



**UNIVERSITAS INDONESIA**

**EFEK PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL 70% UMBI  
SARANG SEMUT (*Hydnophytum moseleyanum* Becc.)  
TERHADAP KADAR ASAM URAT TIKUS PUTIH JANTAN  
YANG DIINDUKSI KALIUM OKSONAT**

**SKRIPSI**

**YISKA NATHASA  
0806453743**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
PROGRAM STUDI FARMASI  
DEPOK  
JULI 2012**



**UNIVERSITAS INDONESIA**

**EFEK PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL 70% UMBI  
SARANG SEMUT (*Hydnophytum moseleyanum* Becc.)  
TERHADAP KADAR ASAM URAT TIKUS PUTIH JANTAN  
YANG DIINDUKSI KALIUM OKSONAT**

**SKRIPSI**

**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana  
Farmasi**

**YISKA NATHASA  
0806453743**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
PROGRAM STUDI FARMASI  
DEPOK  
JULI 2012**

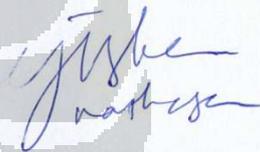
ii

## SURAT PERNYATAAN BEBAS PLAGIARISME

Saya yang bertanda tangan di bawah ini dengan sebenarnya menyatakan bahwa skripsi ini saya susun tanpa tindakan plagiarisme sesuai dengan peraturan yang berlaku di Universitas Indonesia.

Jika di kemudian hari ternyata saya melakukan tindakan plagiarisme, saya akan bertanggung jawab sepenuhnya dan bersedia menerima sanksi yang dijatuhkan oleh Universitas Indonesia.

Depok, 6 Juli 2012



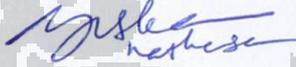
Yiska Nathasa

## HALAMAN PERNYATAAN ORISINILITAS

Skripsi ini adalah hasil karya saya sendiri dan  
semua sumber baik yang dikutip maupun dirujuk  
telah saya nyatakan dengan benar

Nama : Yiska Nathasa

NPM : 0806453743

Tanda Tangan : 

Tanggal : 6 Juli 2012

## HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh:

Nama : Yiska Nathasa  
NPM : 0806453743  
Program Studi : Farmasi  
Judul Skripsi : Efek Pemberian Ekstrak Etanol 70% Umbi Sarang Semut (*Hydnophytum moseleyanum* Becc.) Terhadap Kadar Asam Urat Tikus Putih Jantan yang Diinduksi Kalium Oksonat

Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi pada Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia.

### DEWAN PENGUJI

Pembimbing I : Santi Purna Sari, S.Si, M.Si. (.....)

Pembimbing II : Dra. Azizahwati, M.S. (.....)

Penguji I : Dra. Juheini Amin, M.Si. (.....)

Penguji II : Dr. Berna Elya, M.Si. (.....)

Ditetapkan di : Depok

Tanggal : 6 Juli 2012

## KATA PENGANTAR

Puji syukur kepada Tuhan Yang Maha Esa karena atas berkat dan rahmat-Nya, penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Penulisan skripsi yang berjudul “Efek Pemberian Ekstrak Etanol 70% Umbi Sarang Semut (*Hydnophytum moseleyanum* Becc.) Terhadap Kadar Asam Urat Tikus Putih Jantan yang Diinduksi Kalium Oksonat” ini dilakukan dalam rangka memenuhi salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi pada Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia.

Penulis menyadari bahwa tanpa bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak, sangatlah sulit bagi penulis untuk menyelesaikan skripsi ini. Oleh karena itu, penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Santi Purna Sari, S.Si., M.Si. selaku pembimbing I dan Dra. Azizahwati, M.S. selaku pembimbing II yang telah memberikan bimbingan dan pengarahan kepada penulis selama penelitian dan penyusunan skripsi.
2. Prof. Dr. Yahdiana Harahap, M.S. selaku Kepala Departemen Farmasi FMIPA UI yang telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk menyelesaikan skripsi ini.
3. Dr. Herman Suryadi, M.S. selaku pembimbing akademik yang telah membimbing penulis selama empat tahun perkuliahan di Departemen Farmasi FMIPA UI.
4. Seluruh staf pendidik, laboran, dan karyawan Departemen Farmasi FMIPA UI yang telah berperan selama perkuliahan hingga penelitian.
5. Papa, mama, kakak, dan adik yang selalu memberikan doa, nasehat serta semangat kepada penulis selama perkuliahan hingga pengerjaan penelitian dan penulisan skripsi.
6. Let. Inf. Yudhison Rianta Tarigan dan Erwin Silaen yang telah membantu dalam pengadaan bahan uji penelitian.

7. Teman-teman seperjuangan di Laboratorium Fitokimia dan Farmakologi, khususnya Jeni, Dita, dan Septi yang selalu saling mendukung dan memberi motivasi untuk tetap semangat dan menjunjung tinggi nilai kejujuran sebagai seorang peneliti. Untuk rekan sejawat dalam meneliti asam urat, Putri Wahyu dan Jaka. Terima kasih untuk kerja sama kita selama ini, berpacu dengan waktu mengejar kesempurnaan reaksi enzimatik.
8. Kepada para *housemates* : Ines, Numa, dan Tuti untuk kebersamaan kita selama ini. *Thanks for spirit, prayer, and our almost-4-year living together.*
9. Stephanie, Elita, Grace Juli, Grace Elsa dan Christine Lagonda, lima orang AKK-ku yang selalu memberikan doa, dukungan ,dan semangat.
10. Keluarga Farmasi angkatan 2008 yang selalu kompak dan semua pihak lainnya yang telah turut serta menjadi bagian dalam terselesainya perkuliahan, penelitian dan penulisan skripsi ini.

Akhir kata, penulis berharap skripsi ini dapat bermanfaat bagi kepentingan ilmu pengetahuan. Kiranya Tuhan memberkati kita semua.

Penulis,

2012

**HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI  
TUGAS AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

---

---

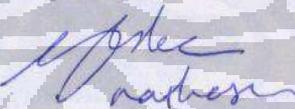
Sebagai sivitas akademik Universitas Indonesia, saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Yiska Nathasa  
NPM : 0806453743  
Program Studi : Farmasi  
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Jenis karya : Skripsi

demikian demi pembangunan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Indonesia Hak Bebas Royalti Noneksklusif (*Non-exclusive Royalty-Free Right*) atas karya ilmiah saya yang berjudul: "Efek Pemberian Ekstrak Etanol 70% Umbi Sarang Semut (*Hydnophytum moseleyanum* Becc.) Terhadap Kadar Asam Urat Tikus Putih Jantan yang Diinduksi Kalium Oksonat" beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini, Universitas Indonesia berhak menyimpan, mengalihmedia/format-kan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat, dan memublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Depok  
Pada tanggal : 6 Juli 2012  
Yang menyatakan,



(Yiska Nathasa)

## ABSTRAK

Nama : Yiska Nathasa  
Program Studi : Farmasi  
Judul : Efek Pemberian Ekstrak Etanol 70% Umbi Sarang Semut Terhadap Kadar Asam Urat Tikus Putih Jantan yang Diinduksi Kalium Oksonat

Gout atau pirai merupakan penyakit metabolik yang disebabkan oleh kadar asam urat yang tinggi dalam darah. Terkait kandungan flavonoid yang dimilikinya, tanaman sarang semut diduga dapat menurunkan kadar asam urat dalam darah. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek pemberian ekstrak etanol 70% umbi sarang semut (*Hydnophytum moseleyanum* Becc.) terhadap kadar asam urat tikus putih jantan yang diinduksi kalium oksonat. Sebanyak 30 ekor tikus putih jantan galur *Sprague Dawley* dengan berat 150-200 gram dibagi secara acak ke dalam enam kelompok. Digunakan tiga variasi dosis ekstrak sarang semut, yaitu : 119, 179, dan 267 mg/200 g bb. Alopurinol 36 mg/200 g bb digunakan sebagai pembandingan sedangkan kelompok normal dan kelompok induksi diberikan plasebo larutan CMC 0,5%. Pemberian sediaan uji dilakukan secara oral selama 8 hari. Pada hari ke-8 dilakukan induksi secara intraperitoneal dengan kalium oksonat 50 mg/200 g bb kepada semua kelompok perlakuan kecuali kelompok normal. Setiap sediaan uji dibuat dalam bentuk tersuspensi dalam CMC 0,5%. Pengukuran kadar asam urat dalam plasma dilakukan secara kolorimetri enzimatik menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 520 nm. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol 70% umbi sarang semut (*Hydnophytum moseleyanum* Becc.) pada dosis 119 dan 179 mg/200 g bb dapat menurunkan kadar asam urat ( $p < 0,05$ ) dengan efektivitas masing-masing 58,59 dan 46,37%.

Kata kunci : asam urat, gout, hiperurisemia, *Hydnophytum moseleyanum* Becc., kalium oksonat, sarang semut.  
xv+ 74 halaman : 19 gambar; 11 tabel; 15 lampiran  
Daftar acuan : 53 (1995-2012)

## ABSTRACT

Name : Yiska Nathasa  
Programm Study : Pharmacy  
Title : The Effect of 70% Ethanolic Extract of Ant-Plants (*Hydnophytum moseleyanum* Becc.) on Plasma Uric Acid Level in Potassium Oxonate Induced Male Rats

Gout is a metabolic disease caused by high uric acid level in blood plasma. The aim of this research was to determine the effect of ant-plants (*Hydnophytum moseleyanum* Becc.) on plasma uric acid level in potassium oxonate induced male rats. Thirty white male rats from *Sprague Dawley* strain were randomly divided into six groups. Each group received oral administration of test material once a day for eight days. There were three doses variation of extract tested: 119, 179, and 267 mg/200 g bw suspended in CMC 0,5%. Alopurinol 36 mg/200 g bw was used as a comparison while placebo of CMC 0,5% was used in normal and potassium oxonate induced control groups. In eighth day, all group except the normal ones were given an intraperitoneal administration of potassium oxonate 50 mg/200 g bw suspended in CMC 0,5% an hour before the last oral administration of every test material followed by blood collecting in the next one hour. Plasma uric acid level was analyzed using colorimetric-enzymatic method with uricase at 520 nm wavelength. The result showed that 70% ethanolic extract of ant-plants (*Hydnophytum moseleyanum* Becc.) at dose 119 and 179 mg/200 g bw were significantly ( $p < 0,05$ ) reducing plasma uric acid level in potassium oxonate induced male rats with efficiency 58.59 and 46.37% respectively.

Keywords : ant-plants, gout, *Hydnophytum moseleyanum* Becc., hyperuricemic, potassium oxonate, uric acid.

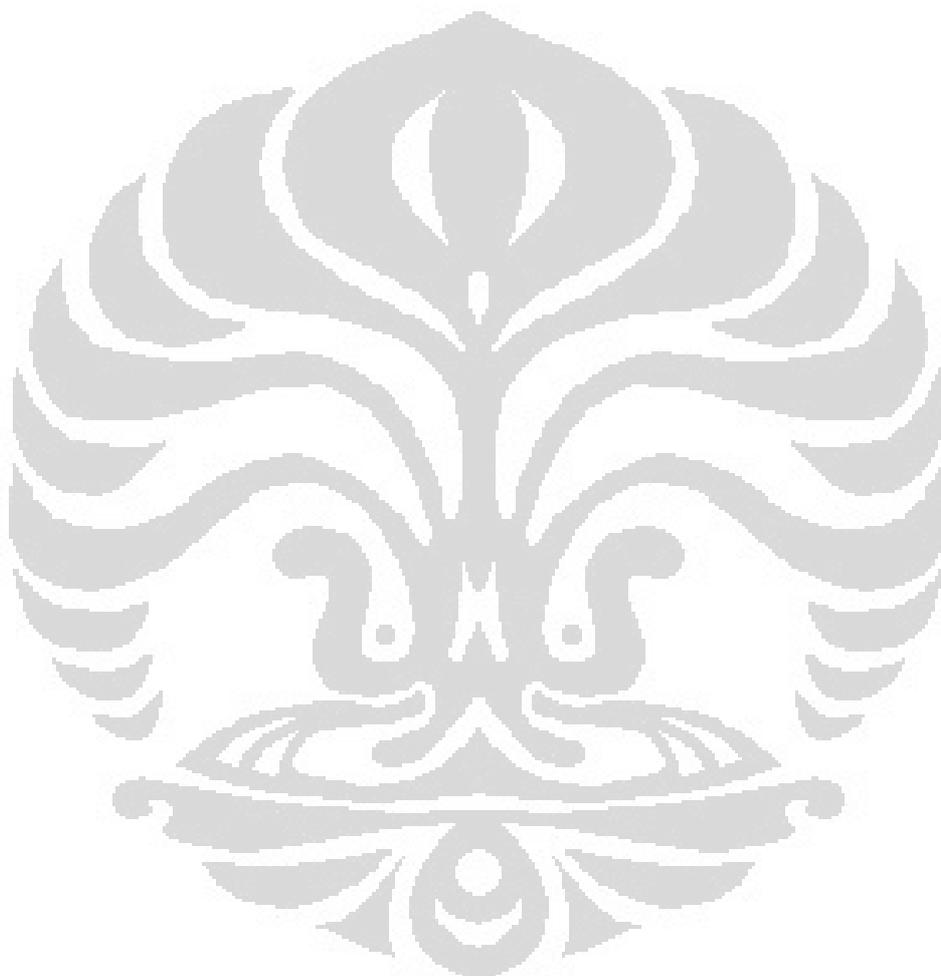
xv+ 74 pages : 19 pictures; 11 tables; 15 appendices

References : 53 (1995-2012)

## DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL .....	ii
SURAT PERNYATAAN BEBAS PLAGIARISME.....	iii
LEMBAR PERNYATAAN ORISINILITAS .....	iv
LEMBAR PENGESAHAN .....	v
KATA PENGANTAR .....	vi
LEMBAR PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH .....	viii
ABSTRAK .....	ix
ABSTRACT.....	x
DAFTAR ISI .....	xi
DAFTAR GAMBAR .....	xiii
DAFTAR TABEL.....	xiv
DAFTAR LAMPIRAN .....	xv
<b>1. PENDAHULUAN.....</b>	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah dan Ruang Lingkup Penelitian .....	2
1.3 Jenis dan Metode Penelitian.....	3
1.4 Tujuan Penelitian .....	3
1.5 Hipotesis .....	3
<b>2. TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>4</b>
2.1 Tanaman Sarang Semut ( <i>Hydnophytum moseleyanum</i> Becc.).....	4
2.2 Asam Urat .....	7
2.3 Hiperurisemia.....	8
2.4 Gout.....	9
2.5 Obat Antihiperurisemia.....	10
2.6 Penginduksi Hiperurisemia.....	11
2.7 Metode Pengukuran Asam Urat.....	12
2.8 Teknologi Ekstraksi .....	13
2.9 Penapisan Fitokimia.....	17
2.10 Standardisasi Ekstrak.....	18
<b>3. METODE PENELITIAN .....</b>	<b>20</b>
3.1 Lokasi dan Waktu penelitian.....	20
3.2 Alat.....	20
3.3 Bahan .....	20
3.4 Penyiapan Ekstrak Uji.....	21
3.5 Penapisan Fitokimia Ekstrak Sarang Semut .....	22
3.6 Standardisasi Ekstrak Sarang Semut.....	24
3.7 Uji Aktivitas Ekstrak Sarang Semut .....	27
3.8 Uji Statistik .....	32

<b>4. HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>33</b>
4.1 Proses Penyiapan Ekstrak Sarang Semut.....	33
4.2 Penapisan Fitokimia Ekstrak Sarang Semut .....	34
4.3 Standardisasi Ekstrak Sarang Semut.....	35
4.4 Uji Aktivitas Ekstrak Sarang Semut .....	36
<b>5. KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>45</b>
5.1 Kesimpulan .....	45
5.2 Saran .....	45
<b>DAFTAR ACUAN.....</b>	<b>46</b>

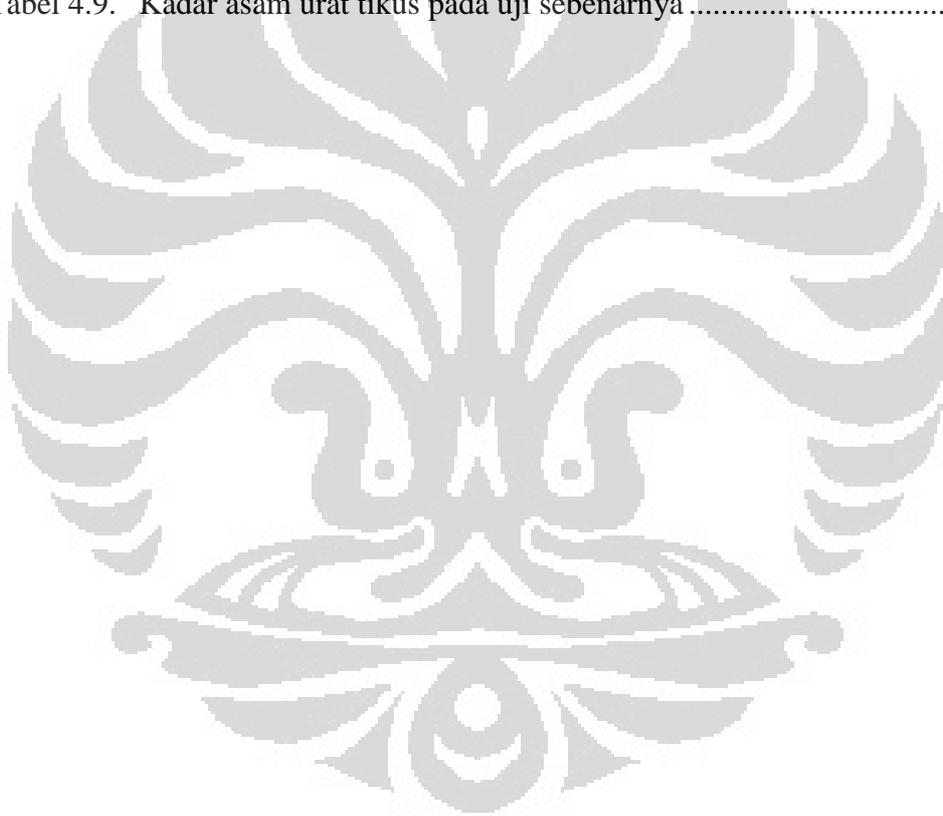


## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1.	Metabolisme purin menjadi asam urat .....	50
Gambar 2.2.	Mekanisme kerja alopurinol.....	51
Gambar 2.3.	Metabolisme asam urat menjadi allantoin.....	51
Gambar 2.4.	Mekanisme kerja kalium oksonat dalam menghambat urikase ...	51
Gambar 3.1.	Tanaman sarang semut ( <i>Hydnophytum moseleyanum</i> Becc.).....	52
Gambar 4.1.	Ekstrak etanol 70% umbi sarang semut ( <i>Hydnophytum moseleyanum</i> Becc.).....	52
Gambar 4.2.	Hasil identifikasi fenol dengan larutan besi (III) klorida.....	53
Gambar 4.3.	Hasil identifikasi flavonoid.....	53
Gambar 4.4.	Hasil identifikasi tanin dengan gelatin.....	54
Gambar 4.5.	Hasil identifikasi saponin dengan uji busa .....	54
Gambar 4.6.	Hasil identifikasi alkaloid .....	55
Gambar 4.7.	Hasil identifikasi terpen (Reaksi Liebermann Burchard) .....	55
Gambar 4.8.	Hasil identifikasi karbohidrat (Reaksi Molisch).....	56
Gambar 4.9.	Hasil identifikasi glikosida antrakinon (Test Borntrager termodifikasi).....	56
Gambar 4.10.	Spektrum serapan standar asam galat 500 ppm.....	57
Gambar 4.11.	Kurva kalibrasi standar asam galat pada berbagai konsentrasi ...	57
Gambar 4.12.	Kadar asam urat rata-rata pada setiap kelompok perlakuan pada hari kedelapan .....	40
Gambar 4.13.	Persentase penurunan kadar asam urat kelompok perlakuan terhadap kelompok normal .....	41
Gambar 4.14.	Efektivitas penurunan kadar asam urat kelompok dosis ekstrak terhadap kelompok alopurinol sebagai pembanding.....	41

## DAFTAR TABEL

Tabel 3.1. Perlakuan hewan coba pada uji pendahuluan.....	28
Tabel 3.2. Perlakuan hewan coba pada penelitian sebenarnya.....	30
Tabel 4.1. Rendemen ekstrak sarang semut .....	58
Tabel 4.2. Penapisan fitokimia ekstrak sarang semut .....	58
Tabel 4.3. Susut pengeringan ekstrak sarang semut.....	59
Tabel 4.4. Kadar abu total dalam ekstrak sarang semut.....	59
Tabel 4.5. Kadar abu yang tidak larut asam dalam ekstrak sarang semut.....	59
Tabel 4.6. Kadar total fenolat ekstrak dalam sarang semut.....	59
Tabel 4.7. Kadar asam urat tikus pada optimasi dosis kalium oksonat.....	60
Tabel 4.8. Kadar asam urat tikus pada optimasi dosis ekstrak.....	61
Tabel 4.9. Kadar asam urat tikus pada uji sebenarnya .....	62



## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1.	Data Determinasi Tanaman Sarang Semut.....	63
Lampiran 2.	Sertifikat Tikus Galur <i>Sprague Dawley</i> .....	64
Lampiran 3.	Sertifikat Analisis Alopurinol.....	65
Lampiran 4.	Komposisi Pereaksi Asam Urat (Randox <sup>®</sup> ).....	66
Lampiran 5.	Perhitungan Susut Pengeringan Ekstrak Sarang Semut .....	66
Lampiran 6.	Perhitungan Kadar Abu Total Dalam Ekstrak Sarang Semut .....	67
Lampiran 7.	Perhitungan Kadar Abu Tidak Larut Asam Dalam Ekstrak Sarang Semut.....	67
Lampiran 8.	Perhitungan Kadar Total Fenolat Dalam Ekstrak Sarang Semut .....	68
Lampiran 9.	Penetapan Dosis Alopurinol.....	68
Lampiran 10.	Penetapan Dosis Ekstrak Umbi Sarang Semut.....	69
Lampiran 11.	Pembuatan Sediaan Uji.....	70
Lampiran 12.	Perhitungan Persentase Penurunan Kadar Asam Urat Kelompok Perlakuan Terhadap Kelompok Normal.....	71
Lampiran 13.	Perhitungan Efektivitas Penurunan Kadar Asam Urat Kelompok Dosis Ekstrak Terhadap Kelompok Alopurinol Sebagai Pembanding.....	72
Lampiran 14.	Uji Kenormalan, Homogenitas, dan <i>Kruskal-Walis</i> Terhadap Data Kadar Asam Urat Setiap Kelompok Perlakuan .....	73
Lampiran 15.	Uji Statistik <i>Mann-Whitney</i> Terhadap Kadar Asam Urat Antar Setiap Kelompok Perlakuan .....	74

# BAB 1

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Hiperurisemia adalah suatu kondisi yang ditandai dengan meningkatnya kadar asam urat dalam darah. Konsentrasi asam urat yang lebih besar atau sama dengan 6,8 mg/dL pada pria dan 6 mg/dL pada wanita adalah tidak normal dan berkaitan dengan peningkatan resiko gout. Penyakit gout atau pirai adalah sindroma klinis yang ditandai dengan adanya serangan berulang dari peradangan sendi akut, dapat disertai dengan pembentukan tofi, kerusakan sendi secara kronis, dan cedera pada ginjal (Hawkins & Rahn, 2005). Berdasarkan survey yang dilakukan pada ras Malayo-Polynesias termasuk di Indonesia, rasa sakit yang menyiksa akibat penyakit ini merupakan salah satu penyebab mayor dari penurunan kualitas hidup pasien (Darmawan, Rasker, & Nuralim, 2003; Kenneth & Hyon, 2006).

