus hingga homogen, kemudian dikembangkan dengan air panas, setelah mengembang di gerus hingga homogen, kemudian ditambahkan ekstrak daun bidara sesuai dengan konsentrasi ekstrak yang telah direncanakan, di gerus homogen dan dicukupkan dengan aquadest sampai volume 100 ml.

$$\text{Konsentrasi} = \frac{\text{Dosis} \left(\frac{\text{mg}}{\text{KgBB}} \right) \times \text{Berat badan} \left(\frac{\text{g}}{\text{BB}} \right)}{\text{VAO (mL)}}$$

Untuk mencit 20 g :

$$VAO = 1\% \times BB$$

$$= 1\% \times 20 \text{ g}$$

$$= 0,2 \text{ mL}$$

Dosis 1 : 100 mg/kgBB

$$\text{Konsentrasi} = \frac{\text{Dosis} \left(\frac{\text{mg}}{\text{KgBB}} \right) \times \text{berat badan (grBB)}}{VAO \text{ (mL)}}$$

$$= \frac{\frac{100 \text{ mg}}{1000 \text{ g}} \times 20 \text{ g}}{0,2 \text{ mL}}$$

$$= 10 \text{ mg/mL}$$

$$= 100 \text{ mg/10 mL}$$

$$= 1000 \text{ mg/100 mL}$$

$$= 1 \text{ g/100 mL}$$

$$= 1 \%$$

Dosis 2 : 150 mg/Kg BB

$$\text{Konsentrasi} = \frac{\text{Dosis} \left(\frac{\text{mg}}{\text{KgBB}} \right) \times \text{berat badan (grBB)}}{VAO \text{ (mL)}}$$

$$= \frac{\frac{150 \text{ mg}}{1000 \text{ g}} \times 20 \text{ g}}{0,2 \text{ mL}}$$

$$= 15 \text{ mg/mL}$$

$$= 150 \text{ mg/10 mL}$$

$$= 1500 \text{ mg/100 mL}$$

$$= 1,5 \text{ g/100 mL}$$

$$= 1,5 \%$$

Dosis 3 : 200 mg/Kg BB

$$\begin{aligned}\text{Konsentrasi} &= \frac{\text{Dosis} \left(\frac{\text{mg}}{\text{KgBB}} \right) \times \text{berat badan (grBB)}}{\text{VAO (mL)}} \\ &= \frac{\frac{200 \text{ mg}}{1000 \text{ g}} \times 20 \text{ g}}{0,2 \text{ mL}} \\ &= 20 \text{ mg/ mL} \\ &= 200 \text{ mg/10 mL} \\ &= 2000 \text{ mg/100 mL} \\ &= 2 \text{ g/ 100 mL} \\ &= 2\%\end{aligned}$$

3.6.4 Penyiapan Suspensi Allopurinol Sebagai Pembanding

Allopurinol digunakan sebagai pembanding dengan mekanisme kerjanya yaitu menurunkan kadar asam urat melalui mekanisme penghambat enzim xantin oksidase, enzim ini bekerja dengan menghambat hipoxantin menjadi xantin dan selanjutnya menjadi asam urat. Dosis allopurinol pada manusia yaitu 100 mg/kg BB yang dikonversikan ke mencit dengan dosis untuk setiap 20 gram BB setara dengan 0,0026 kali dosis untuk manusia, jadi perhitungan dosisnya yaitu:

$$100 \text{ mg} \times 0,0026 = 0,26 \text{ mg/kg BB}$$

$$\begin{aligned}\text{VAO} &= 1\% \times \text{BB} \\ &= 1\% \times 20 \text{ g} \\ &= 0,2 \text{ ml}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Konsentrasi} &= \frac{\text{Dosis} \left(\frac{\text{mg}}{\text{KgBB}} \right) \times \text{berat badan (grBB)}}{\text{VAO (mL)}} \\ &= \frac{\frac{0,26 \text{ mg}}{20 \text{ g}} \times 20 \text{ g}}{0,2 \text{ mL}}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
&= 1,3 \text{ mg/mL} \\
&= 13 \text{ mg/ 10 mL} \\
&= 130 \text{ mg/100 ml} \\
&= 0,13 \text{ g/100 ml} \\
&= 0,13\%
\end{aligned}$$

diambil Allopurinol 13 mg pada tablet 100 mg, dengan cara

- diambil 20 Tablet
- Kemudian digerus
- ditimbang berat serbuk tablet
- Kemudian ditimbang berat serbuk untuk 1 tablet

$$= \frac{\text{Berat serbuk 20 tablet}}{\text{Jumlah tablet}}$$

= Rata rata berat serbuk tablet

Maka berat serbuk allopurinol yang akan di ambil untuk mendapatkan allopurinol sebanyak 13 mg :

$$\begin{aligned}
&= (13 \text{ mg/100 mg}) \times \text{berat rata rata tablet} \\
&= 13 \text{ mg/100} \times 402,3 \text{ mg} \\
&= 52,30 \text{ mg} \\
&= 0,0523 \text{ g}
\end{aligned}$$

3.6.5 Penyiapan Suspensi Kalium Oksonat Sebagai Penginduksi

Kalium oksonat sebagai penginduksi hiperurisemia digunakan dosis sebanyak 250 mg/Kg BB (Suhendi *et al.*,2011). Kalium oksonat ditimbang sebanyak 0,25 gram dan disuspensikan ke dalam larutan Na CMC 0,5 % hingga volume 50 ml.