Salah satu cara mengatasi penyakit gout adalah mengatasi masalah hiperurisemia yang dapat dilakukan dengan menurunkan produksi asam urat selain meningkatkan ekskresinya melalui urin. Sampai saat ini, alopurinol adalah satu-satunya obat konvensional yang digunakan untuk menurunkan produksi asam urat dengan mekanisme kerja menginhibisi xantin oksidase, suatu enzim yang berperan dalam metabolisme purin menjadi asam urat (Murray, Granner, Mayes, & Rodwell, 2003; Poon, Hall, Harald, Zimmermann, & Bernard, 2009). Penggunaan obat ini dapat menimbulkan reaksi alergi ringan hingga berat, gangguan saluran cerna serta bersifat toksik bagi hati dan ginjal (Wilmana & Gunawan, 2007). Pemakaian alopurinol juga rentan menimbulkan interaksi dengan obat-obat tertentu seperti karbamazepin, siklosporin, dan warfarin jika digunakan bersamaan. Hal ini terkait potensinya dalam meningkatkan toksisitas obat-obat tersebut (Stockley, 2010). Oleh karena efek samping yang dimilikinya, masyarakat mulai tertarik menggunakan obat herbal disamping obat-obat konvensional untuk mengatasi keluhan asam urat (Kertia, N., 2009).

Tanaman sarang semut merupakan tanaman yang secara empiris maupun secara ilmiah telah dibuktikan mampu menurunkan respon inflamasi (Kristina, 2008), bersifat toksik terhadap sel kanker (Soeksmanto, Subroto, Wijaya, & Simanjuntak, 2010), dan meningkatkan sistem imun (Hendarsula, 2011). Terkait potensinya dalam mengatasi keluhan penyakit asam urat, pada tahun 2006 secara *in vitro* telah dibuktikan adanya aktivitas inhibisi xantin oksidase setara alopurinol oleh ekstrak metanol umbi sarang semut jenis *Myrmecodia pendens* Merr. & Perry. Kemampuan tanaman ini untuk mengobati berbagai penyakit diduga terkait dengan kandungan senyawa flavonoid yang berada di dalamnya (Saputro & Subroto, 2008). Pada tahun 2010, telah berhasil dilakukan isolasi senyawa MPBU-1-1 yang paling aktif menghambat xantin oksidase ( $IC_{50} = 0,3$  ppm) dari fraksi butanol ekstrak tanaman ini (Simanjuntak, Fanny, & Subroto, 2010).

Tanaman sarang semut merupakan tanaman yang termasuk dalam suku Rubiaceae dan terdiri dari 5 kelompok marga. Akan tetapi, hanya 2 marga tanaman sarang semut, yakni *Myrmecodia* dan *Hydnophytum* yang memiliki asosiasi paling dekat terkait simbiosisnya dengan kelompok jenis semut yang sama yaitu *Ochetellus sp.* (Jebb, 2009; Plummer, 2000). Kekekabatan yang dekat ini memungkinkan adanya kesamaan kandungan senyawa kimia dan aktivitas farmakologis (Hegnauer, n.d.). *Hydnophytum moseleyanum* Becc. merupakan spesies yang banyak ditemukan dan diperdagangkan sebagai tanaman obat di daerah Kerom (Papua). Hal ini mendorong peneliti untuk menguji aktivitas antihiperurisemia dari tanaman ini.

## 1.2 Rumusan Masalah dan Ruang Lingkup penelitian

Rumusan masalah dalam penelitian ini adalah apakah pemberian ekstrak etanol 70% umbi sarang semut (*Hydnophytum moseleyanum* Becc.) dapat berefek pada kadar asam urat tikus putih jantan yang diinduksi kalium oksonat. Ruang lingkup penelitian ini mencakup bidang ilmu Farmakologi dan Fitokimia.

### 1.3 Jenis dan Metode Penelitian

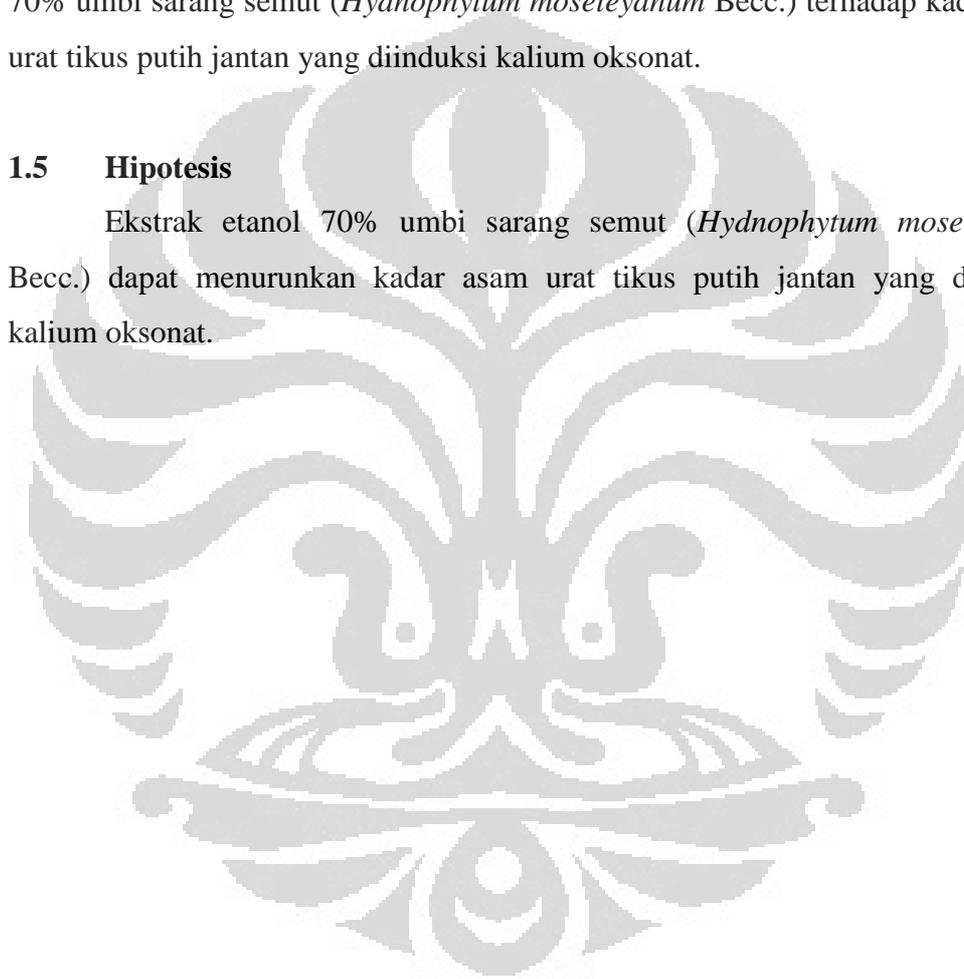
Penelitian bersifat eksperimental menggunakan ekstrak tanaman yang akan diujikan pada hewan coba model hiperurisemia. Ekstrak yang didapatkan kemudian distandardisasi secara fitokimia.

### 1.4 Tujuan Penelitian

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui efek pemberian ekstrak etanol 70% umbi sarang semut (*Hydnophytum moseleyanum* Becc.) terhadap kadar asam urat tikus putih jantan yang diinduksi kalium oksonat.

### 1.5 Hipotesis

Ekstrak etanol 70% umbi sarang semut (*Hydnophytum moseleyanum* Becc.) dapat menurunkan kadar asam urat tikus putih jantan yang diinduksi kalium oksonat.



## BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Tanaman Sarang Semut (*Hydnophytum moseleyanum* Becc.)

#### 2.1.1 Klasifikasi

Berikut ini adalah klasifikasi dari tanaman sarang semut *Hydnophytum moseleyanum* Becc. :

Dunia : Plantae

Divisi : Magnoliophyta

Kelas : Magnoliophyta

Bangsa: Rubiales

Suku : Rubiaceae

Marga : *Hydnophytum*

Jenis : *Hydnophytum moseleyanum* Becc.

(The International Plant Name Index, 2004)

#### 2.1.2 Nama Daerah dan Nama Asing Tanaman Sarang Semut

Papua : lokon, suhendep, nongon

Jawa : urek-urek pulo

Malaysia : rumah semut

Filipina : banghai

Thailand : hua roi

(Manoi & Ferry, 2008)

#### 2.1.3 Ekologi

*Hydnophytum moseleyanum* Becc. adalah salah satu jenis tanaman sarang semut dari suku Rubiaceae yang secara epifit hidup menempel pada pohon besar dengan tinggi sekitar 8 meter sebagai inangnya. Berikut ini adalah beberapa jenis pohon yang sering dijadikan inang bagi tanaman epifit sarang semut: pohon kayu putih (*Melaleuca*), pohon cemara gunung (*Casuarina*), pohon kaha (*Castanopsis*) dan pohon *beech* (*Nothofagus*). Kelompok marga *Hydnophytum* tersebar di

Malaysia, Indonesia, Filipina, Thailand, dan Kamboja serta benua Australia (Plummer, 2000).

Khusus di Indonesia, tanaman sarang semut ditemukan terutama di propinsi Papua dengan ketinggian 1100-2500 di atas permukaan laut, yakni di hutan hujan tropis Kabupaten Jayawijaya, Kabupaten Tolikara, Kabupaten Puncak Jaya, dan Kabupaten Paniai. Keanekaragaman terbesar dari tanaman sarang semut ditemukan di Papua dimana spesies dataran tingginya adalah lokal spesifik. Selain itu, tanaman sarang semut juga ditemukan di Jawa, Kalimantan, Sulawesi dan Ambon namun dengan varietas yang berbeda. (Manoi & Ferry, 2008).

Sampai saat ini, hanya 2 kelompok marga tanaman sarang semut, yakni *Hydnophytum* dan *Myrmecodia* yang telah terbukti berkhasiat sebagai obat. Terdapat 45 spesies dari marga *Hydnophytum*, antara lain: *Hydnophytum formicarum* dan *Hydnophytum moseleyanum*. Disamping itu, marga *Myrmecodia* memiliki sekitar 26 spesies, antara lain: *Myrmecodia tuberosa*, *Myrmecodia pendens*, *Myrmecodia oblongata*, *Myrmecodia brasii*, *Myrmecodia archboldiana*, dan lain-lain (Lok & Tan, 2009; Plummer, 2000).

#### 2.1.4 Deskripsi Tanaman

Pada umumnya, tanaman sarang semut hanya memiliki satu batang yang jarang bercabang serta mempunyai ruas yang tebal dan pendek. Pada ujung tanaman ini terdapat daun yang tebal. Batang bagian bawahnya secara progresif menggelembung membentuk umbi atau hipokotil (*caudex*). Tanaman sarang semut mulai berbunga pada saat terbentuk beberapa ruas (*internodal*) pada batangnya. Sarang semut adalah tanaman yang melakukan penyerbukan sendiri dengan bunga berwarna putih dan buah matang yang berwarna merah atau jingga. Sarang semut termasuk tanaman sukulen yang dapat menyimpan air dalam jaringannya sehingga cukup toleran terhadap kekeringan (Alam & Waluyo, 2006).

Bagian tumbuhan yang digunakan sebagai obat adalah bagian daging umbi/hipokotil (*caudex*) yang dapat berbentuk bulat, memanjang bahkan tidak beraturan. Umbi sarang semut rata-rata berdiameter 25 cm dan tinggi 45 cm dengan permukaan bertekstur untuk melindunginya dari herbivora. Dalam umbi sarang semut terdapat labirin yang dihuni oleh semut dan cendawan. Keunikan

tanaman ini terletak pada koloni semut yang bersarang pada umbi sehingga terbentuk labirin atau lorong-lorong di dalamnya. Di habitat aslinya, tanaman sarang semut dihuni oleh beragam jenis semut terutama *Ochetellus sp.* Kestabilan suhu yang ada di dalam umbi membuat koloni semut bersarang di dalam umbi tersebut. Dalam jangka waktu yang lama terjadi reaksi kimiawi secara alami antara senyawa yang dikeluarkan semut dengan zat yang terkandung dalam tanaman sarang semut. Perpaduan inilah yang diduga membuat sarang semut memiliki kemampuan mengatasi berbagai jenis penyakit (Subroto & Saputro, 2008; Manoi & Ferry, 2008).

Jika dibandingkan dengan kerabatnya dari marga Myrmecodia, secara khusus *Hydnophytum moseleyanum* Becc. memiliki permukaan umbi yang relatif lebih halus, batang berukuran yang lebih kecil dengan jarak *internodus* yang lebih jauh (biasanya sekitar 1 inchi) serta daun yang kecil. Pada permukaan bagian bawah umbi terdapat beberapa lubang kecil sebagai akses masuknya semut ke dalam tanaman. *Hydnophytum moseleyanum* Becc. memiliki percabangan yang lebih banyak dengan daun berbentuk oval hingga lanset yang bersifat sukulen (Plummer, 2000; Brethauer, n.d.).

#### 2.1.5 Kandungan Kimia dan Manfaat

Flavonoid merupakan golongan senyawa bahan alam yang termasuk dalam kelompok senyawa fenolik. Saat ini terdapat lebih dari 6.000 senyawa berbeda yang termasuk dalam golongan flavonoid. Flavonoid merupakan bagian penting dari diet manusia yang berfungsi sebagai antioksidan, pelindung struktur sel, memiliki hubungan yang sinergis dengan vitamin C, memiliki potensi aktivitas antiinflamasi bahkan ada jenis flavonoid yang bersifat antibakteri. Fungsi flavonoid sebagai antivirus telah banyak dipublikasikan, termasuk untuk virus HIV dan herpes. Selain itu, flavonoid juga dilaporkan berperan dalam pencegahan dan pengobatan beberapa penyakit seperti asma, katarak, diabetes, rematik, migren dan wasir. Penelitian-penelitian terkini juga telah mengungkap fungsi flavonoid yang tidak hanya dapat mencegah bahkan dapat dijadikan obat kanker. Kemampuan tanaman sarang semut secara empiris untuk pengobatan berbagai

jenis kanker/tumor, TBC dan encok/rematik diduga kuat berkaitan dengan kandungan flavonoid yang terdapat di dalamnya.

Pada tahun 2006, Dr. Akham Subroto menemukan adanya aktivitas penghambatan aktivitas xantin oksidase setara alopurinol oleh ekstrak metanol umbi sarang semut jenis *Myrmecodia pendens* Merr. & Perry. Penelitian tersebut dikembangkan pada tahun 2010 sehingga telah didapatkan isolat senyawa MPBU-1-1 yang paling aktif menghambat xantin oksidase ( $IC_{50} = 0,3$  ppm) dari fraksi butanol ekstrak tanaman ini (Subroto & Saputro, 2008; Simanjuntak, Fanny, & Subroto, 2010). Akan tetapi, pengujian kandungan kimia untuk sarang semut jenis *Hydnophytum moseleyanum* Becc. belum dilakukan.

## 2.2 Asam Urat

Asam urat merupakan produk akhir katabolisme senyawa purin dalam tubuh yang tidak memiliki fungsi fisiologis sehingga dapat dianggap sebagai produk buangan (Katzung, Masters, & Trevor, 2009). Asam urat dalam tubuh dapat dibedakan menjadi dua, yaitu asam urat endogen dan asam urat eksogen. Asam urat endogen berasal dari perusakan jaringan dan purin sedangkan asam urat eksogen berasal dari metabolisme makanan yang mengandung senyawa purin (Murray, Granner, Mayes, & Rodwell, 2003).

Nukleotida purin yang utama pada manusia adalah adenosin monofosfat (AMP) dan guanosis monofosfat (GMP). Kedua nukleotida tersebut akan dipecah menjadi bentuk nukleosida oleh fosfomonoesterase menjadi adenosin dan guanosis. Adenosin akan mengalami deaminasi menjadi inosin oleh enzim adenosin deaminase. Fosforilasi ikatan N-glikosinat inosin dengan guanosis dikatalisis oleh nukleotida purin fosforilase sehingga akan dilepaskan senyawa ribosa-1-fosfat dan basa purin. Setelah itu, hipoxantin dan guanin membentuk xantin yang masing-masing dikatalisis oleh enzim xantin oksidase dan guanase. Xantin yang terbentuk akan kembali dikatalisis oleh xantin oksidase menjadi asam urat (Murray, Granner, Mayes, & Rodwell, 2003). Gambar 2.1 secara terperinci menjelaskan metabolisme senyawa purin menjadi asam urat.

Metabolisme purin sangat dipengaruhi oleh beberapa sistem enzim sehingga abnormalitas enzim dapat menyebabkan gangguan produksi asam urat. Berikut ini adalah beberapa abnormalitas enzim yang mungkin terjadi (Hawkins & Rahn, 2005) :

- a. Peningkatan aktivitas fosforibosil pirofosfat sintase akan menyebabkan peningkatan fosforibosil pirofosfat yang merupakan kunci sintesa purin.
- b. Defisiensi hipoxantin guanin fosforibosil transferase akan meningkatkan metabolisme guanin dan hipoxantin menjadi xantin

Asam urat pada serum manusia normal berkisar antara 3-6 mg/dL dan dapat mengalami peningkatan mencapai 10 mg/dL pada seseorang dengan keadaan gout (Price & Wilson, 2006). Asam urat yang terbentuk setiap hari dibuang melalui saluran pencernaan dan ginjal. Dalam keadaan normal, asupan purin berlebih masih dapat diekskresikan melalui ginjal akan tetapi pada 75-90% pasien gout, klirens asam urat sangat menurun (Wood, 1999).

### 2.3 Hiperurisemia (Harris, Siegel, & Alloway, 1999)

Terminologi hiperurisemia diperuntukkan untuk menggambarkan suatu kondisi yang ditandai dengan peningkatan kadar asam urat dalam darah. Berikut ini adalah beberapa hal yang dapat meningkatkan kadar asam urat dalam darah serta merupakan faktor risiko terjadinya hiperurisemia:

- a. Peningkatan produksi asam urat  
Hal ini dapat terjadi secara idiopatik atau disebabkan oleh asupan makanan kaya purin, obesitas, alkoholisme, *paget's disease* dan proses hemolitik.
- b. Penurunan ekskresi asam urat  
Sebagian besar penyebab hiperurisemia adalah penurunan ekskresi asam urat. Hal ini dapat terjadi secara idiopatik atau disebabkan oleh insufisiensi ginjal, diabetes insipidus, hipertensi, asidosis, penggunaan obat-obat seperti salisilat, levodopa, etambutol dan pirazinamid.
- c. Kombinasi antara kedua hal di atas  
Peningkatan produksi dan penurunan ekskresi asam urat dapat terjadi pada kondisi insufisiensi ginjal akibat konsumsi alkohol.

Berdasarkan penyebabnya, kondisi hiperurisemia dapat dikelompokkan menjadi dua yaitu hiperurisemia primer dan sekunder :

- a. Hiperurisemia primer terjadi secara idiopatik bukan disebabkan oleh adanya penyakit atau penyebab lain.
- b. Hiperurisemia sekunder terjadi akibat penyakit atau penyebab lain, seperti karsinoma, sarkoma, anemia hemolitik kronis, penyakit ginjal kronis, penggunaan obat (agen sitotoksik, tiazid, probenesid), kondisi hiperlaktiasidemia (laktoasidosis), hiperketoasidosis (diabetes ketoasidosis), diabetes insipidus (vasopresin-resisten), sindrom *Berrter's*.

## 2.4 Gout

Penyakit gout atau pirai merupakan penyakit metabolik yang secara klinis ditandai dengan adanya serangan berulang dari peradangan sendi akut, dapat disertai dengan pembentukan tofi, kerusakan sendi secara kronis, dan cedera pada ginjal (Hawkins & Rahwn, 2005). Kondisi hiperurisemia yang berkepanjangan dapat menimbulkan manifestasi penyakit gout atau pirai. Hal ini disebabkan oleh penimbunan kristal mononatrium urat pada cairan sinovial sendi dan jaringan.

Penyakit gout terkadang dapat langsung ditegakkan berdasarkan riwayat penyakit yang khas (Harris, Siegel, & Alloway, 1999), yaitu :

- a. Artritis gout akut

Gout akut dikarakterisasi oleh rasa sakit dengan onset singkat, eritema dan bengkak serta pembatasan gerak sendi. Kejadian gout akut paling sering terjadi pada usia 30 hingga 50 tahun dengan hampir 90% serangan pertama terjadi monoartikular (menyerang satu sendi saja). Persendian *metatarsophalangeal* merupakan persendian pertama yang biasanya diserang oleh penyakit ini.

- b. Gout interkritikal

Fase ini terjadi setelah penyembuhan dari gout akut dimana pasien mengalami fase tanpa gejala. Selama fase interkritikal, pasien dan petugas kesehatan dapat menelusuri penyebab hiperurisemia seperti penggunaan diuretik atau diet yang kaya purin. Pasien harus diberikan edukasi terkait pola hidup yang sehat.

c. Arthritis gout yang berulang

Frekuensi serangan akut dari gout biasanya meningkat seiring berjalannya waktu. Hampir 60% pasien mengalami serangan kedua dalam waktu 1 tahun setelah mengalami serangan pertama. Hanya 7% pasien yang tidak mengalami serangan berulang selama periode waktu 10 tahun. Serangan mulai terjadi pada lebih dari satu persendian (poliartikular) dengan disertai munculnya tofi. Pemeriksaan cairan sinovial menjadi penting untuk mengidentifikasi penimbunan kristal monosodium urat.

d. Gout kronis dengan tofi

Tofi adalah kondisi patologis berupa penimbunan kristal mononatrium urat pada jaringan dengan karakteristik seperti benjolan di bawah kulit yang bening misalnya pada jaringan kartilago di telinga atau persendian tangan dan kaki. Tofi biasanya muncul pada kurun waktu sekitar 10 tahun setelah serangan gout pertama. Laju penimbunan urat dan laju pembentukan tofi sangat berkorelasi dengan keparahan hiperurisemia dengan kadar asam urat lebih dari 9,0 mg/dL. Tofi dengan hiperurisemia yang tidak terkontrol akan bertambah besar dan berkembang menjadi deformitas dan disfungsi persendian.

## 2.5 Obat Antihiperurisemia

Berikut ini adalah golongan obat-obat yang digunakan untuk mengatasi kondisi hiperurisemia (Katzung, Masters, & Trevor, 2009; Price & Wilson, 2006; Wilmana & Gunawan, 2007):

- a. Golongan urikosurik, yaitu golongan obat yang dapat meningkatkan ekskresi asam urat. Obat-obat golongan ini bekerja dengan cara menghambat reabsorpsi asam urat di tubulus ginjal sehingga terjadi peningkatan ekskresi asam urat melalui urin. Oleh karena itu, fungsi ginjal yang baik sangat mendukung mekanisme kerja obat golongan ini. Probenesid dan sulfinpirazon adalah contoh obat golongan urikosurik. Pasien yang menggunakan golongan obat ini memerlukan asupan cairan minimal 1500 mL/hari untuk meningkatkan ekskresi asam urat.

b. Golongan urikostatik, yaitu golongan obat yang dapat menghambat pembentukan asam urat. Obat golongan ini bekerja dengan menghambat aktivitas xantin oksidase yang berperan dalam metabolisme hipoxantin menjadi xantin dan xantin menjadi asam urat (Gambar 2.2). Berdasarkan mekanisme tersebut, produksi asam urat akan berkurang dengan peningkatan xantin dan hipoxantin yang kemudian akan dibuang melalui ginjal. Selain mengurangi produksi asam urat, obat golongan ini juga mengurangi konsentrasi asam urat di urin, mencegah terbentuknya batu natrium nitrat dan dapat mengecilkan tofi (deposit urat). Alopurinol adalah satu-satunya obat golongan urikostatik yang digunakan sampai saat ini.

## 2.6 Penginduksi Hiperurisemia

Kalium oksonat adalah garam kalium dari asam oksonat dengan bobot molekul 195,18. Kalium oksonat merupakan inhibitor urikase atau urat oksidase yang mengkatalisis reaksi perubahan asam urat menjadi allantoin (Gambar 2.3). Enzim ini tidak terdapat pada manusia namun terdapat pada mamalia dengan tingkatan lebih rendah seperti tikus. Adanya urikase membuat asam urat bukanlah produk akhir metabolisme purin seperti pada manusia (Watanabe, Kimura, Shindo, & Fukui, 2006).

Pemberian kalium oksonat dengan dosis 50 mg/200 g bb secara intraperitoneal dapat dengan cepat menimbulkan hiperurisemia pada tikus. Kadar asam urat tertinggi didapatkan pada 2 jam pasca induksi dan kondisi hiperurisemia ini akan menurun hingga akhirnya mencapai kondisi normal dalam waktu 24 jam (Huang, *et al.*, 2008). Gambar 2.4 menjelaskan mekanisme peningkatan kadar asam urat dalam darah oleh kalium oksonat.

Kondisi hiperurisemia juga dapat dicapai dengan pemberian urea atau makanan yang kaya purin seperti jus hati ayam atau melinjo. Namun, adanya urikase pada hewan coba tikus membuat pemberian bahan-bahan tersebut kurang efektif dalam meningkatkan kadar asam urat dalam darah. Terlebih lagi kadar purin dalam makanan tersebut tidak dapat dipastikan selalu konstan pada setiap kali pemberian. Dengan demikian, kalium oksonat dianggap sebagai penginduksi

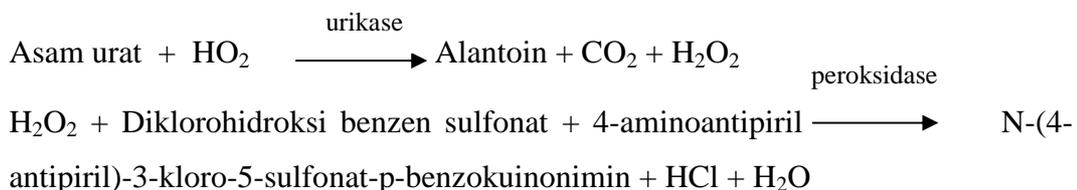
hiperurisemia yang paling tepat digunakan pada hewan coba tikus dibandingkan bahan-bahan lainnya.

## 2.7 Metode Pengukuran Asam Urat (Jelkic, Milena, & Djurdjevic, 2003; Ham, *et al.*, 2008)

Pengukuran kadar asam urat dalam cairan biologis seperti darah atau urin dapat dilakukan dengan menggunakan beberapa metode, antara lain: metode reduksi asam fosfotungstat, metode enzimatis dengan urikase, metode kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT), dan yang paling baru menggunakan metode kromatografi cair dengan spektrum massa (KC-SM).

Pada metode reduksi asam fosfotungstat, terjadi reduksi asam fosfotungstat menjadi *tungsten blue* yang akan mengoksidasi asam urat menjadi alantoin dan karbon dioksida. *Tungsten blue* yang terbentuk diukur pada panjang gelombang 700 nm. Metode ini adalah metode analisis asam urat dalam darah yang pertama kali ditemukan namun kurang spesifik sehingga sudah mulai ditinggalkan.

Pada perkembangan selanjutnya, metode enzimatis dengan urikase mulai digunakan untuk meningkatkan kepekaan dalam analisis kadar asam urat. Pada metode ini, asam urat dioksidasi menjadi alantoin, hidrogen peroksida, dan karbon dioksida. Hidrogen peroksida akan bereaksi dengan 3,5-dikloro-2-hidroksibenzensulfonat (DCHBS) dan 4-aminofenazon (PAP) membentuk zat warna quinonimin, yaitu N-(4-antipiril)-3-kloro-5-sulfonat-p-benzokuinonimin yang dianalisis secara spektrofotometri pada panjang gelombang 520 nm. Metode ini banyak digunakan hingga saat ini karena cukup spesifik. Berikut ini adalah prinsip reaksi yang terjadi pada metode enzimatis dengan urikase :



Analisis kadar asam urat dengan metode KCKT memiliki keunggulan dalam hal sensitivitas dan keakuratan yang tinggi. Metode KCKT yang digunakan adalah metode fase terbalik dengan deteksi spektrofotometer pada panjang

gelombang 292 nm. Fase gerak yang dipilih adalah natrium asetat-asetonitril (9:1). Pengukuran kadar asam urat menggunakan metode kromatografi cair dengan spektrum massa (KC-SM) juga mulai dikembangkan untuk meningkatkan sensitivitas analisis.

## **2.8 Teknologi Ekstraksi**

### **2.8.1 Terminologi Simplisia dan Ekstrak (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1995)**

Simplisia adalah bahan alamiah yang dipergunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun juga dan kecuali dikatakan lain, berupa bahan yang telah dikeringkan. Simplisia dibedakan menjadi simplisia nabati, simplisia hewani, dan simplisia pelikan (mineral). Simplisia nabati adalah simplisia yang berupa tumbuhan utuh, bagian tumbuhan atau eksudat tumbuhan. Eksudat tumbuhan ialah isi sel yang secara spontan keluar atau dengan cara tertentu dikeluarkan dari sel tumbuhan. Simplisia merupakan bahan alamiah yang belum mengalami pengolahan dan belum berupa senyawa kimia murni.

Ekstrak adalah sediaan kental yang diperoleh dengan mengekstraksi senyawa aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai. Pada tahap selanjutnya, semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang ditetapkan.

### **2.8.2 Tahapan Ekstraksi (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1995)**

#### **2.8.2.1 Pembuatan Serbuk Simplisia**

Proses awal pembuatan ekstrak adalah pembuatan serbuk simplisia kering. Serbuk simplisia dibuat dengan derajat kehalusan tertentu sesuai kebutuhan. Proses ini dapat mempengaruhi mutu ekstrak dengan dasar beberapa hal sebagai berikut :

- a. Semakin halus serbuk simplisia, proses ekstraksi akan semakin efektif dan efisien. Akan tetapi jika serbuk semakin halus, semakin rumit pula teknologi dan peralatan yang harus disiapkan saat proses filtrasi.

- b. Proses pembuatan serbuk menggunakan peralatan mekanis dapat menimbulkan panas akibat gerakan atau interaksi dengan benda keras seperti logam yang dapat berpengaruh terhadap kandungan senyawa dalam simplisia.

#### 2.8.2.2 Pemilihan Cairan Pelarut

Cairan pelarut yang digunakan dalam proses pembuatan ekstrak adalah cairan pelarut yang dapat secara optimal menarik senyawa kimia berkhasiat yang diinginkan dari simplisia. Bila perlu, dapat dilakukan ekstraksi berulang menggunakan cairan pelarut yang berbeda untuk memisahkan ekstrak dari senyawa lain yang tidak diinginkan. Dalam pembuatan ekstrak total, maka dipilih cairan pelarut yang dapat melarutkan hampir semua metabolit sekunder yang terkandung dalam simplisia tertentu.

Beberapa faktor yang dijadikan pertimbangan pada pemilihan cairan penyari adalah sebagai berikut :

- a. Selektifitas
- b. Kemudahan bekerja dengan cairan pelarut tersebut
- c. Ekonomis
- d. Ramah lingkungan
- e. Keamanan

Meskipun demikian, kebijakan pemerintah juga membatasi penggunaan cairan pelarut ekstraksi. Sampai saat ini berlaku aturan bahwa pelarut yang diperbolehkan untuk diberikan pada hewan coba adalah air dan alkohol (etanol) serta campuran keduanya. Jenis pelarut lain seperti metanol dan turunan alkohol lainnya, heksana dan hidrokarbon alifatik lainnya, toluen dan hidrokarbon aromatik lainnya, kloroform ataupun aseton umumnya digunakan sebagai pelarut untuk tahap separasi dan tahap fraksinasi. Metanol dibatasi penggunaannya dibanding etanol karena sifatnya yang toksik akut dan kronik, namun jika dalam uji dapat dipastikan tidak ada pelarut yang tersisa dalam ekstrak, maka sebenarnya metanol merupakan pelarut yang lebih baik dari etanol.

### 2.8.2.3 Pemekatan/ Penguapan

Selama proses penguapan ekstrak akan terjadi peningkatan jumlah partial *solute* (senyawa terlarut). Pemekatan dapat dilakukan dengan cara menguapkan pelarut dari ekstrak sehingga didapatkan ekstrak kental atau ekstrak kering. Rendemen ekstrak dinyatakan dan dihitung sebagai persentase bobot ekstrak yang diperoleh terhadap bobot awal simplisia.

### 2.8.3 Metode Ekstraksi (Departemen Kesehatan Republik Indonesia & Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan Republik Indonesia, 2000).

#### 2.8.3.1 Cara Dingin

##### a. Maserasi

Pada metode ini, simplisia diekstraksi menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan. Secara teknologi, maserasi termasuk cara ekstraksi dengan prinsip metode pencapaian konsentrasi pada kesetimbangan. Maserasi kinetik berarti dilakukan pengadukan yang kontinu (terus-menerus). Remaserasi berarti dilakukan pengulangan proses maserasi terhadap simplisia setelah penyaringan maserat pertama dan seterusnya.

##### b. Perkolasi

Lain halnya dengan maserasi, perkolasi adalah ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru sampai sempurna (*exhaustive extraction*) yang umumnya dilakukan pada temperatur ruangan. Proses terdiri dari tahapan pengembangan bahan, tahap maserasi antara, tahap perkolasi sebenarnya (penetesan dan penampungan ekstrak) terus-menerus sampai diperoleh ekstrak (perkolat) yang jumlahnya 1-5 kali bahan.

#### 2.8.3.2 Cara Panas

##### a. Refluks

Pada metode refluks, ekstraksi dilakukan dengan pelarut pada temperatur titik didihnya selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik. Umumnya dilakukan pengulangan proses

pada residu pertama sampai 3-5 kali hingga dapat dikatakan sebagai proses ekstraksi sempurna.

b. Soxhlet

Cara ekstraksi ini menggunakan pelarut yang selalu baru dan umumnya dilakukan dengan alat khusus dengan pendingin balik sehingga terjadi ekstraksi kontinu dengan jumlah pelarut relatif konstan.

c. Digesti

Tidak seperti maserasi cara dingin, digesti merupakan maserasi kinetik dengan pengadukan kontinu pada temperatur yang lebih tinggi dari temperatur ruangan (umumnya dilakukan pada suhu 40 - 50°C).

d. Infus

Ekstraksi secara infus menggunakan pelarut air pada temperatur penangas air. Bejana infus tercelup dalam penangas air mendidih dengan temperatur terukur 96- 98°C selama waktu tertentu (15 – 20 menit).

e. Dekok

Infus pada waktu yang lebih lama ( $\geq 30^\circ\text{C}$ ) dan temperatur sampai titik didih air disebut dekok.

f. Destilasi uap

Untuk mengekstraksi kandungan senyawa kimia yang mudah menguap (minyak atsiri), dilakukan ekstraksi dengan metode destilasi uap oleh uap air. Hal ini dimungkinkan oleh adanya perbedaan tekanan parsial antara kandungan senyawa kimia menguap dalam ekstrak dengan fase uap air dari ketel secara kontinu. Proses destilasi uap diakhiri dengan kondensasi fase uap campuran (kandungan senyawa menguap ikut terdestilasi) menjadi destilat air bersama kandungan senyawa yang memisah sempurna atau memisah sebagian.

### 2.8.3.3 Cara Ekstraksi Lainnya

#### a. Ekstraksi berkesinambungan

Proses ekstraksi ini dilakukan berulang kali dengan menggunakan pelarut yang berbeda atau resirkulasi pelarut berurutan beberapa kali. Hal ini dilakukan untuk meningkatkan efisiensi jumlah pelarut dan dirancang untuk bahan dalam jumlah besar yang terbagi dalam beberapa bejana ekstraksi.

#### b. Superkritikal karbondioksida

Pada umumnya, gas karbon dioksida digunakan dalam pelaksanaan prinsip superkritik untuk ekstraksi serbuk simplisia. Dari variabel tekanan dan temperatur akan diperoleh spesifikasi kondisi polaritas tertentu yang sesuai untuk melarutkan golongan senyawa kandungan tertentu. Penghilangan cairan pelarut dari ekstrak dapat dengan mudah dilakukan karena karbondioksida mudah menguap.

#### c. Ekstraksi ultrasonik

Getaran ultrasonik (> 20000 Hz.) memberikan efek pada proses ekstraksi dengan prinsip meningkatkan permeabilitas dinding sel, menimbulkan gelembung spontan (*cavitation*) yang menimbulkan stress dinamik serta menimbulkan fraksi interfase. Hasil ekstraksi bergantung pada frekuensi getaran, kapasitas alat dan lama proses ultrasonikasi.

#### d. Ekstraksi energi listrik

Energi listrik yang digunakan berupa medan listrik, medan magnet serta *electric discharges* yang dapat mempercepat proses dan meningkatkan hasil ekstraksi berdasarkan prinsip pembentukan gelembung spontan dan penyebaran gelombang tekanan berkecepatan ultrasonik.

## 2.9 Penapisan Fitokimia

Setelah proses ekstraksi selesai, biasanya dilakukan penapisan fitokimia yang bertujuan untuk memberikan informasi tentang golongan senyawa kimia apa saja yang terkandung dalam ekstrak. Identifikasi dilakukan secara kualitatif menggunakan pereaksi-pereaksi yang spesifik untuk setiap golongan senyawa

kimia. Pada umumnya, penapisan fitokimia ekstrak meliputi identifikasi senyawa golongan fenol, flavonoid, tanin, saponin, alkaloid, terpen, dan glikosida (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1995).

## **2.10 Standardisasi Ekstrak**

Tumbuhan obat Indonesia telah banyak dimanfaatkan baik sebagai obat tradisional (jamu), obat herbal terstandar maupun fitofarmaka. Berbagai usaha dilakukan untuk meningkatkan kepercayaan masyarakat terhadap manfaat obat bahan alam. Salah satu usaha tersebut adalah pembuatan ekstrak tumbuhan berkhasiat yang dilanjutkan dengan standardisasi untuk memelihara keseragaman mutu, keamanan, dan khasiatnya. Standardisasi adalah serangkaian parameter, prosedur, dan cara pengukuran yang hasilnya merupakan unsur-unsur terkait jaminan stabilitas dan khasiat produk. Parameter-parameter dalam proses standardisasi yang telah ditentukan oleh Departemen Kesehatan RI meliputi parameter non spesifik dan parameter spesifik yang dimiliki tanaman obat tertentu (Departemen Kesehatan Republik Indonesia & Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan, 2000, Badan Pengawasan Obat dan Makanan Republik Indonesia, 2005).

### **2.10.1 Parameter Non Spesifik**

#### **2.10.1.1 Susut Pengerinan**

Pada pengujian ini dilakukan pengukuran zat sisa setelah pengeringan pada temperatur 105°C selama 30 menit atau sampai bobot konstan yang dinyatakan dalam nilai persen. Tujuannya adalah untuk memberikan informasi tentang besarnya senyawa yang hilang pada proses pengeringan.

#### **2.10.1.2 Penetapan Kadar Abu**

Pada pengujian ini dilakukan pemanasan terhadap bahan pada temperatur dimana senyawa organik dan turunannya terdestruksi dan menguap sehingga hanya tersisa unsur mineral anorganik. Tujuan pengujian ini adalah untuk memberikan gambaran tentang kandungan mineral yang terkandung dalam

ekstrak. Pengujian kadar abu total dilanjutkan dengan pengujian kadar abu yang tidak larut dalam asam.

## 2.10.2 Parameter Spesifik

### 2.10.2.1 Identitas Ekstrak

Pengujian parameter ini dilakukan untuk memberikan identitas obyektif dari nama dan spesifikasi senyawa identitas yang terkandung pada ekstrak. Pengujian parameter ini terdiri dari:

- a. Deskripsi tata nama yang meliputi nama ekstrak (generik, dagang, paten), nama latin tumbuhan (sistematika botani), bagian tumbuhan yang digunakan, nama Indonesia dari tumbuhan
- b. Ekstrak dapat memiliki senyawa identitas, yaitu senyawa tertentu yang menjadi petunjuk spesifik dengan metode tertentu.

### 2.10.2.2 Organoleptik Ekstrak

Pengujian ini dilakukan sebagai pengenalan awal yang sederhana namun dilakukan seobyektif mungkin. Dilakukan penggunaan pancaindera untuk mendeskripsikan bentuk, warna, bau dan rasa :

- a. Bentuk : padat, serbuk kering, kental, cair
- b. Warna : kuning, coklat
- c. Bau : aromatik, tidak berbau
- d. Rasa : pahit, manis, kelat

### 2.10.2.3 Penetapan Kadar Total Golongan Senyawa Kimia

Pengujian ini dilakukan untuk memberikan informasi tentang kadar total golongan senyawa tertentu sebagai salah satu parameter mutu ekstrak yang erat kaitannya dengan efek farmakologis. Penetapan kadar dilakukan dengan metode spektrofotometri, volumetri, gravimetri atau metode lainnya yang harus sudah teruji validitasnya.

## **BAB 3**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Lokasi dan Waktu Penelitian**

Penelitian dilakukan di Laboratorium Fitokimia dan Laboratorium Farmakologi Departemen Farmasi FMIPA UI Depok selama 4 bulan, yaitu dari bulan Februari hingga Mei 2012.

#### **3.2 Alat**

Alat-alat yang digunakan selama penelitian antara lain: blender (National), evaporator (Janke & Kunkel IKA Labor Technik), alkoholmeter, tanur (Termolyne), timbangan analitik (Ohaus), timbangan hewan (Ohaus), sonde lambung, spuit dan syringe (Terumo), mikrotube, mikropipet (Socorex), sentrifugator (Zheng Ji THL 16), spektrofotometri UV-Vis (Thermospectronic Genesys 20), spektrofotometri UV-Vis (PG Instruments), dan peralatan gelas.

#### **3.3 Bahan**

##### **3.3.1 Bahan Uji**

Bahan uji yang digunakan adalah umbi sarang semut (*Hydnophytum moseleyanum* Becc.) yang didapatkan dari hutan hujan tropis Kabupaten Kerom, Papua (Gambar 3.1) kemudian dideterminasi oleh Pusat Penelitian Biologi, LIPI Cibinong (Lampiran 1). Bahan uji yang diperoleh kemudian diekstraksi dengan menggunakan pelarut etanol 70%. Sebagai pembanding pada penapisan fitokimia ekstrak digunakan simplisia Theae Folium, Psidii Folium, Orthosiphon Folium, Kinin HCl, Caryophilli Flos, Centella Herba, dan Rhei Radix.