Dosis kalsium oksonat yang digunakan= 250 mg/Kg BB

$$\begin{aligned}
 \text{VAO} &= 1\% \times \text{BB} \\
 &= 1\% \times 20 \text{ g} \\
 &= 0,2 \text{ ml}
 \end{aligned}$$

$$\text{Konsentrasi} = \frac{\text{Dosis} \left(\frac{\text{mg}}{\text{KgBb}} \right) \times \text{berat badan (grBB)}}{\text{VAO (mL)}}$$

$$= \frac{\frac{250 \text{ mg}}{1000 \text{ g}} \times 20 \text{ g}}{0,2 \text{ mL}}$$

$$= 25 \text{ mg/ml}$$

$$= 250 \text{ mg/ 10 mL}$$

$$= 1.250 \text{ mg/ 50 mL}$$

$$= 2500 \text{ mg/ 100 ml}$$

$$= 2,5 \text{ g/100 ml}$$

$$= 2,5\%$$

3.6.6 Pembuatan Sediaan Jus Hati Ayam

Hati ayam ditimbang sebanyak 37 g dan ditambahkan air sebanyak 5 ml, kemudian hati ayam dihaluskan menggunakan blender sampai halus sekitar 15 menit. Volume pemberian hati ayam pada mencit adalah 0,2 ml/20 g BB (Sonia *et al.*,2020).

3.6.7 Pemeriksaan Kadar Asam Urat Darah Pada Mencit

Pada penelitian ini pemeriksaan kadar asam urat dilakukan sebelum diberi dan setelah diberi sediaan selama 21 hari, yaitu dimulai pada hari ke-8 sampai hari ke-28. Mula-mula darah diambil melalui vena ekor, sebelumnya ekor mencit didesinfektan dengan alkohol 70% dan dibiarkan kering. Vena ekor di potong sedikit menggunakan gunting bedah, kemudian darah diteteskan pada strip asam urat dengan alat *Easy Touch GCU*.

3.6.8 Perlakuan Pada Hewan Coba

Pada penelitian ini digunakan 25 ekor mencit. Mencit diaklimatisasi selama 7 hari. Kemudian semua mencit uji diukur kadar asam urat darah sebagai nilai normal atau kadar awal asam urat dihari ke-0. Pada hari ke- 1 sampai hari ke- 7 diinduksi kalium oksonat 250 mg/Kg BB dan jus hati ayam 0,2 ml satu kali sehari secara oral. Selanjutnya diukur kadar asam urat darah pada hari ke-7 sebagai hiperurisemia, pada hari ke- 8 dilakukan pemberian sediaan uji untuk masing-masing kelompok. Diukur kembali kadar asam urat pada hari ke- 14, 21 dan 28 untuk melihat kadar asam urat setelah pemberian sediaan uji. Perlakuan masing-masing kelompok sebagai berikut :

1. Kelompok I (tidak diinduksi) : Kelompok kontrol, yang diberi Na-CMC 0,5% secara peroral.
2. Kelompok II (diinduksi) : Kelompok pembanding, yang diberi Allopurinol 13 mg/Kg BB secara peroral.
3. Kelompok III (diinduksi) : Diberi ekstrak daun Bidara (*Zizhipus spinachristi* L) 100 mg/Kg BB secara peroral.
4. Kelompok IV (diinduksi) : Diberi ekstrak daun Bidara (*Zizhipus spinachristi* L) 150 mg/Kg BB secara peroral.
5. Kelompok V (diinduksi) : Diberi ekstrak daun Bidara (*Zizhipus spinachristi* L) 200 mg/Kg BB secara peroral.

3.6.9 Analisis Data

Analisis data yang digunakan pada penelitian ini adalah analisis varian (ANOVA) dua arah. ANOVA ini digunakan karena pada penelitian ini menggunakan 2 variabel bebas yaitu variasi dosis dan waktu. Jika hasil yang

diperoleh signifikan ($P \leq 0,05$) maka analisa data dilanjutkan dengan uji lanjut berjarak Duncan (*Duncan New Multiple Range Test*) menggunakan SPSS 20 for Windows Evaluation.