##### **3.3.2 Hewan Uji**

Hewan uji yang digunakan adalah tikus putih jantan (*Ratus norvegicus*) galur *Sprague-Dawley* berumur 2 bulan dengan berat badan berkisar antara 150-200 gram sejumlah 30 ekor yang diperoleh dari Bagian Ruminansia dan Satwa Harapan Fakultas Peternakan Institut Pertanian Bogor (Lampiran 2).

### 3.3.3 Bahan Kimia

Berikut ini adalah bahan kimia yang digunakan selama penelitian:

- a. Untuk ekstraksi dan standardisasi ekstrak: akuades, etanol 70% dari etanol teknis 96% yang telah didestilasi, benzene (teknis), eter (teknis), serbuk seng (Merck), serbuk magnesium (Merck), asam klorida (Merck), asam sulfat (Merck), asam asetat anhidrat (Merck), natrium karbonat (Merck), natrium klorida (Merck), gelatin, amonia (Merck), larutan besi (III) klorida (Merck), pereaksi Mayer, pereaksi Bouchardat, pereaksi Dragendorff, pereaksi Molisch (Merck), pereaksi Folin-Ciocalteu (Merck), asam galat (Merck).
- b. Untuk uji aktivitas : CMC (distributor Brataco Chemica), kalium oksonat (Sigma), alopurinol (PT. Kimia Farma), reagen kit asam urat (Randox<sup>®</sup>).

## 3.4 Penyiapan Ekstrak Uji

### 3.4.1 Pengumpulan dan Penyiapan Simplisia

Pada penelitian ini digunakan bagian umbi dari tanaman sarang semut (*Hydnophytum moseleyanum* Becc.). Umbi yang diperoleh kemudian dikupas dari kulitnya, diiris tipis 3-5 mm, dan dibiarkan mengering di udara luar sehingga didapatkan umbi yang kering dan mudah dipatahkan. Irisan-irisan umbi kering tersebut digiling dengan menggunakan blender hingga menjadi serbuk kasar yang lolos pengayak no. 30 (Subroto & Saputro, 2008).

### 3.4.2 Ekstraksi

Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi dengan pelarut etanol 70%. Sejumlah 900 g serbuk kering umbi tanaman sarang semut yang terbagi dalam 2 wadah yang masing-masing berisi 500 dan 400 g serbuk direndam dengan etanol 70% dengan perbandingan 1:5. Maserasi dilakukan dengan pengocokan pada 6 jam pertama dan dilanjutkan dengan pendiaman selama 18 jam berikutnya. Maserasi dilakukan berkali-kali hingga filtrat yang diperoleh telah berubah warna. Pada proses selanjutnya, filtrat yang diperoleh kemudian diuapkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 50°C lalu dilanjutkan dengan menggunakan penangas air pada suhu 40°C hingga diperoleh ekstrak kental dengan bobot tetap.

Setelah proses ekstraksi selesai, dihitung rendemen ekstrak berdasarkan massa ekstrak yang diperoleh terhadap massa serbuk kering yang digunakan selama ekstraksi (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1995).

### **3.5 Penapisan Fitokimia Ekstrak Sarang Semut (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1995)**

#### **3.5.1 Identifikasi Fenol**

Dengan penetesan pereaksi besi (III) klorida, larutan ekstrak yang mengandung senyawa fenol akan membentuk warna biru kehitaman atau hijau kehitaman. Sebagai pembanding digunakan simplisia *Theae Folium* (Luo, Ang, Gehring, & Lin, 2003).

#### **3.5.2 Identifikasi Flavonoid**

Sejumlah ekstrak dengan bobot sekitar 0,2 g dilarutkan dalam etanol 96% lalu ditambahkan sekitar 0,5 g serbuk seng dan 2 mL asam klorida encer. Dilakukan pendiaman larutan uji selama 1 menit kemudian ditambahkan 10 tetes asam klorida pekat. Jika terbentuk warna merah intensif dalam waktu 2 sampai 5 menit, maka ekstrak mengandung senyawa flavonoid (glikosida-3-flavonol).

Sejumlah ekstrak yang sama dilarutkan dalam etanol 96% lalu ditambahkan sekitar 0,1 g serbuk magnesium dan 10 tetes asam klorida pekat. Warna jingga sampai merah ungu muncul jika ekstrak mengandung flavonoid. Jika terjadi warna kuning jingga, maka ekstrak mengandung flavon, kalkon, dan auron. Sebagai pembanding digunakan simplisia *Theae Folium* yang juga mengandung golongan senyawa flavonoid (Luo, Ang, Gehring, & Lin, 2003).

#### **3.5.3 Identifikasi Tanin**

Sejumlah ekstrak dilarutkan dalam akuades panas lalu dikocok hingga homogen dan disaring kemudian filtrat digunakan untuk deteksi tanin. Filtrat ditambahkan asam asetat encer hingga diperoleh kondisi asam ( $\text{pH} = 3-6$ ) lalu ditambahkan dengan 5 tetes natrium klorida 10% dan larutan gelatin 10%. Tanin akan memberikan endapan pada penambahan gelatin. Sebagai pembanding,

digunakan simplisia Psidii Folium yang mengandung tanin (Sukardi, Mulyarto, & Safera, 2007).

#### 3.5.4 Identifikasi Alkaloid

Sebanyak kurang lebih 1 g ekstrak ditambahkan 1 mL asam klorida encer lalu dipanaskan sebentar di penangas air. Ekstrak uji kemudian dibagi menjadi 3 bagian untuk diuji dengan pereaksi Mayer, pereaksi Bouchardat, dan pereaksi Dragendorff. Pada penetesan pereaksi Mayer, hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya endapan berwarna putih atau kuning yang larut dalam metanol. Hasil positif oleh pereaksi Bouchardat ditunjukkan dengan terbentuknya endapan coklat hingga hitam. Sedangkan pada penetesan pereaksi Dragendorff, akan terbentuk endapan merah bata. Kinin HCl digunakan sebagai senyawa pembanding golongan alkaloid (Song, *et al.*, 2009).

#### 3.5.5 Identifikasi Saponin

Sebanyak kurang lebih 1 g ekstrak ditambahkan 10 mL air suling panas lalu didinginkan dan dikocok kuat selama 10 detik. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya busa/buih yang stabil setinggi 1-10 cm selama tidak kurang dari 10 menit. Busa/buih yang terbentuk harus tetap stabil pada penambahan 1 tetes asam klorida encer. Sebagai pembanding digunakan simplisia Orthosiphon Folium yang mengandung saponin (Siddique, *et al.*, 2011).

#### 3.5.6 Identifikasi Terpen

Sejumlah kurang lebih 0,2 g ekstrak ditambahkan 5 mL eter di dalam tabung reaksi lalu dikocok dan dipindahkan ke plat tetes. Eter dibiarkan menguap lalu sisa penguapan yang diperoleh ditambahkan 2 tetes asam asetat anhidrat dan 1 tetes asam sulfat pekat. Jika sampel mengandung golongan senyawa terpen, maka akan terbentuk warna yang pekat dan intensif. Caryophilli Flos yang mengandung golongan senyawa terpen digunakan sebagai pembanding (Kumar, *et al.*, 2012).

### 3.5.7 Identifikasi Glikosida Antrakuinon

Sejumlah kurang lebih 1 g ekstrak dihidrolisis dengan asam klorida 2N lalu didinginkan dan disaring kemudian filtratnya digunakan untuk tes Molisch dan tes Borntrager termodifikasi. Tes Molisch dilakukan dengan menambahkan larutan pereaksi Molisch pada filtrat di dalam tabung reaksi lalu diaduk dan dialirkan asam sulfat pekat melalui dinding tabung. Jika sampel mengandung karbohidrat maka akan terbentuk cincin ungu pada tabung reaksi. Tes Borntrager termodifikasi dilakukan dengan menambahkan larutan pereaksi besi (III) klorida pada filtrat lalu dipanaskan di penangas air selama 5 menit. Hal ini dilakukan untuk memutuskan ikatan glikosida yang tidak dapat diputus dengan asam encer saja. Larutan didinginkan dan diekstraksi dengan benzen dalam jumlah yang sama banyak kemudian lapisan benzen diambil dan ditambahkan amonia encer. Sampel yang mengandung glikosida antrakinon akan membentuk warna merah pada lapisan air. Sebagai pembanding digunakan Centella Herba dan Rhei Radix (James & Dubery, 2009; Chiang, Tsao, Chao, & Wen, 2007).

## **3.6 Standardisasi Ekstrak Sarang Semut (Departemen Kesehatan Republik Indonesia & Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan, 2000)**

### 3.6.1 Parameter Non Spesifik

#### 3.6.1.1 Penetapan Susut Pengerinan

Ekstrak ditimbang sebanyak 1 g hingga 2 g lalu dimasukkan ke dalam botol timbang dangkal yang tertutup. Sebelumnya botol timbang telah dipanaskan pada suhu 105°C hingga bobot tetap dan telah ditara. Ekstrak dimasukkan ke dalam botol timbang dan diratakan hingga mengisi botol dengan ketebalan lebih kurang 5 mm sampai 10 mm. Karena ekstrak yang diuji berupa ekstrak kental, botol berisi ekstrak dibuka tutupnya dan dimasukkan ke dalam ruang pengering suhu 105°C hingga bobot tetap. Sebelum setiap pengeringan dilakukan, botol dibiarkan tertutup mendingin dalam desikator hingga suhu kamar. Susut pengeringan adalah kadar bagian yang menguap pada suatu zat.

### 3.6.1.2 Penetapan Kadar Abu

Ditimbang seksama lebih kurang 2 g sampai 3 g ekstrak yang telah digerus lalu dimasukkan ke dalam krus silikat yang telah dipijarkan dan ditara. Kemudian ekstrak dipijar perlahan hingga arang habis, lalu didinginkan dan ditimbang. Jika dengan cara ini arang tidak dapat dihilangkan, ditambahkan air panas lalu disaring melalui kertas saring bebas abu. Kertas saring kemudian dipijar dalam krus yang sama. Filtrat dimasukkan ke dalam krus, diuapkan, dipijarkan hingga bobot tetap lalu ditimbang. Kadar abu dihitung terhadap bahan yang telah dikeringkan di udara.

### 3.6.1.3 Penetapan Kadar Abu yang Tidak Larut Asam

Abu yang diperoleh pada penetapan kadar abu dididihkan dengan 25 mL asam sulfat encer selama 5 menit lalu dikumpulkan bagian yang tidak larut dalam asam dengan melakukan penyaringan dengan kertas saring bebas abu lalu dicuci dengan air panas. Kertas saring kemudian dipijarkan hingga diperoleh penimbangan yang memenuhi syarat bobot tetap. Kadar abu yang tidak larut asam dihitung terhadap bahan yang telah dikeringkan di udara.

## 3.6.2 Parameter Spesifik

### 3.6.2.1 Identitas Ekstrak

Dilakukan pengamatan terhadap parameter identitas ekstrak berupa deskripsi tata nama ekstrak yang meliputi :

- a. Nama ekstrak (generik, dagang, paten)
- b. Nama latin tumbuhan (sistematika botani)
- c. Bagian tumbuhan yang digunakan
- d. Nama Indonesia dari tumbuhan

### 3.6.2.2 Organoleptis Ekstrak

Dilakukan penggunaan pancaindera untuk mendeskripsikan bentuk, warna, bau dan rasa

### 3.6.2.3 Penetapan Kadar Fenol Total (Andayati, Lisawati, & Maimunah, 2008)

Penetapan kadar fenolat total menggunakan spektrofotometri UV-Vis yang dimulai dengan pembuatan spektrum serapan serta kurva kalibrasi dari asam galat sebagai standar. Pembuatan kurva kalibrasi asam galat dimulai dengan membuat larutan induk 5000 mg/mL. Ditimbang seksama sekitar 0,125 g asam galat lalu dilarutkan dalam 5 ml etanol 70 % dan volumenya dicukupkan hingga 50,0 mL dalam labu ukur dengan aquadest sehingga diperoleh konsentrasi 5000 mg/mL. Dipipet sebanyak 3,0; 4,0; 5,0; 6,0; dan 7,0 mL larutan induk dan masing-masing diencerkan dengan aquabidest sampai volume 50,0 mL pada labu ukur sehingga dihasilkan dengan konsentrasi asam galat: 300, 400, 500, 600, dan 700 mg/L.

Pada tahap selanjutnya, setiap konsentrasi larutan standar asam galat dipipet masing-masing 0,2 ml dan ditambahkan 15,8 ml aquadest serta 1 ml reagen Folin-Ciocalteu lalu dikocok. Selanjutnya campuran didiamkan selama 8 menit kemudian ditambahkan 3 ml  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  20 % kedalamnya. Campuran tersebut kemudian diinkubasi selama 2 jam pada suhu kamar sehingga terbentuk kompleks berwarna biru. Setelah proses inkubasi selesai, segera diukur serapan standar asam galat dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang serapan maksimum. Dari data serapan dan konsentrasi yang diperoleh dibuat persamaan regresi linear  $y = a+bx$  untuk digunakan pada penetapan kadar total fenolat dalam sampel ekstrak.

Prosedur yang serupa juga dilakukan terhadap sampel ekstrak, yaitu dengan menimbang 0,3 gram ekstrak kemudian dilarutkan sampai volume 10,0 ml dengan etanol 70%. Dipipet 0,2 ml larutan ekstrak dan ditambahkan 15,8 ml aquadest serta 1 ml reagen Folin-Ciocalteu lalu dikocok. Campuran tersebut didiamkan selama 8 menit kemudian ditambahkan 3 ml  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  20 % dan diinkubasi selama 2 jam pada suhu kamar hingga terbentuk warna biru. Setelah proses inkubasi selesai, diukur serapan sampel dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum. Hasil pengukuran kadar total fenol yang diperoleh dinyatakan sebagai mg ekuivalen asam galat/g ekstrak.

### 3.7 Uji Aktivitas Ekstrak Sarang Semut

#### 3.7.1 Persiapan Hewan Coba

Sebelum pelaksanaan penelitian, hewan coba yang digunakan terlebih dahulu diaklimatisasi selama 2 minggu pada lingkungan yang baru. Pada masa aklimatisasi, dilakukan pengamatan terhadap tingkah laku, kemampuan mengkonsumsi makanan serta penimbangan berat badan yang dilakukan di awal hingga akhir masa aklimatisasi. Tikus yang diikutsertakan dalam percobaan adalah tikus yang sehat dengan ciri-ciri mata merah jernih, bulu tidak berdiri dan terjadi peningkatan berat badan yang baik (Smith & Mangkoewidjojo, 1998).

#### 3.7.2 Uji Pendahuluan

Uji pendahuluan yang pertama dilakukan adalah menentukan dosis optimal kalium oksonat yang dapat membuat hewan coba menjadi hiperurisemia. Pada uji ini digunakan dua dosis kalium oksonat, yakni 50 dan 62,5 mg/200g bb dengan jumlah tikus 3 ekor per kelompok perlakuan. Suspensi kalium oksonat dalam CMC 0,5% disuntikkan secara intraperitoneal pada tikus diikuti pengambilan darah melalui sinus orbital mata pada interval 2 jam setelah induksi. Dilakukan pemisahan plasma darah sebagai spesimen yang digunakan dalam analisis kadar asam urat. Dosis optimal kalium oksonat yang diperoleh pada uji pendahuluan ini digunakan pada uji pendahuluan dosis ekstrak yang dilakukan selanjutnya.

Uji pendahuluan berikutnya dilakukan untuk menentukan dosis ekstrak yang dapat menurunkan kadar asam urat pada hewan coba yang dibuat hiperurisemia. Dosis ekstrak hasil optimasi pada uji pendahuluan ini akan dijadikan dasar untuk membuat rancangan penetapan dosis pada pelaksanaan penelitian yang sebenarnya. Uji pendahuluan dosis ekstrak yang dilakukan pada penelitian ini mengacu pada dosis yang digunakan pada penelitian sebelumnya tentang uji imunostimulan dari umbi sarang semut. Dosis tersebut juga merujuk pada penggunaan umbi sarang semut secara empiris oleh masyarakat dengan cara direbus untuk mengobati berbagai macam penyakit termasuk asam urat, yaitu 20 g serbuk kering/minggu atau 2,86 g serbuk kering/hari (Hendarsula, 2011). Penyesuaian dosis manusia kepada hewan coba tikus dilakukan dengan

memperhitungkan faktor konversi spesies dari manusia ke tikus sebesar 0,018 dan faktor farmakokinetik sebesar 10 sehingga didapatkan dosis 0,51 g serbuk kering/200g bb. Jumlah ekstrak yang diberikan disesuaikan dengan nilai rendemen ekstrak yang didapatkan. Pada uji pendahuluan digunakan 2 peringkat dosis ekstrak umbi sarang semut.

Uji pendahuluan dosis ekstrak dilakukan menggunakan rancangan perlakuan yang serupa dengan penelitian sebenarnya (Tabel 3.1). Optimasi dosis ekstrak menggunakan 4 kelompok perlakuan dengan 3 ekor tikus per kelompok.

**Tabel 3.1.** Perlakuan hewan coba pada uji pendahuluan

Kelompok	Perlakuan			
	Pemberian bahan uji hari ke-1 s/d ke-7	Pemberian bahan uji hari ke-8		
		Induksi	1 jam setelah induksi	2 jam setelah induksi
I	Ekstrak dosis I	Kalium oksonat	Ekstrak dosis I	Pengambilan dan analisis kadar asam urat dalam sampel darah
II	Ekstrak dosis II		Ekstrak dosis II	
III	CMC 0,5%	CMC 0,5%	CMC 0,5%	
IV	Alopurinol 36 mg/200 g bb	Kalium oksonat	Alopurinol 36 mg/200 g bb	

Keterangan: Setiap kelompok diberikan sediaan uji secara oral selama 8 hari. Kelompok II diberikan ekstrak sarang semut dua kali lebih besar dibandingkan dengan kelompok I. Kelompok III (normal) diberikan plasebo CMC 0,5% sementara kelompok IV diberikan alopurinol 36 mg/200 g bb sebagai pembanding. Pada hari ke-8 semua kelompok kecuali kelompok normal diinduksi dengan kalium oksonat secara intraperitoneal. Setiap sediaan uji diberikan dalam bentuk tersuspensi dalam CMC 0,5%. Masing-masing kelompok terdiri dari 3 ekor tikus.

### 3.7.3 Penetapan Dosis Ekstrak

Pada pelaksanaan penelitian yang sebenarnya akan digunakan tiga peringkat dosis sesuai dengan hasil optimasi pada uji pendahuluan dosis ekstrak.

### 3.7.4 Pelaksanaan penelitian

#### 3.7.4.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode Rancangan Acak Sederhana (RAS) berdasarkan pengundian nomor hewan coba yang telah lolos proses aklimatisasi. Hewan coba akan dibagi menjadi enam kelompok perlakuan dengan jumlah minimum tikus yang digunakan dalam setiap kelompok mengikuti rumus Federer (Jusman & Halim, 2009).

$$(t-1)(n-1) \geq 15$$

Dimana:  $t$  = jumlah kelompok perlakuan = 6

$n$  = jumlah sampel per kelompok perlakuan

Maka:  $(t-1)(n-1) \geq 15$

$$(6-1)(n-1) \geq 15$$

$$6n - 6 \geq 15$$

$$n \geq 3,5 \text{ dibulatkan menjadi } \geq 4$$

Berdasarkan rumus Federer, jumlah minimum tikus yang digunakan dalam setiap kelompok adalah 4 ekor. Untuk meningkatkan efektivitas pengujian statistik, pada penelitian ini digunakan 30 ekor hewan coba yang terbagi dalam 6 kelompok perlakuan yang terdiri dari masing-masing 5 ekor tikus.

#### 3.7.4.2 Perlakuan Hewan Coba (Huang, *et al.*, 2008)

Penelitian ini dirancang untuk 8 hari perlakuan dimana pada hari ke-1 hingga hari ke-7 setiap kelompok percobaan diberikan sediaan uji sehari sekali secara oral. Kelompok I, II, dan III diberikan ekstrak sarang semut dengan dosis yang bertingkat (kelompok dosis uji). Plasebo CMC 0,5% diberikan pada kelompok normal (kelompok IV) dan kelompok induksi (kelompok V) sedangkan alopurinol (Lampiran 3.) yang merupakan obat konvensional untuk menurunkan kadar asam urat diberikan pada kelompok IV (kelompok pembanding). Semua sediaan dibuat dalam bentuk tersuspensi dalam CMC 0,5% dengan volume pemberian untuk masing-masing tikus adalah 3 mL/200 g bb.

Pada hari ke-8 dilakukan induksi hiperurisemia dengan pemberian kalium oksonat yang tersuspensi dalam CMC 0,5% secara intraperitoneal pada semua kelompok perlakuan kecuali kelompok normal. Satu jam kemudian diberikan

sediaan uji yang terakhir secara oral. Pengambilan sampel darah hewan coba dilakukan pada interval 2 jam setelah induksi oleh kalium oksonat. Tabel 3.2 menunjukkan perlakuan untuk setiap kelompok hewan coba.

**Tabel 3.2.** Perlakuan hewan coba pada pelaksanaan penelitian

Kelompok	Perlakuan			
	Pemberian bahan uji hari ke-1 s/d ke-7	Pemberian bahan uji hari ke-8		
		Induksi	1 jam setelah induksi	2 jam setelah induksi
I	Ekstrak Dosis I	Kalium oksonat	Ekstrak Dosis I	Pengambilan dan analisis kadar asam urat dalam sampel darah
II	Ekstrak Dosis II		Ekstrak Dosis II	
III	Ekstrak Dosis III		Ekstrak Dosis III	
IV	CMC 0,5%	CMC 0,5%	CMC 0,5%	
V		Kalium oksonat		
VI	Alopurinol 36 mg/200g bb	Kalium oksonat	Alopurinol 36 mg/200g bb	

Keterangan: Setiap kelompok diberikan sediaan uji secara oral selama 8 hari. Kelompok I, II, dan III diberikan ekstrak sarang semut dengan dosis yang bertingkat, kelompok IV (normal) dan kelompok V (induksi) diberikan plasebo CMC 0,5%, kelompok VI diberikan alopurinol 36 mg/200 g bb sebagai pembandingan. Pada hari ke-8, semua kelompok kecuali kelompok normal diinduksi dengan kalium oksonat secara intraperitoneal. Setiap sediaan dibuat dalam bentuk tersuspensi dalam CMC 0,5%. Masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor tikus.

#### 3.7.4.3 Pengambilan Sampel Darah

Pengambilan sampel darah dilakukan melalui sinus orbital mata pada tikus yang telah dianestesi secara inhalasi dengan menggunakan eter. Pengambilan darah melalui sinus orbital dilakukan dengan memasukkan pipa mikrohematokrit ke dalam pangkal bola mata sambil diputar halus ke arah belakang bola mata sehingga darah mengalir melalui pipa mikrohematokrit tersebut. Dengan segera

darah ditampung pada *mikrotube* yang telah dilapisi dengan antikoagulan heparin. Selanjutnya darah disentrifugasi dengan kecepatan 7000 rpm selama 5 menit untuk memisahkan plasma dengan sel darah (Hoff, 2000). Plasma yang telah terpisah diambil dengan menggunakan mikropipet untuk proses analisis kadar asam urat selanjutnya.

#### 3.7.4.4 Pengukuran Kadar Asam Urat Dalam Darah

Analisis kadar asam urat dalam plasma darah dilakukan dengan metode kolorimetri secara enzimatik (urikase) menggunakan pereaksi komersial untuk asam urat (Randox<sup>®</sup>). Komposisi senyawa kimia yang terkandung dalam reagen dapat dilihat pada Lampiran 4.

Analisis dilakukan menggunakan spektrofotometer Uv-Vis pada panjang gelombang 520 nm. Pada kuvet blanko, kuvet sampel dan kuvet standar dimasukkan 1000 µL pereaksi asam urat (Randox<sup>®</sup>). Pada tahap selanjutnya, pada kuvet sampel ditambahkan 20 µL plasma uji sedangkan pada kuvet standar ditambahkan 20 µL standar asam urat. Setiap kuvet uji dikocok dan diinkubasi pada suhu 25°C selama 15 menit sehingga terbentuk warna merah ungu yang stabil selama 30 menit pasca inkubasi.

Penetapan kadar asam urat dalam sampel dilakukan dengan membandingkan serapan sampel dengan serapan standar menurut persamaan berikut (Randox Laboratories Ltd., 2011) :

$$\text{Kadar asam urat sampel (mg/dL)} = \frac{\text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi standar}} \times 10 \text{ mg/dL}$$

#### 3.7.4.5 Perhitungan Persentase Penurunan Kadar Asam Urat Serta Efektivitasnya

Setelah mendapatkan data kadar asam urat dari setiap kelompok perlakuan, kemudian dihitung persentase penurunan kadar asam urat dari setiap kelompok perlakuan terhadap kelompok normal. Selanjutnya dilakukan perbandingan efektivitas setiap kelompok dosis ekstrak terhadap kelompok pembanding oleh alopurinol (Julian & Iqbal, 2008).

### 3.8 Uji Statistik

Data yang diperoleh diolah secara statistik menggunakan program SPSS 19. Analisis yang akan digunakan adalah uji distribusi normal (*Shapiro-Wilk*) dan uji homogenitas (*Levene*). Jika data yang diperoleh terdistribusi normal dan homogen, maka selanjutnya dilakukan uji parameter ANOVA untuk mengetahui adakah perbedaan yang signifikan antar kelompok. Jika terdapat perbedaan yang signifikan, maka dilakukan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) untuk mengetahui kelompok mana yang memiliki perbedaan. Sedangkan bila data yang diperoleh tidak terdistribusi normal atau tidak homogen, maka selanjutnya akan dilakukan uji non parametrik *Kruskal-Wallis* dan *Mann-Whitney* (Trihendradi, 2011).



## BAB 4

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 4.1 Proses Penyiapan Ekstrak

Bahan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah bagian umbi yang sudah dikeringkan dari tanaman sarang semut (*Hydnophytum moseleyanum* Becc.). Pengeringan bahan uji sebelum ekstraksi bertujuan untuk meminimalkan kadar air sehingga proses enzimatik didalamnya dapat dihentikan. Penghilangan air pada proses pengeringan juga dapat mencegah tumbuhnya mikroba yang dapat merusak bahan uji. Untuk mempermudah proses penyaringan ekstrak, simplisia dibuat menjadi serbuk kasar yang lolos pengayak berukuran 30 mesh.

Pada umumnya, penggunaan umbi sarang semut oleh masyarakat untuk mengatasi berbagai jenis penyakit termasuk asam urat dilakukan dengan cara direbus dengan air. Ekstraksi dengan pelarut organik dilakukan karena penguapan pelarut organik lebih mudah dibandingkan dengan pelarut air. Pada proses berikutnya, ekstrak nantinya akan lebih mudah untuk distandardisasi. Etanol 70% dipilih sebagai pelarut ekstraksi dikarenakan kebijakan pemerintah yang membatasi penggunaan cairan pelarut ekstraksi. Terkait dengan toksisitasnya, sampai saat ini berlaku aturan bahwa pelarut yang diperbolehkan untuk diujikan pada hewan coba adalah air dan alkohol (etanol) serta campuran keduanya. Konsentrasi etanol 70% dipilih karena dinilai cukup polar untuk menarik flavonoid sebagai senyawa aktif yang diduga berperan besar dalam penelitian ini.

Metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi (cara ekstraksi dingin) untuk mencegah rusaknya senyawa-senyawa kimia yang tidak tahan pemanasan, khususnya flavonoid. Maserasi dilakukan dengan merendam simplisia dengan pelarut ekstraksi disertai pengadukan konstan selama 6 jam. Proses ini dilanjutkan dengan pendiaman selama 18 jam berikutnya agar terjadi kesetimbangan diantara senyawa kimia yang tertarik dalam maserat dan yang masih tertinggal dalam simplisia. Maserasi dilakukan berulang hingga 7 kali disaat sudah terjadi perubahan warna filtrat yang didapatkan pada setiap kali maserasi, yaitu dari warna merah kehitaman hingga warna coklat seperti teh. Perubahan warna yang

terjadi dapat dijadikan indikator telah tertariknya senyawa-senyawa berbobot molekul rendah seperti saponin, tanin, terpenoid dan flavonoid pada proses ekstraksi (Harborne, 1996).

Pada tahap selanjutnya, seluruh maserat diuapkan menggunakan *rotary evaporator* dan penangas air dengan suhu maksimal 50°C sehingga didapatkan ekstrak kental dengan bobot konstan. Rendemen ekstrak diperoleh dari bobot konstan ekstrak dibagi dengan bobot simplisia lalu dikali 100%. Secara keseluruhan, proses ekstraksi 900 g serbuk simplisia umbi sarang semut menghasilkan 314,4 g ekstrak kental berwarna coklat hitam kemerahan sehingga didapatkan rendemen rata-rata ekstrak sebesar 34,73% (Gambar 4.1, Tabel 4.1). Perhitungan rendemen dilakukan untuk menilai efektivitas metode ekstraksi yang digunakan. Semakin besar nilai rendemen, berarti semakin banyak senyawa kimia yang tertarik pada proses ekstraksi. Nilai rendemen ini selanjutnya digunakan untuk menentukan dosis ekstrak pada hewan coba.

#### **4.2 Penapisan Fitokimia Ekstrak Sarang Semut**

Setelah proses ekstraksi selesai, dilakukan penapisan fitokimia secara kualitatif yang bertujuan untuk mengetahui kandungan golongan senyawa kimia apa saja yang dimiliki ekstrak. Penapisan dilakukan terhadap golongan senyawa fenol, flavonoid, tanin, saponin, alkaloid, terpen, dan glikosida antraknon. Ekstrak sarang semut mengandung senyawa fenol yang memberikan warna hitam pada penambahan larutan besi (III) klorida (Gambar 4.2). Hasil pengujian ekstrak terhadap flavonoid memberikan hasil positif dengan reaksi reduksi Mg dan Zn yang memberikan warna merah (Gambar 4.3). Ekstrak sarang semut juga mengandung tanin yang memberikan endapan pada penambahan gelatin (Gambar 4.4). Endapan yang terbentuk merupakan tanin yang mengendap bersama protein dalam gelatin. Pengujian saponin memberikan hasil positif dimana terbentuk busa stabil selama 10 menit setinggi 1,3 cm bahkan pada penambahan HCl 2N (Gambar 4.5). Penambahan asam encer bertujuan untuk memastikan bahwa busa yang terbentuk adalah busa yang mantap yang tidak larut dalam asam encer. Ekstrak tidak mengandung senyawa alkaloid berdasarkan hasil negatif oleh reaksi Mayer, Reaksi Dragendorff, dan reaksi Bouchardat. Pada pengujian ini, ekstrak

sarang semut tidak membentuk endapan putih pada reaksi Mayer, endapan merah bata pada reaksi Dragendorf, dan endapan coklat hitam pada reaksi Bouchardat (Gambar 4.6). Reaksi Liebermann-Burchard memberikan warna coklat muda jernih yang menunjukkan ekstrak tidak mengandung senyawa terpen (Gambar 4.7). Ekstrak sarang semut juga mengandung karbohidrat termasuk didalamnya senyawa glikosida yang membentuk cincin ungu pada reaksi Molisch (Gambar 4.8). Ekstrak tidak mengandung senyawa glikosida antrakinon yang akan memberikan warna merah pada penambahan amonia encer (Gambar 4.9). Data selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 4.2.

### **4.3 Standardisasi Ekstrak Sarang Semut**

#### **4.3.1 Parameter Non Spesifik**

Parameter non spesifik yang diuji pada penelitian ini adalah parameter susut pengeringan, kadar abu total dan kadar abu tidak larut asam. Susut pengeringan didapatkan dengan cara mengeringkan ekstrak pada suhu 105°C hingga diperoleh bobot konstan. Penentuan susut pengeringan ekstrak dilakukan untuk mengetahui besarnya senyawa yang hilang pada proses pengeringan. Senyawa tersebut dapat berupa air, sisa pelarut organik atau senyawa lainnya seperti minyak atsiri. Berdasarkan hasil percobaan didapatkan susut pengeringan rata-rata sebesar  $37,80 \pm 0,58\%$  (Tabel 4.3, Lampiran 5).

Parameter uji lain yang juga dilakukan adalah penetapan kadar abu total. Pada pengujian ini dilakukan pemanasan hingga temperatur dimana semua senyawa organik dan turunannya terdestruksi dan habis menguap hingga hanya tersisa unsur mineral anorganik. Tujuan pengujian ini adalah untuk mengetahui jumlah kandungan mineral yang terkandung dalam ekstrak. Mineral tersebut dapat berasal dari ekstrak itu sendiri ataupun berada sebagai kontaminan selama proses ekstraksi. Pengujian ini dilanjutkan dengan penetapan kadar abu tidak larut asam untuk mengetahui jumlah mineral tak larut asam dalam ekstrak. Hasil pengujian ini dapat dikaitkan dengan kemampuan ekstrak melarut dalam cairan lambung yang juga berkaitan dengan penyerapannya pada saluran cerna. Berdasarkan hasil percobaan, berikut ini berturut-turut didapatkan kadar rata-rata abu total diikuti

kadar rata-rata abu tidak larut asam dalam ekstrak sarang semut:  $9,89 \pm 0,78\%$  dan  $0,46 \pm 0,63\%$  (Tabel 4.4 dan 4.5, Lampiran 6 dan 7).

#### 4.3.2 Parameter Spesifik

Parameter spesifik pertama yang disertakan adalah identitas ekstrak yang memberikan identitas obyektif terhadap ekstrak, meliputi:

- a. Nama ekstrak : Ekstrak etanol 70% umbi sarang semut
- b. Nama latin tumbuhan : *Hydnophytum moseleyanum* Becc.
- c. Nama Indonesia : tanaman sarang semut
- d. Bagian yang digunakan : umbi

Pengujian organoleptik ekstrak juga dilakukan sebagai pengenalan awal yang sederhana namun dilakukan seobyektif mungkin. Ekstrak etanol 70% umbi sarang semut (*Hydnophytum moseleyanum* Becc.) berbentuk kental seperti pasta, berwarna coklat hitam kemerahan dengan bau khas serta rasa yang pahit dan kelat.

Untuk memberikan karakter yang lebih spesifik dibandingkan ciri organoleptis dari ekstrak yang diperoleh, berikutnya dilakukan penetapan kadar total kandungan kimia. Pada penelitian ini dilakukan penetapan kadar total fenolat karena senyawa yang diduga aktif menurunkan kadar asam urat dalam tanaman sarang semut adalah senyawa golongan flavonoid yang termasuk ke dalam golongan fenol. Penetapan kadar total fenolat cenderung lebih mudah dilakukan dan dapat digunakan secara umum untuk memprediksi kandungan flavonoid. Dari hasil percobaan didapatkan nilai kadar total fenolat rata-rata sebesar  $513,33 \pm 12,02$  mg ekivalen asam galat per gram ekstrak (Tabel 4.6, Lampiran 8).

#### 4.4 Uji Aktivitas Ekstrak Sarang Semut

Uji aktivitas ekstrak menggunakan hewan coba tikus putih jantan galur *Sprague Dawley* berumur 2 bulan dengan berat badan berkisar antara 150-200 g yang telah diaklimatisasi selama 2 minggu. Proses aklimatisasi bertujuan untuk memberikan kesempatan bagi tikus untuk beradaptasi dengan lingkungan yang baru sehingga dapat mengurangi faktor stress yang mungkin mempengaruhi hasil penelitian. Dipilih tikus jantan untuk menghindari pengaruh hormonal terhadap

penelitian yang dilakukan (Chou, Lin, & Tsai, 2001). Tikus akan dijadikan hewan coba model hiperurisemia dengan induksi oleh kalium oksonat yang akan menghambat urikase dalam mengubah asam urat menjadi alantoin yang lebih mudah dikeluarkan dari tubuh.

Oleh karena hasil metabolisme akhir dari senyawa purin pada tikus bukanlah asam urat, sebenarnya tikus bukanlah hewan coba yang ideal untuk penelitian ini. Bangsa aves dan reptil adalah kelompok hewan yang menghasilkan asam urat sebagai hasil akhir metabolisme purin sehingga lebih cocok untuk dijadikan hewan uji pada penelitian asam urat (Lopez, A., 2010). Tikus tetap dipertahankan sebagai hewan coba pada penelitian karena hewan ini yang paling umum digunakan pada uji toksisitas yang biasanya dilakukan setelah uji aktivitas.

Sebelum dilakukan pengujian aktivitas ekstrak, dilakukan terlebih dahulu optimasi terhadap dosis kalium oksonat yang akan digunakan. Pada optimasi ini digunakan 2 peringkat dosis kalium oksonat, yakni 50 dan 62,5 mg/200 g bb. Hasil optimasi menunjukkan bahwa dibandingkan dengan dosis kalium oksonat 62,5 mg/200 g bb, dosis kalium oksonat sebesar 50 mg/200 g bb secara intraperitoneal sudah cukup untuk membuat tikus menjadi hiperurisemia dengan kenaikan kadar asam urat plasma yang cukup besar dibandingkan dengan normal pada waktu 2 jam setelah induksi (Tabel 4.7). Hal ini dapat disebabkan oleh enzim yang sudah jenuh diduduki inhibitor (kalium oksonat) sehingga pada penambahan dosis tidak lagi terjadi peningkatan kadar asam urat. Pengambilan darah pada interval 2 jam setelah induksi dilakukan karena pada saat tersebut terjadi puncak kondisi hiperurisemia (Huang, *et al.*, 2008). Dosis kalium oksonat hasil optimasi digunakan pada tahapan pengujian berikutnya.

Kalium oksonat sebagai senyawa penginduksi asam urat diberikan secara intraperitoneal dalam bentuk tersuspensi dalam CMC 0,5% karena senyawa ini tidak larut dalam NaCl fisiologis. Meskipun syarat isotonisitas tidak terpenuhi, sediaan suspensi ini masih layak diberikan karena sediaan parenteral tidak harus bersifat isotonis (Gad, 2009).

Pengambilan darah dilakukan melalui sinus orbital mata tikus menggunakan pipa hematokrit karena metode ini relatif cepat serta memungkinkan untuk mendapatkan volume darah yang cukup banyak dalam

waktu singkat sehingga dapat mencegah hemolisis. Darah yang didapatkan kemudian ditampung dalam *mikrotube* berheparin untuk mencegah koagulasi. Darah yang telah dikumpulkan kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 7000 rpm selama 5 menit untuk mendapatkan bagian plasma yang selanjutnya akan dianalisis.

Analisis kadar asam urat dilakukan dengan metode kolorimetri enzimatik (urikase) dengan kit pereaksi Randox<sup>®</sup> menggunakan instrumen spektrofotometri UV-Vis. Metode ini dipilih karena cukup spesifik, sederhana, mudah dilakukan serta tidak membutuhkan waktu yang lama. Reaksi asam urat oleh urikase akan melepaskan hidrogen peroksida yang selanjutnya akan bereaksi dengan senyawa tertentu membentuk kompleks quinonimin yang berwarna merah ungu dan memiliki gugus kromofor sehingga dapat dideteksi oleh spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 520 nm. Sesungguhnya, senyawa quinonimin yang terbentuk memberikan serapan maksimum pada panjang gelombang 512 nm. Pengukuran pada panjang gelombang 520 nm dilakukan untuk menghindari interferensi hemolisis, hemoglobin dan reaksi turbidimetri. Dalam proses analisis dilakukan inkubasi selama 15 menit agar reaksi pembentukan warna berlangsung sempurna. Warna yang terbentuk akan stabil selama 30 menit setelah inkubasi (Jelikic, Milena, & Djurdjevic, 2003; Randox Laboratories Ltd., 2011).

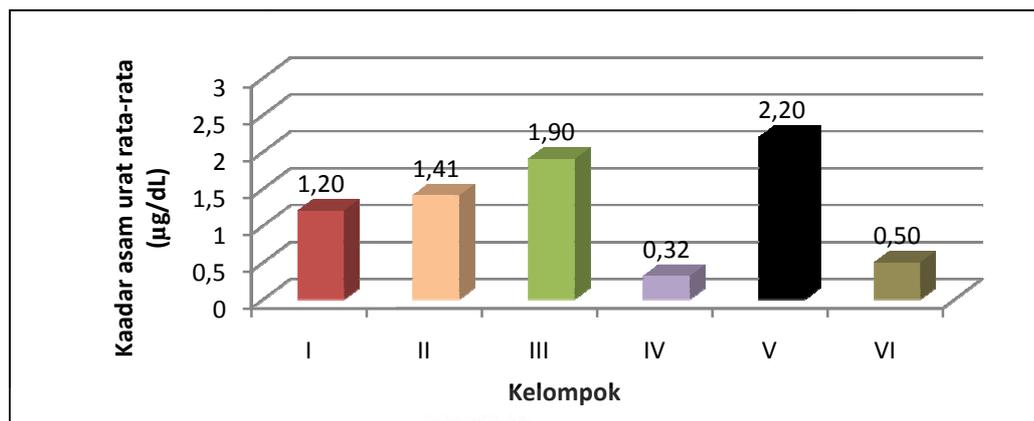
Pada uji pendahuluan selanjutnya dilakukan optimasi dosis ekstrak yang akan digunakan pada penelitian yang sebenarnya. Optimasi ini dilakukan karena data dosis ekstrak sarang semut yang dimiliki hanya berupa data sekunder dari penelitian sebelumnya mengenai uji imunostimulan (Hendarsula, 2011). Data penelitian tersebut juga merujuk pada penggunaan umbi sarang semut secara empiris untuk mengatasi berbagai penyakit termasuk asam urat sehingga dinilai perlu dilakukan optimasi dosis ekstrak lebih lanjut. Alopurinol pada dosis 36 mg/200 g bb (Lampiran 9.) digunakan sebagai obat pembanding karena memiliki mekanisme kerja yang diduga sama dengan ekstrak sarang semut dalam menurunkan kadar asam urat yakni melalui penghambatan xantin oksidase.

Pada optimasi dosis ekstrak digunakan 2 peringkat dosis dengan dosis pertama (dosis empiris) adalah setengah kali dari dosis kedua. Rancangan percobaan pada uji pendahuluan dosis ekstrak dibuat sama dengan rancangan uji

sebenarnya, yaitu dilakukan pemberian bahan uji secara oral pada hari ke-1 hingga hari ke-8. Pemberian ekstrak selama 8 hari berturut-turut bertujuan untuk memberikan efek akumulasi dari senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak. Pada hari ke-8 dilakukan induksi dengan kalium oksonat 50 mg/200 g bb secara intraperitoneal. Setiap sediaan uji dibuat dalam bentuk tersuspensi dalam CMC 0,5%. Satu jam setelah induksi dilakukan pemberian ekstrak yang terakhir diikuti pengambilan darah satu jam setelahnya.

Hasil optimasi dosis ekstrak menunjukkan bahwa ekstrak sarang semut dosis I sebesar 179 mg/200 g mampu menurunkan kadar asam urat tikus hiperurisemia. Akan tetapi, ekstrak sarang semut dosis II yang merupakan kelipatan dua dari dosis I, yakni 358 mg/200 g bb tidak dapat menurunkan kadar asam urat tikus (Tabel 4.8). Pada uji pendahuluan dosis ekstrak, kelompok induksi tidak disertakan lagi karena dianggap sudah dapat diwakili oleh data hasil induksi pada uji pendahuluan dosis kalium oksonat. Berdasarkan hasil optimasi dosis ekstrak tersebut, pada uji yang sebenarnya digunakan tiga peringkat dosis dengan melakukan penurunan dosis serta interval yang lebih sempit (Lampiran 10). Pada penelitian yang sebenarnya digunakan 30 ekor tikus yang terbagi atas 6 kelompok perlakuan yang masing-masing terdiri dari 5 ekor tikus. Setiap sediaan uji diberikan kepada hewan coba dalam bentuk tersuspensi dalam CMC 0,5% dengan volume pemberian 3 mL/200 g bb (Lampiran 11).

Hasil analisis kadar asam urat dalam darah tikus dari setiap kelompok perlakuan pada penelitian sebenarnya menunjukkan simpangan deviasi yang besar (data selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 4.9). Kadar asam urat rata-rata dari setiap kelompok perlakuan pada hari kedelapan ditunjukkan oleh Gambar 4.5. Ketiga kelompok dosis ekstrak sarang semut dan kelompok alopurinol sebagai pembanding menunjukkan kadar asam urat rata-rata yang lebih kecil dibandingkan dengan kelompok induksi. Dengan demikian, tanpa pengujian statistik dapat dikatakan bahwa keempat sediaan uji tersebut dapat menurunkan kadar asam urat tikus hiperurisemia. Namun, hanya kelompok pembanding dengan alopurinol yang dapat menurunkan kadar asam urat tikus hingga hampir mencapai normal.

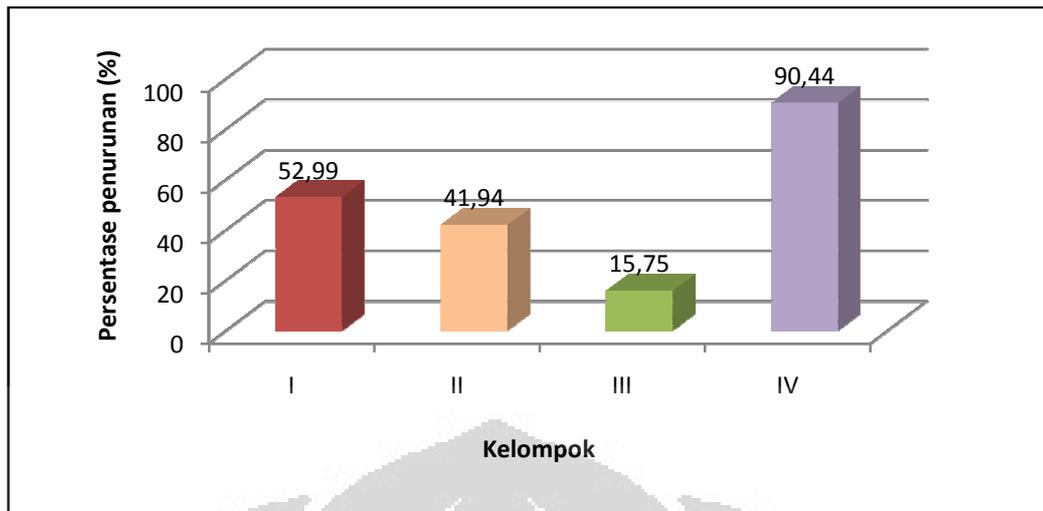


Keterangan: Kelompok I, II, dan III diberikan ekstrak sarang semut pada dosis berturut-turut: 119, 179, dan 267 mg/200 g bb, kelompok IV (normal) dan kelompok V (induksi) diberikan plasebo CMC 0,5%, kelompok VI diberikan alopurinol 36 mg/200 g bb sebagai pembanding. Pada hari kedelapan, setiap kelompok kecuali kelompok normal diinduksi secara intraperitoneal dengan kalium oksonat 50 mg/200 g bb. Semua sediaan dibuat dalam bentuk tersuspensi dalam CMC 0,5%.

**Gambar 4.13.** Kadar asam urat rata-rata pada setiap kelompok perlakuan pada hari kedelapan

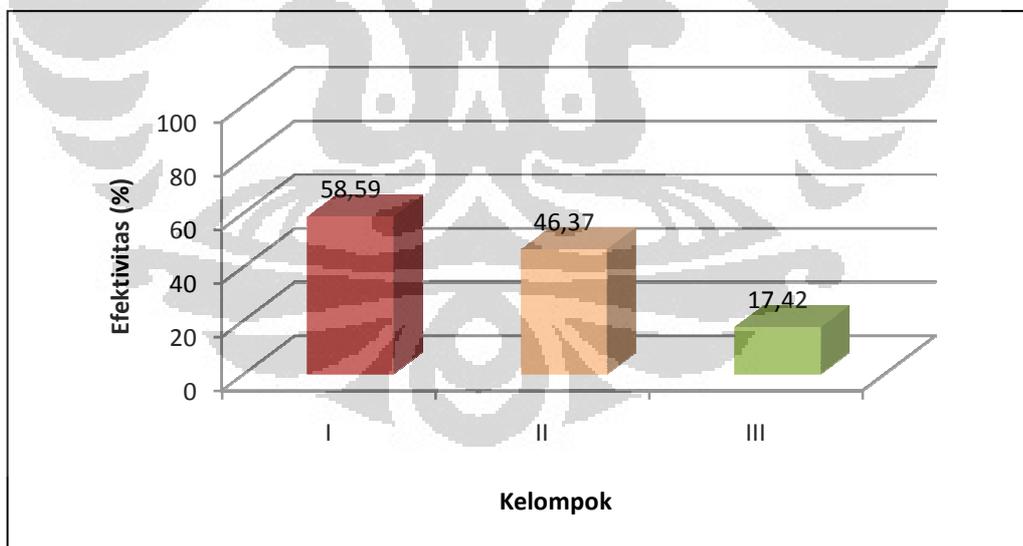
Berdasarkan data yang didapatkan, terdapat perbedaan kadar asam urat dari kelompok induksi pada uji pendahuluan dan uji yang sebenarnya. Pada uji pendahuluan, kadar asam urat kelompok induksi mencapai angka 4 sementara pada uji sesungguhnya hanya mencapai angka 2. Hal ini dapat disebabkan oleh variasi biologis tikus yang digunakan serta faktor kestabilan senyawa penginduksi (kalium oksonat) mengingat produsen (Sigma) tidak menyertakan data kestabilan dari produk ini. Akan tetapi masalah ini dinilai masih dapat ditoleransi karena pada uji yang sebenarnya, kadar asam urat yang dicapai pada kelompok induksi sudah menunjukkan kondisi hiperurisemia dibandingkan dengan normal.

Pada tahap berikutnya, dilakukan perhitungan penurunan kadar asam urat rata-rata dari setiap kelompok dosis ekstrak terhadap kelompok normal dan kelompok alopurinol sebagai pembanding (Lampiran 12 dan 13). Penurunan kadar asam urat rata-rata setiap kelompok dosis ekstrak terhadap kelompok normal dan kelompok alopurinol sebagai pembanding terlihat pada Gambar 4.6 dan Gambar 4.7.



Keterangan: Kelompok I, II, dan III diberikan ekstrak sarang semut pada dosis berturut-turut: 119, 179, dan 267 mg/200 g bb, kelompok IV diberikan alopurinol 36 mg/200 g bb sebagai pembandingan. Semua sediaan dibuat dalam bentuk tersuspensi dalam CMC 0,5%.

**Gambar 4.14.** Persentase penurunan kadar asam urat rata-rata kelompok perlakuan terhadap kelompok normal



Keterangan: Kelompok I, II, dan III diberikan ekstrak sarang semut pada dosis berturut-turut: 119, 179, dan 267 mg/200 g bb. Semua sediaan dibuat dalam bentuk tersuspensi dalam CMC 0,5%.

**Gambar 4.15.** Efektivitas penurunan kadar asam urat rata-rata kelompok dosis ekstrak terhadap kelompok alopurinol sebagai pembandingan

Berdasarkan data tersebut, dapat dilihat bahwa ekstrak sarang semut pada dosis I dan dosis II memiliki kemampuan yang lebih baik dalam menurunkan kadar asam urat daripada kelompok dosis III meskipun belum mampu menandingi alopurinol sebagai obat pembanding yang memiliki efektivitas terbaik sebesar 90,44%. Penurunan kadar asam urat yang paling baik dari kelompok ekstrak uji dimiliki kelompok dosis I dengan persentase penurunan 52,99% diikuti dengan kelompok dosis II dan kelompok dosis III dengan persentase penurunan masing-masing 41,94 dan 15,75%.

Apabila dibandingkan dengan kelompok alopurinol sebagai pembanding, kelompok dosis I, dosis II, dosis III memiliki efektivitas masing-masing sebesar 58,59; 46,37; dan 17,42%. Data ini kembali menegaskan bahwa ekstrak sarang semut dosis I, II, dan III belum mampu menandingi kemampuan alopurinol dalam menurunkan kadar asam urat.

Data kadar asam urat yang diperoleh dari setiap kelompok kemudian dianalisis secara statistik. Dilakukan uji *Shapiro-Wilk* untuk menilai normalitas data dan uji *Levene* untuk menilai homogenitas data. Berdasarkan kedua uji tersebut didapatkan data kadar asam urat terdistribusi normal namun tidak homogen. Hal ini disebabkan oleh standar deviasi data yang cukup besar. Oleh karena itu, maka selanjutnya dilakukan uji non parametrik *Kruskal-Wallis* untuk mengetahui adanya perbedaan bermakna dari setiap kelompok perlakuan. Hasil uji non parametrik *Kruskal-Wallis* menunjukkan adanya perbedaan bermakna antar kelompok perlakuan dengan signifikansi  $< 0,05$  (Lampiran 14). Uji non parametrik *Mann-Whitney* dilakukan selanjutnya untuk mengetahui kelompok mana yang memiliki perbedaan bermakna.

Hasil uji non parametrik *Mann-Whitney* menunjukkan bahwa kelompok ekstrak sarang semut dosis I dan II dapat menurunkan kadar asam urat tikus hiperurisemia secara bermakna ( $p < 0,05$ ) namun tidak demikian dengan ekstrak sarang semut dosis III. Ketiga kelompok dosis ekstrak sarang semut tidak dapat menurunkan kadar asam urat tikus hiperurisemia hingga level normal. Dari ketiga kelompok dosis ekstrak sarang semut yang diujikan, kelompok ekstrak dosis I (179 mg/200 g bb) dapat menurunkan kadar asam urat rata-rata pada nilai paling rendah yaitu 1,20 mg/dL meskipun tidak mencapai normal. Alopurinol sebagai

obat pembanding dapat secara bermakna ( $p < 0,05$ ) menurunkan kadar asam urat tikus hingga mencapai hampir normal dengan persentase penurunan kadar asam urat sebesar 90,44% terhadap normal. Namun, menurut hasil uji non parametrik *Mann-Whitney*, alopurinol tidak dapat secara bermakna menurunkan kadar asam urat dibandingkan normal ( $p > 0,05$ ). Meskipun persentase penurunan kadar asam urat antara kelompok ekstrak sarang semut dosis I dan kelompok pembanding berbeda cukup jauh (masing-masing 52,99 dan 90,44%), uji statistik *Mann-Whitney* menyimpulkan bahwa tidak terdapat perbedaan bermakna diantara keduanya ( $p > 0,05$ ). Kedua hal ini dapat disebabkan oleh adanya simpangan deviasi yang cukup besar yang mempengaruhi perhitungan dan pengambilan keputusan (Lampiran 15).

Simpangan deviasi yang besar dapat dipengaruhi oleh faktor biologis tikus yang secara genetik tidak bisa sepenuhnya dikontrol. Akan tetapi, kesalahan juga mungkin terjadi saat induksi, pengambilan darah, dan pelaksanaan analisis kadar asam urat dalam plasma. Penelitian ini sangat bergantung pada reaksi enzimatik yang kecepatannya jauh lebih besar daripada katalisator biasa (Murray, Granner, Mayes, Rodwell, 2003). Hal ini membuat ketepatan interval waktu induksi dengan pengambilan darah menjadi sangat krusial terkait proses inhibisi enzim yang berlangsung. Ketepatan waktu inkubasi pada saat melakukan analisis kadar asam urat juga tidak kalah penting karena reaksi tersebut juga berlangsung secara enzimatik. Ditambah lagi dengan prinsip reaksi analisis secara kolorimetrik yang memang sangat rentan terhadap suhu dan pencahayaan.

Menurut pengujian sebelumnya, umbi sarang semut jenis *Myrmecodia pendens* Merr. & Perry terbukti secara *in vitro* memiliki aktivitas penghambatan xantin oksidase meskipun penelitian secara *in vivo* belum dilakukan (Subroto, Saputro, 2008). Mekanisme yang serupa diduga juga dimiliki oleh sarang semut jenis *Hydnophytum moseleyanum* Becc. dalam menurunkan kadar asam urat, yaitu penghambatan aktivitas xantin oksidase. Hasil penelitian yang didapatkan menunjukkan bahwa ekstrak etanol 70% umbi sarang semut jenis *Hydnophytum moseleyanum* Becc. pada dosis 119 dan 179 mg/200 g bb dapat secara bermakna ( $p < 0,05$ ) menurunkan kadar asam urat tikus putih jantan yang diinduksi kalium oksonat.

Flavonoid merupakan senyawa antioksidan yang terkandung dalam ekstrak sarang semut yang diujikan pada penelitian ini. Daya antioksidan dalam flavonoid dapat mencegah oksidasi xantin dan hipoxantin menjadi asam urat oleh xantin oksidase. Inhibisi terhadap xantin oksidase dapat menurunkan produksi asam urat dalam darah. Akan tetapi, tidak semua jenis flavonoid memiliki aktivitas inhibisi terhadap xantin oksidase. Senyawa flavon dan flavonol seperti luteolin, kamferol, kuersetin dan mirisetin memiliki aktivitas inhibisi xantin oksidase yang kuat dibandingkan jenis flavonoid lainnya (Kobayashi, Seki, & Nagao, 1999). Sampai saat ini belum ada penelitian lebih lanjut terkait penelusuran spesifik dari jenis flavonoid yang terkandung dalam tanaman sarang semut.

Data hasil penelitian yang diperoleh menunjukkan bahwa ekstrak sarang semut (*Hydnophytum moseleyanum* Becc.) dapat menurunkan kadar asam urat pada tikus model hiperurisemia meskipun peningkatan dosis justru berbanding terbalik dengan kemampuannya dalam menurunkan kadar asam urat. Walaupun demikian, penurunan kadar asam urat yang diberikan oleh setiap kelompok dosis ekstrak saling tidak berbeda bermakna secara statistik. Oleh karena keterbatasan penelitian yang hanya menggunakan tiga peringkat dosis ekstrak, pada penelitian ini belum didapatkan dosis ekstrak sarang semut yang secara optimal dapat menurunkan kadar asam urat.

## BAB 5

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### 5.1 Kesimpulan

Pemberian ekstrak etanol 70% umbi sarang semut (*Hydnophytum moseleyanum* Becc.) pada dosis 119 dan 179 mg/200 g bb dapat menurunkan kadar asam urat ( $p < 0,05$ ) tikus putih jantan yang diinduksi kalium oksonat dengan efektivitas masing-masing 58,59 dan 46,37%.

#### 5.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mendapatkan dosis optimal ekstrak sarang semut sebagai anti asam urat melalui penurunan dosis ekstrak. Selain itu, dapat dilakukan penelusuran senyawa spesifik serta mekanismenya dalam menurunkan kadar asam urat dari ekstrak umbi sarang semut (*Hydnophytum moseleyanum* Becc.). Uji toksisitas akut juga perlu dilakukan untuk memberikan informasi tentang keamanan penggunaan ekstrak ini.

## DAFTAR ACUAN

- Alam, S. & Waluyo, S. (2006, Juli). *Papua Menyimpan Beragam Tanaman Obat*. Nirmala, 76-78.
- Andayani, Lisawati, & Maimun. (2008). *Penentuan Aktivitas Antioksidan, Kadar Fenolat Total dan Likopen pada Buah Tomat (Solanum lycopersicum L.)*. Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi, 13(1), 1-9.
- Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia. (2005). *Standardisasi Ekstrak Tumbuhan Obat Indonesia, Salah Satu Tahapan Penting Dalam Pengembangan Obat Asli Indonesia*. Info POM, 6(4), 1-12.
- Brethauer, B. n.d. *Hydnophytum moseleyanum: "The Ant Plant or Ant House Plant"* in *Plant of The Month*. May 20, 2012. <http://colombus-cactus-club.webs.com>
- Chiang, M.H., Tsao, T.H., Chao, L.P.D., & Wen, C.K. (2007). Determination of Anthraquinone Glycosides in Rhei Rhizome, Polygoni Multiflori Radix, and Cassia Torae Semen. *Journal of Food and Drug Analysis*, 15(4), 447-457.
- Chou, P., Lin, K.C., & Tsai, S.T. (2001). Gender Differences in The Relationship of Serum Uric Acid with Fasting Serum Insulin and Plasma Glucose in Patient Without Diabetes. *Journal of Rheumatology*, 28(3), 571-576.
- Darmawan, J., Rasker, J.J., & Nuralim, H. (2003). The Effect of Control and Self-medication of Chronic Gout in A Developing Country: Outcome After 10 Years. *Journal of Rheumatology*, 30, 2437-2443.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (1995). *Materia Medika Indonesia Edisi VI*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia & Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan. (2000). *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Indonesia*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI, 7-38.
- Gad, C. S. (2009). *Drug Safety Evaluation* (2<sup>nd</sup> Ed.). Canada: John Wiley & Sons, Inc., 164-166.
- Ham, M., *et al.*, (2008). A New, Sensitive LC-MS/MS Assay for Quantification of Uric Acid in Urine. *Ned Tijdschr Klin Chem Labgeneesk*, 33,175-176.
- Harborne, J.B. (1996). *Metode fitokimia: Penuntun Cara Mudah Menganalisa Tumbuhan* (Padmawinata, K. & Soediro, I., Penerjemah). Bandung: ITB.
- Harris, D.M., Siegel, B. R., & Alloway, A.J. (1999). Gout and Hyperuricemia. *American Family Physician*, 59(4), 925-934.

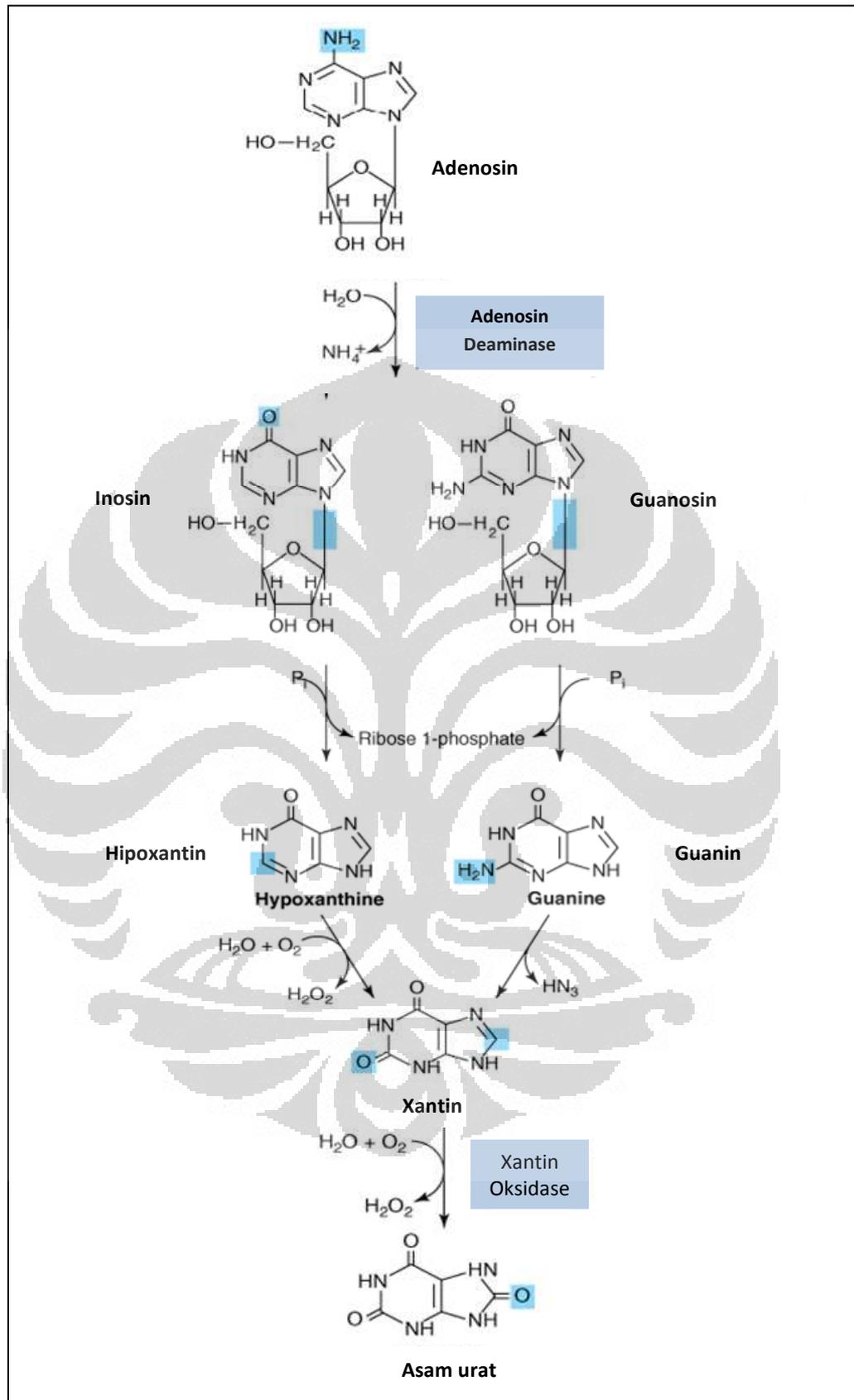
- Hawkins, D.W. & Rahn, D.W. (2005). Gout and Hyperuricemia. In: Dipiro, J.T., Robert, L.T., Gary, C.Y., Barbara, G.W., & L. Michael Posey (Ed.). (2005). *Pharmacotherapy A Pathophysiologic Approach* (6<sup>th</sup> Ed.). USA: The McGraw-Hill Companies, 1705-1710.
- Hegnauer, R. n.d. *Chemical Characters in Plant Taxonomy: Some Possibilities and Limitations*. June 2, 2012. <http://www.iupac.org/publications/pac/pdf/1967/pdf/1401x0173.pdf>
- Hendarsula, R.A. (2011). *Efek Immunostimulan Ekstrak Umbi Sarang Semut (Myrmecodia archboldiana) pada Tikus Putih Jantan*. Skripsi. Departemen Farmasi FMIPA UI.
- Huang, *et al.* (2008). Hypouricemic Effects on Phenylpropanoid Glycosides Acteoside of *Scrophularia ningpoensis* on Serum Uric Acid Levels in Potassium Oxonate Pretreated mice. *The American Journal of Chinese Medicine*, 36(1), 149-157.
- Hoff, S. (2000). Methods of Blood Collection in The Mouse. *Lab Animal*, 50-51.
- James, T.J. & Dubery, A.I. (2009). Pentacyclic Triterpenoids from The Medicinal Herbs, *Centella asiatica* (L.) Urban. *Molecules*, 14, 3922-3941.
- Jebb, M. (2009). A Revision of The Ant-plant Genus *Hydnophytum* (Rubiaceae). *National Botanic Garden Ireland*. June 2, 2012. <http://www.botanicgardens.ie/herb/research/hydnophytum.htm>
- Jelick, S., Milena, P., & Djurdjevic, S. (2003). Determination of Uric Acid in Human Serum by An Enzymatic Method Using N-methyl-N-(4-aminophenyl)-3-methoxyaniline Reagent. *Journal of Serbian Chemistry Society*, 691-698.
- Julian, I. (2008). *Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol 70% Daun Gandarusa (Justicia gendaruss Burm. F)*. Skripsi. Departemen Farmasi FMIPA UI.
- Jusman, A.W.S. & Halim, A., 2009. Oxidative Stress in Liver Tissue of Rats Induced by Chronic Systemic Hypoxia. *Makara Kesehatan*, 13(1), 34-38.
- Katzung, B.G., Masters, S.B., & Trevor, A.J. (2009). *Basic and Clinical Pharmacology* (11<sup>th</sup>.Ed). New York: McGraw-Hill, 818-826.
- Kenneth, G. & Hyon, C. (2006). Epidemiology, Risk Factors, and Lifestyle Modifications for Gout. *Arthritis Reseach & Therapy*, 8, 1-7.
- Kertia, N. (2009). *Asam Urat*. Jakarta: Bentang Pustaka. 34-48.
- Kobayashi, H., Seki, M., & Nagao, A. (1999). Inhibition of Xanthine Oxidase by Flavonoids. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 63(10), 1787-1790.

- Kristina, D. (2008). *Efek Antiinflamasi Ekstrak Etanol Umbi Sarang Semut (Myrmecodia pendens Merr. & Perry) pada Tikus (Ratus norvegicus L.)*. Skripsi. Jurusan Biologi FMIPA Universitas Surakarta.
- Kumar, S.P.K., *et al.* (2012). Recent Trends in Indian Traditional Herbs, Syzygium Aromaticum and Its Health Benefits. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 1(1), 6-16.
- Lok, L.S.F.A & Tan, W.T.H. (2009). Tuberos, Epiphytic, Rubiaceous Myrmecophytes of Singapore. *Nature in Singapore*, 2, 231-236.
- Lopez, A. (2010). Inflammatory Joints Diseases and Tumor of Bones and Joints. June 8, 20012. <http://people.upei.ca/lopez/joints/6-join-infla-tumors.pdf>
- Luo, W., Ang, C.Y., Gehring, T.A., & Lin, L.J. (2003). Determination of Phenolic Compounds in Dietary Supplement and Tea Containing Echinacea by Liquid Chromatography with Colorimetric Electrochemical Detection. *Journal of AOAC International* , 86(2), 202-208.
- Manoi & Feri. (2008). *Warta Penelitian dan Pengembangan Tanaman Industri*, 14(1), 26-30.
- Mazzali, *et al.* (2001). Elevated Uric Acid Increases Blod Pressure in The Rat by A Novel Crystal-Independent Mechanism. *Hypertension*, 35, 1101-1106.
- Murray, K.R., Granner, K.D., Mayes, A.P., & Rodwell, W.V. (2003). Biokimia Harper Edisi 27. Terjemahan dari *Harper Biochemistry* oleh Andy Hartono. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC. 303-301.
- Plumer, N. 2000. Cultivation of The Epiphytic Ant-Plants Hydnohytum and Myrmecodia. *Cactus and Succulent Journal* 72, 142-147.
- Poon, S.H., Hall, Harald, Zimmermann, & Bernard. (2009). Approach to The Treatment of Hyperuricemia. *Medicine & Health Rhode Island*, 92(11), 369-362.
- Price, S.A. & Wilson, L.M. (2006). *Patofisiologi Konsep Klinik Proses-Proses Penyakit* (Brahm Pendit, Huriawati Hartanto, Pita Wulansari, Dewi Maharani, Penerjemah). Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Purwatiningsih, Hakim, R.A., & Purwanti, I. (2010). Antihyperuricemic Activity of The Kepel [*Stelechocarpus burahol* (Bl.) Hool. F. & Th.] Leaves Extract and Xanthine Oxidase Inhibitory Study. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 2(2), 123-127.
- Radox Laboratories, Ltd. (2011).
- Siddiqui, A.J.M, *et al.* (2011). Simultaneous Analysis of Bioactive Markers of *Orthosiphon stamineus* Benth Leaves Extract by Reverse Phase High Performance Liquid Chromatography. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 10(1), 97-103.

- Simanjuntak, P., Fanny, & Subroto, M.A. (2010). *Isolasi Senyawa Aktif dari Ekstrak Hipokotil Sarang Semut (Myrmecodia pendens Merr. & Perry) sebagai Penghambat Xantin Oksidase*. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 8(1), 49-54.
- Smith, J.B. & Mangkoewidjojo, S. (1998). *Pemeliharaan, Pembiakan dan Penggunaan Hewan Percobaan di Daerah Tropis*. Jakarta: Universitas Indonesia, 35-57.
- Soeksmanto, A., Subroto, M. A., Wijaya, H., & Simanjuntak, P. (2010). Anticancer Activity Test for Extract of Sarang Semut Plant (*Myrmecodia pendens*) to HeLa and MCM-B2 Cells. *Pakistan Journal of Biological Science*, 13(3), 148-151.
- Song, E., *et al.* (2009). *Chinchona Alkaloids in Synthesis and Catalysis, Ligands, Immobilization, and Organocatalysis*. Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. ISBN: 978-3-527-32416-3. 1-10.
- Subroto & Saputro. (2008). *Gempur Penyakit dengan Sarang Semut*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Sukardi, Mulyarto, R.A., & Safera, W. (2007). *Optimasi Waktu Ekstraksi Terhadap Kandungan Tanin Pada Bubuk Ekstrak Daun Jambu Biji (Psidium Folium) Serta Biaya Produksinya*. *Jurnal Teknologi Pertanian*, 8(2), 88-94.
- Stockley. (2010). *Stockley's Drug Interactions Pocket Companions*. Baxter, K (Ed.). USA: Pharmaceutical Press.
- The International Plant Name Index. Rubiaceae *Hydnophytum moseleyanum* Becc. May 24, 2012. <http://www.ipni.org>
- Trihendradi, C. (2011). *Langkah Mudah Melakukan Analisis Statistik Menggunakan SPSS 19*. Yogyakarta: Penerbit Andi, 59-65, 169-173.
- Watanabe, S., Kimura, Y., Shindo, K., & Fukui, T. (2006). Effect of Human Placenta Extract on Potassium Oxonate-Induced Elevation of Blood Uric Acid Concentration. *Journal of Health Science*, 52(6), 738-742.
- Wilmana, P.F. & Gunawan, S.G. (2007). Analgesik-antipiretik, Analgesik-antiinflamasi Non-Steroid dan Obat Gangguan Sendi Lainnya. Dalam: Gunawan, G.S., Setiabudy, R., Nafrialdy, dan Elysabeth (Ed.). *Farmakologi dan terapi* (Ed.ke-5). Jakarta: Departemen Farmakologi dan Terapeutik Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, 242-244.
- Wood, J. (1999). Gout and Its Management. *The Pharmaceutical Journal*, 262, 808-811.



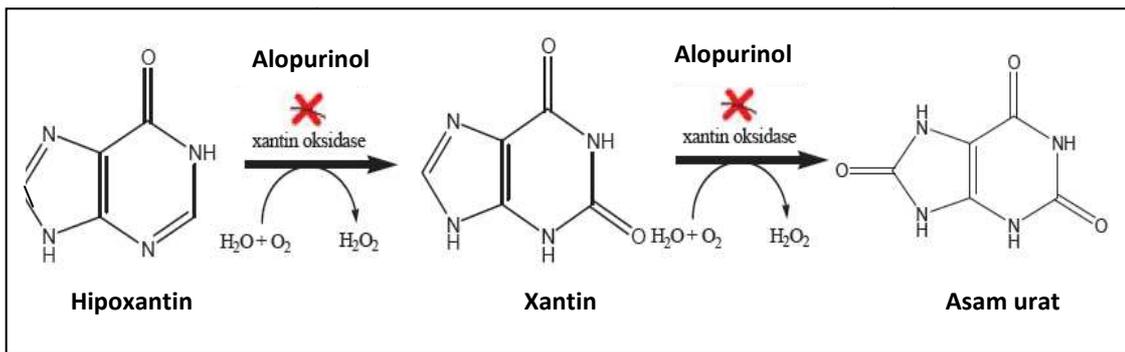
# **GAMBAR**



[sumber: Murray, Granner, Mayes, & Rodwell, 2003, telah diolah kembali]

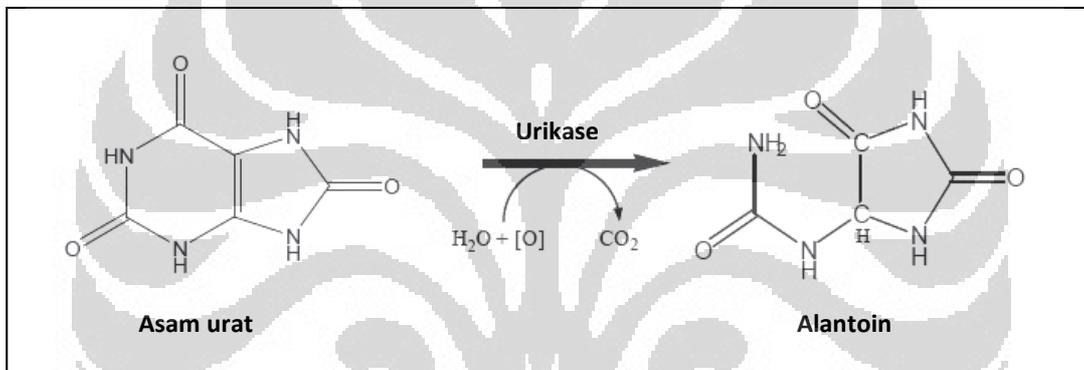
**Gambar 2.1.** Metabolisme purin menjadi asam urat

Universitas Indonesia



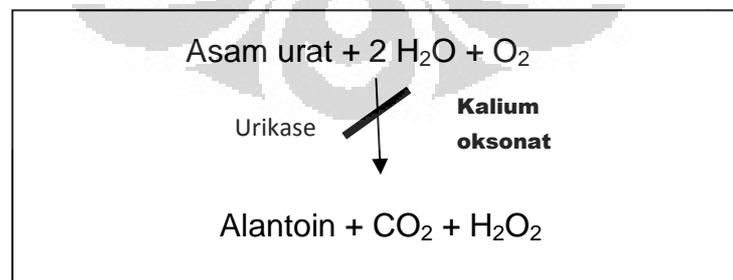
[sumber: Murray, Granner, Mayes, & Rodwell, 2003, telah diolah kembali]

**Gambar 2.2.** Mekanisme kerja allopurinol



[sumber: Murray, Granner, Mayes, & Rodwell, 2003, telah diolah kembali]

**Gambar 2.3.** Metabolisme asam urat menjadi allantoin



[sumber: Mazzali, *et al.*, 2001, telah diolah kembali]

Keterangan :  : menghambat

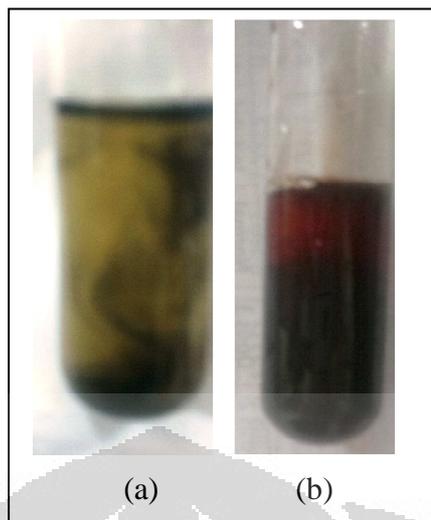
**Gambar 2.4.** Mekanisme kerja kalium oksonat dalam menghambat urikase



**Gambar 3.1.** Tanaman sarang semut (*Hydnophytum moseleyanum* Becc.)

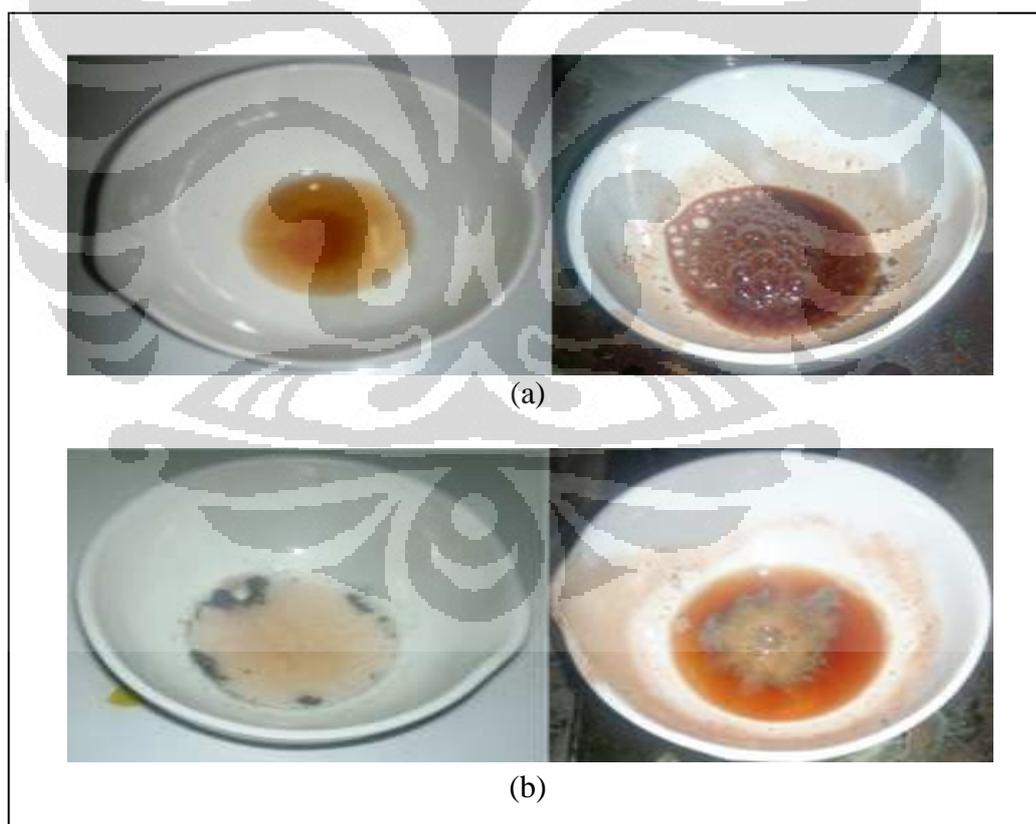


**Gambar 4.1.** Ekstrak etanol 70% umbi sarang semut (*Hydnophytum moseleyanum* Becc.)



Keterangan: (a) = hasil reaksi pembandingan Psidii Folium dengan larutan besi (III) klorida, (b) = hasil reaksi ekstrak sarang semut dengan larutan besi (III) klorida

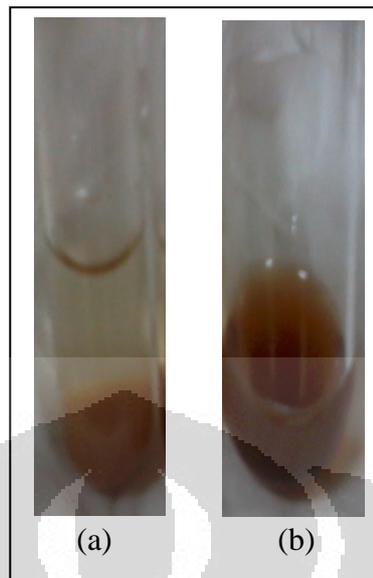
**Gambar 4.2.** Hasil identifikasi fenol dengan larutan besi (III) klorida



Keterangan: (a) = hasil reaksi reduksi logam Mg oleh pembandingan Theae Folium (kiri) dan ekstrak sarang semut (kanan), (b) = hasil reaksi reduksi dengan logam Zn oleh pembandingan Theae Folium (kiri) dan ekstrak sarang semut (kanan)

**Gambar 4.3.** Hasil identifikasi flavonoid

Universitas Indonesia



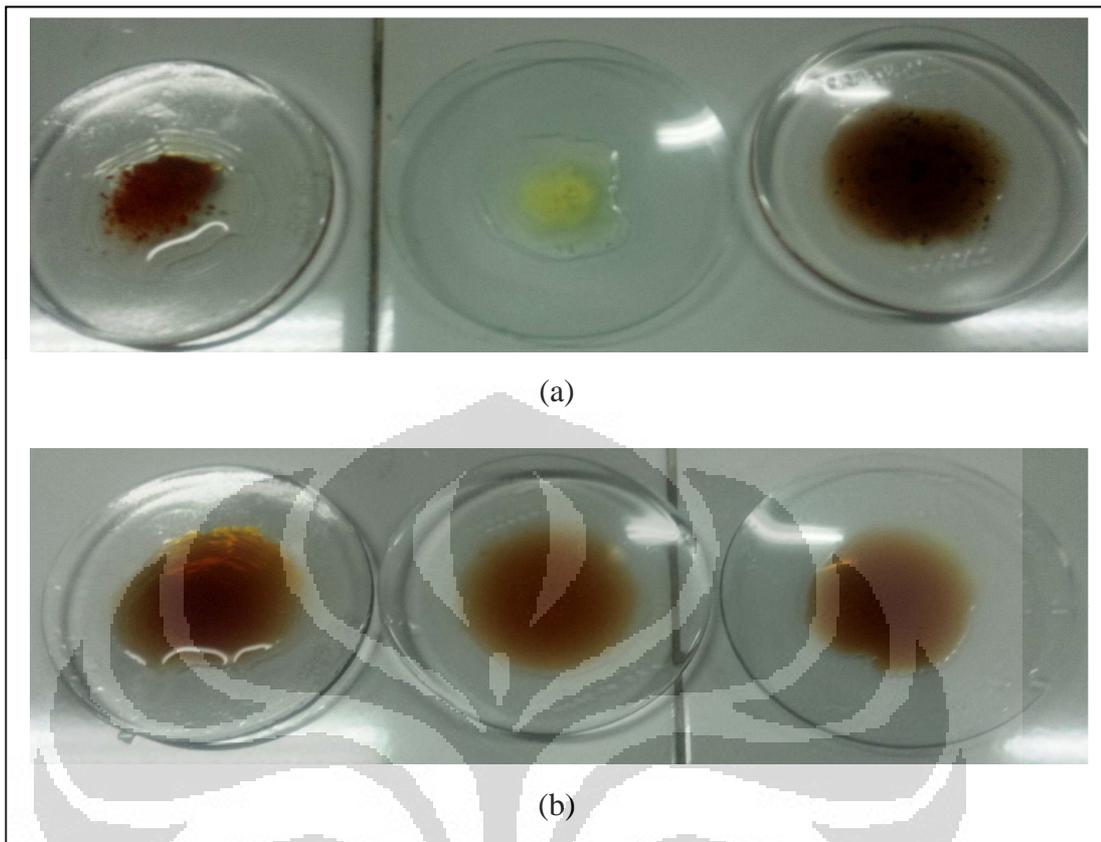
Keterangan: (a) = hasil reaksi pembandingan *Orthosiphon Folium* dengan gelatin, (b) = hasil reaksi ekstrak sarang semut dengan gelatin

**Gambar 4.4.** Hasil identifikasi tanin dengan gelatin



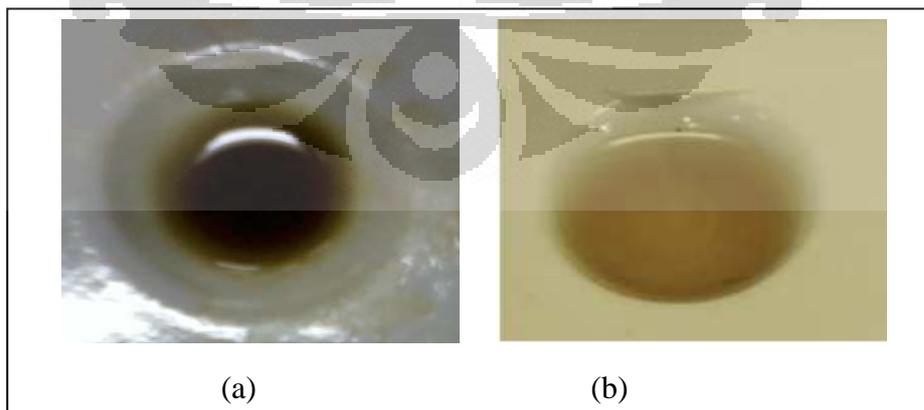
Keterangan: (a) = hasil uji busa dari ekstrak sarang semut, (b) = hasil uji busa dari pembandingan *Orthosiphon Folium*

**Gambar 4.5.** Hasil identifikasi saponin dengan uji busa



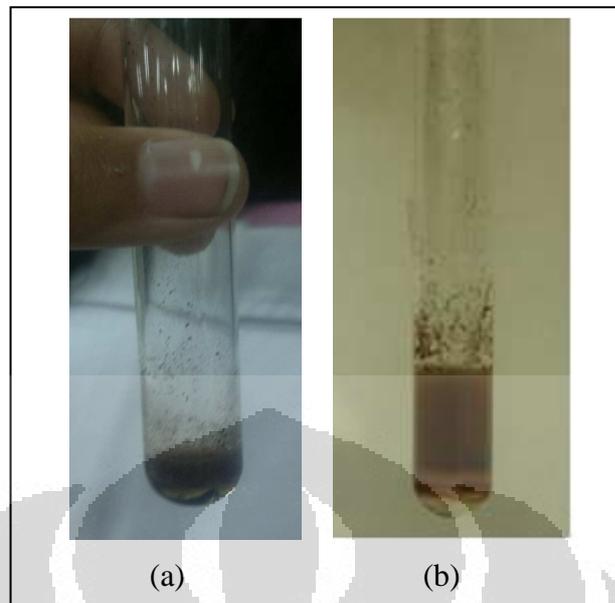
Keterangan: (a) = hasil reaksi perbandingan Kinin HCl dengan (dari kiri ke kanan) pereaksi Dragendorff, pereaksi Mayer, dan pereaksi Bouchardat, (b) = hasil reaksi ekstrak sarang semut dengan (dari kiri ke kanan) pereaksi Dragendorff, pereaksi Mayer, dan pereaksi Bouchardat

**Gambar 4.6.** Hasil identifikasi alkaloid



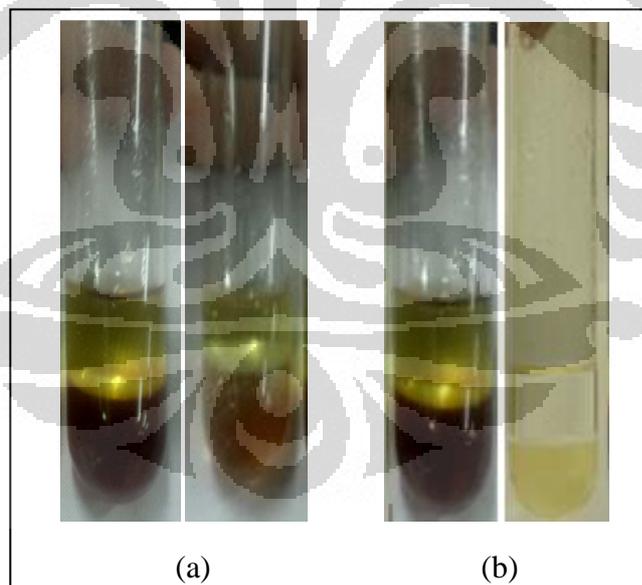
Keterangan: (a) = hasil reaksi Liebermann Burchard dengan perbandingan Caryophylli Flos, (b) = hasil reaksi Liebermann Burchard dengan ekstrak sarang semut

**Gambar 4.7.** Hasil identifikasi terpen (Reaksi Liebermann Burchard)



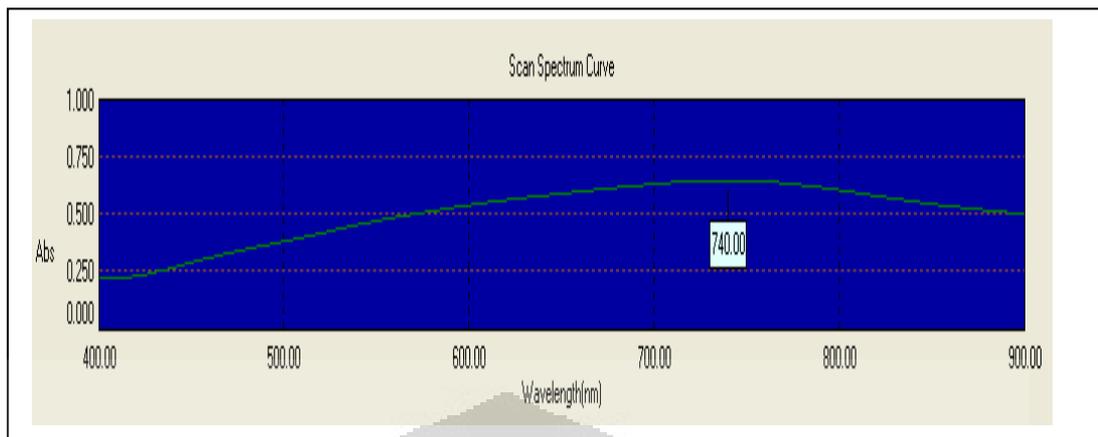
Keterangan : (a) = hasil reaksi Molisch dengan pembanding Centella Herba, (b) = hasil reaksi Molisch dengan ekstrak sarang semut

**Gambar 4.8** Hasil identifikasi karbohidrat (Reaksi Molisch)

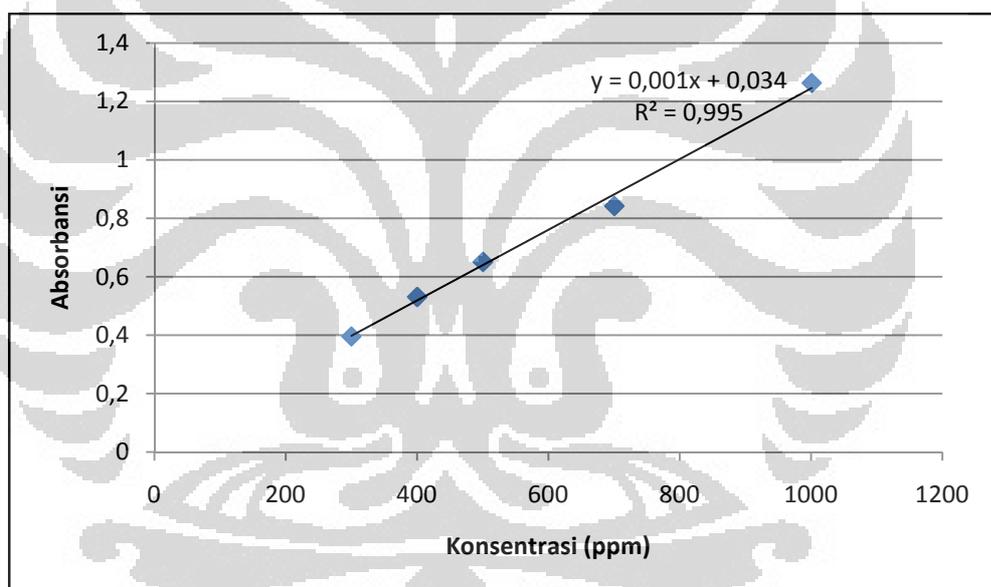


Keterangan: (a) = hasil test Borntrager termodifikasi dengan pembanding Rhei Radix (dari kiri ke kanan) sebelum dan sesudah penambahan amonia, (b) = hasil test Borntrager termodifikasi dengan ekstrak sarang semut (dari kiri ke kanan) sebelum dan sesudah penambahan amonia

**Gambar 4.9.** Hasil identifikasi glikosida antrakinon  
(Test Borntrager termodifikasi)



**Gambar 4.10.** Spektrum serapan standar asam galat 500 ppm



**Gambar 4.11.** Kurva kalibrasi standar asam galat pada berbagai konsentrasi



**Tabel 4.1.** Rendemen ekstrak sarang semut

Berat serbuk (g)	Berat ekstrak (g)	Rendemen (%)	Rata-rata (%)
500	182,7	36,53	34,73
400	131,7	32,93	

**Tabel 4.2.** Penapisan fitokimia ekstrak sarang semut

No.	Identifikasi	Reaksi	Hasil	Keterangan
1.	Fenol	Besi (III) Klorida	+	Terbentuk warna hitam
2.	Flavonoid	Reduksi Zn	+	Terbentuk warna merah
		Reduksi Mg	+	Terbentuk warna merah
3.	Tanin	Gelatin	+	Terbentuk endapan
3.	Saponin	Uji Busa	+	Terbentuk busa stabil 1,3 cm bahkan pada penambahan HCl 2 N
4.	Alkaloid	Dragendorff	-	Tidak ada endapan merah bata
		Mayer	-	Tidak ada endapan putih
		Bouchardat	-	Tidak ada endapan coklat hitam
5.	Terpen	Liebermann-Buchard	-	Warna larutan coklat jernih
6.	Glikosida	Molisch (Karbohidrat)	+	Terbentuk cincin ungu
		Borntrager termodifikasi (Antrakininon)	-	Tidak terbentuk warna merah pada lapisan air

**Tabel 4.3.** Susut pengeringan ekstrak sarang semut

Berat ekstrak awal (g)	Berat ekstrak akhir (g)	Susut pengeringan (%)	Rata-rata $\pm$ SD (%)
1,0479	0,6685	36,21	37,80 $\pm$ 0,58
1,0479	0,6619	36,84	
1,0166	0,6491	37,36	

**Tabel 4.4.** Kadar abu total dalam ekstrak sarang semut

Berat ekstrak awal (g)	Bobot residu akhir (g)	Kadar abu total (%)	Rata-rata $\pm$ SD (%)
2,0130	0,0730	10,44	9,89 $\pm$ 0,78
2,0521	0,0665	9,33	

**Tabel 4.5.** Kadar abu yang tidak larut asam dalam ekstrak sarang semut

Bobot residu akhir (g)	Kadar abu tidak larut asam (%)	Rata-rata $\pm$ SD (%)
0,0063	0,90	0,46 $\pm$ 0,63
0,0001	0,01	

**Tabel 4.6.** Kadar total fenolat dalam ekstrak sarang semut

Kadar Total Fenolat*	Rata-rata $\pm$ SD*
526,66	513,33 $\pm$ 12,02
503,33	
510,00	

\*dinyatakan sebagai mg ekivalen asam galat per gram ekstrak

**Tabel 4.7.** Kadar asam urat tikus pada optimasi dosis kalium oksonat

No.	Kelompok	Kadar Asam Urat ( $\mu\text{g/dL}$ )	Rata-rata $\pm$ SD ( $\mu\text{g/dL}$ )
1.	I	4,73 4,48 4,38	$4,53 \pm 0,18$
2.	II	4,77 4,87 4,22	$4,62 \pm 0,35$
3.	III	1,23 1,01 0,97	$1,07 \pm 0,14$

Keterangan: Kelompok I diberikan kalium oksonat 50 mg/200 g bb, kelompok II diberikan kalium oksonat 62,5 mg/200 g bb, kelompok III (normal) diberikan plasebo CMC 0,5%. Setiap sediaan dibuat dalam bentuk tersuspensi dalam CMC 0,5%. Masing-kelompok perlakuan terdiri dari 3 ekor tikus.

**Tabel 4.8.** Kadar asam urat tikus pada optimasi dosis ekstrak

No.	Kelompok	Kadar asam urat ( $\mu\text{g/dL}$ )	Rata-rata $\pm$ SD ( $\mu\text{g/dL}$ )
1.	I	2,95 2,68 1,93	2,52 $\pm$ 0,58
2.	II	5,32 4,78	5,05 $\pm$ 0,38
3.	III	0,27 0,44 0,30	0,34 $\pm$ 0,09
4.	IV	0,64 1,01 0,48	0,71 $\pm$ 0,28

Keterangan: Kelompok I dan II diberikan ekstrak sarang semut pada dosis berturut-turut: 179 dan 368 mg/200 g bb, kelompok III (normal) diberikan plasebo CMC 0,5%, kelompok IV diberikan alopurinol 36 mg/200 g bb sebagai pembanding. Pada hari kedelapan, setiap kelompok kecuali kelompok normal diinduksi secara intraperitoneal dengan kalium oksonat 50 mg/200 g bb. Semua sediaan dibuat dalam bentuk tersuspensi dalam CMC 0,5%. Masing-masing kelompok perlakuan terdiri dari 3 ekor tikus. Satu tikus percobaan pada kelompok II mati.

**Tabel 4.9.** Kadar asam urat tikus pada uji sebenarnya

No.	Kelompok	Kadar asam urat ( $\mu\text{g/dL}$ )	Rata-rata $\pm$ SD ( $\mu\text{g/dL}$ )
1.	I	1,59 1,92 1,54 0,62 0,34	$1,20 \pm 0,68$
2.	II	0,97 1,14 1,23 1,43 2,27	$1,41 \pm 0,51$
3.	III	1,97 1,11 1,46 1,49 3,47	$1,90 \pm 0,93$
4.	IV	0,26 0,36 0,29 0,46 0,21	$0,32 \pm 0,09$
5.	V	2,34 2,53 2,34 1,94 1,85	$2,20 \pm 0,29$
6.	VI	0,47 0,42 0,55 0,351 0,68	$0,50 \pm 0,13$

Keterangan: Kelompok I, II, dan III diberikan ekstrak sarang semut pada dosis berturut-turut: 119, 179, dan 267 mg/200 g bb, kelompok IV (normal) dan kelompok V (induksi) diberikan plasebo CMC 0,5%, kelompok VI diberikan alopurinol 36 mg/200 g bb sebagai pembanding. Pada hari kedelapan, setiap kelompok kecuali kelompok normal diinduksi secara intraperitoneal dengan kalium oksonat 50 mg/200 g bb. Semua sediaan dibuat dalam bentuk tersuspensi dalam CMC 0,5%.



# LAMPIRAN

## Lampiran 1. Data Determinasi Tanaman Sarang Semut



**LEMBAGA ILMU PENGETAHUAN INDONESIA**  
**( Indonesian Institute of Sciences )**  
**PUSAT PENELITIAN BIOLOGI**  
**( Research Center for Biology )**  
 Jl. Raya Jakarta - Bogor Km. 46 Cibinong 16911, Indonesia P.O Box 25 Cibinong  
 Telp. (021) 87907636 - 87907604 Fax. 87907612

---

Cibinong, <sup>11</sup> Mei 2012

Nomor : 791 /IPH.1.02/If.8/V/2012  
 Lampiran : -  
 Perihal : Hasil identifikasi/determinasi Tumbuhan

Kepada Yth.  
 Bpk./Ibu/Sdr(i), Yiska Nathasa  
 Mhs. Univ. Indonesia

Dengan hormat,

Bersama ini kami sampaikan hasil identifikasi/determinasi tumbuhan yang Saudara kirimkan ke "Herbarium Bogoriense", Bidang Botani Pusat Penelitian Biologi-LIPI Bogor, adalah sebagai berikut :

No.	No. Kol.	Jenis	Suku
1	Sarang Semut	<i>Hydnophytum moseleyanum</i> Becc.	Rubiaceae

Demikian, semoga berguna bagi Saudara.

Kepala Bidang Botani  
 Pusat Penelitian Biologi-LIPI,  
  
 Dr. Joeni Setijoe Rahajoe  
 NIP. 196706241993032004

  
 PUSAT PENELITIAN BIOLOGI  
 LIPI

D:\Ident 2012\Yiska Nathasa.doc\IS-DG

Page 1 of 1

**Lampiran 2. Sertifikat Tikus Galur *Sprague Dawley***



**BAGIAN PRODUKSI TERNAK DAGING KERJA DAN ANEKA TERNAK  
DEPARTEMEN ILMU PRODUKSI DAN TEKNOLOGI PETERNAKAN  
FAKULTAS PETERNAKAN  
INSTITUT PERTANIAN BOGOR**

---

Sekretariat : Jl. Agatis, Kampus IPB, Dramaga, Bogor 16680  
Telepon : (0251) 8624774, Fax. (0251) 8624774

---

**SURAT KETERANGAN**

Yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Dr. Ir. Asnath M. Fuah, MS

Jabatan : Kepala Bagian Produksi Ternak Daging Kerja dan Aneka Ternak

Alamat : Jl. Agatis Kampus IPB Darmaga-Bogor  
Telp. 0251-8624774, Fax. 0251-8624774

Menyatakan bahwa tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain *sprague dawley* (SD) yang dikembangkan di Laboratorium Aneka Ternak, Fakultas Peternakan IPB, Telah memenuhi syarat sebagai hewan uji untuk penelitian atau kegiatan praktikum.

Demikian surat keterangan ini dibuat dengan sebenar-benarnya.

Bogor, 8 maret 2012

Kepala Bagian  
Produksi Ternak Daging, Kerja dan Aneka Ternak




Dr. Ir. Asnath M. Fuah, MS  
NIP. 195410151979032001

### Lampiran 3. Sertifikat Analisis Alopurinol



Plant Bandung

#### LAPORAN ANALISA BAHAN BAKU

Nama Bahan Baku : <b>ALLOPURINOLUM</b>	No. Batch :20110304 Exp. Date :24-03-2015	Kode Dok. : FQC-01-0022/00 Tgl. Berlaku : 26 Juli 2010
---	--	---

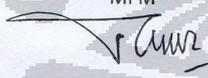
Kode Bahan :3012010 Origin :Nanjing - China No. LA :B110626 No. SP :P113161	Supplier :PT Parit Padang Tgl. Sampling :23-06-2011 Tgl. Selesai :12-07-2011	Jumlah :325 Kg Pemeriksa :Bambang No. BTBS :B110626
--	--	---

No.	PEMERIKSAAN	SPESIFIKASI	HASIL
1	Pemerian (R)	Serbuk hablur warna putih hingga hampir putih, berbau lemah	Serbuk hablur warna putih, berbau lemah.
2	Kelarutan	Sangat sukar larut dalam air dan etanol, larut dalam kalium dan natrium hidroksida, praktis tidak larut dalam kloroform dan eter	Sesuai
3	Identifikasi (R)	a. Terbentuk endapan kuning. b. Serapan maksimum pd panjang gelombang 250 nm $\pm$ 1,1	Sesuai
4	Kejernihan dan warna larutan	Larutan jernih, warna tidak lebih kuat dari larutan pembanding Y <sub>6</sub> atau GY <sub>6</sub>	Sesuai
5	Susut pengeringan (R)	Tidak lebih dari 0,5%	0,01%
6	Kadar abu sulfat	Tidak lebih dari 0,1%	0,05%
7	Logam berat	Tidak lebih dari 20 bpj	Sesuai
8	Kadar dihitung terhadap zat anhidrat (R)	Antara 98,0% dan 101,0%	100,21%

Pustaka : BP 1993, USP 32

Kesimpulan : Memenuhi Syarat

Bandung,, 13 Juli 2011

Penanggung Jawab : MPM  (Dra. Titin Supiamah)	AMPM  (Dra. Endang Widiastruti)
---	--

Jl. Pajajaran No. 29 -31  
 Bandung 40171  
 Halaman 1 dari 1  
 Indonesia  
 Telp. (022) 4204043, 4204044  
 Fax. (022) 4237079  
 Plantbdg@bdg.centrin.net.id

**Lampiran 4.** Komposisi Pereaksi Asam Urat (Randox®)

1. Dapar	
Dapar Hepes	50 mmol/L; pH 7,0
Asam 3,5-dikloro-2-hidroksilbensulfonat	4 mmol/L
2. Reagen Enzim	
4-Aminofenazon	0,25 mmol/L
Peroksidase	≥ 1000 UI/L
Urikase	≥ 200 UI/L
3. Standar asam urat	595 μmol/L (10 mg/dL)

**Lampiran 5.** Perhitungan Susut Pengeringan Ekstrak Umbi Sarang Semut

$$\frac{\text{Bobot ekstrak awal} - \text{Bobot ekstrak}}{\text{Bobot ekstrak awal}} \times 100 \%$$

Susut pengeringan sampel 1

$$= \frac{1,0479 - 0,6685}{1,0479} \times 100 \%$$

$$= 36,21 \%$$

Susut pengeringan sampel 2

$$= \frac{1,0479 - 0,6619}{1,0479} \times 100 \%$$

$$= 36,84 \%$$

Susut pengeringan sampel 3

$$= \frac{1,0166 - 0,6491}{1,0166} \times 100 \%$$

$$= 37,36 \%$$

### Lampiran 6. Perhitungan Kadar Abu Total Dalam Ekstrak Umbi Sarang Semut

$$\frac{\text{Bobot residu akhir}}{\text{Bobot simplisia}^*} \times 100 \%$$

\*Bobot simplisia didapatkan dari bobot ekstrak awal dikali rendemen ekstrak 34,73%

Kadar abu total sampel 1

$$= \frac{0,0730}{0,6991} \times 100 \%$$

$$= 10,44 \%$$

Kadar abu total sampel 2

$$= \frac{0,0665}{0,7127} \times 100 \%$$

$$= 9,33 \%$$

### Lampiran 7. Perhitungan Kadar Abu Tidak Larut Asam Dalam Umbi Sarang Semut

$$\frac{\text{Bobot residu tidak larut asam}}{\text{Bobot simplisia}^*} \times 100 \%$$

\*Bobot simplisia didapatkan dari bobot ekstrak awal dikali rendemen ekstrak 34,73%

Kadar abu tidak larut asam sampel 1

$$= \frac{0,0063}{0,6991} \times 100 \%$$

$$= 0,90 \%$$

Kadar abu total sampel 2

$$= \frac{0,0001}{0,7127} \times 100 \%$$

$$= 0,01 \%$$

### Lampiran 8. Perhitungan Kadar Total Fenolat Ekstrak Sarang Semut

Hasil optimasi menunjukkan bahwa standar asam galat memberikan serapan maksimum pada panjang gelombang 740 nm. Berikut ini adalah persamaan kurva kalibrasi standar asam galat pada berbagai konsentrasi:

$$y = 0,001x + 0,034$$

dengan  $y$  = nilai serapan dan  $x$  = konsentrasi asam galat.

Karena larutan sampel yang dianalisis berasal dari larutan ekstrak dengan konsentrasi 0,03 g/mL, maka total senyawa fenolat yang terkandung dalam sampel adalah nilai kadar total fenol hasil analisis (mg/mL) dibagi dengan konsentrasi ekstrak awal 0,03 g/mL sehingga didapatkan nilai kadar total fenolat yang ekuivalen dengan 1 mg asam galat per gram ekstrak.

Kadar total fenolat sampel 1

$$= \frac{15800 \text{ mg/mL}}{0,03 \text{ g/mL}} = 526,66 \text{ mg ekuivalen asam galat per gram ekstrak}$$

Kadar total fenolat sampel 2

$$= \frac{15100 \text{ mg/mL}}{0,03 \text{ g/mL}} = 503,33 \text{ mg ekuivalen asam galat per gram ekstrak}$$

Kadar total fenolat sampel 3

$$= \frac{15300 \text{ mg/mL}}{0,03 \text{ g/mL}} = 510,00 \text{ mg ekuivalen asam galat per gram ekstrak}$$

### Lampiran 9. Penetapan Dosis Alopurinol

Dosis Alopurinol untuk manusia sebesar 200 mg/hari dikonversi kepada dosis tikus dengan juga menyertakan faktor konversi dari manusia ke tikus sebesar 0,018 dan faktor farmakokinetika sebesar 10.

Penetapan dosis Allopurinol =  $200 \text{ mg} \times 0,018 \times 10 = 36 \text{ mg}$

Dengan demikian, digunakan dosis alopurinol sebesar 36 mg/200g bb.

### Lampiran 10. Penetapan Dosis Ekstrak Umbi Sarang Semut

Dosis empiris penggunaan umbi sarang semut oleh masyarakat untuk pencegahan berbagai macam penyakit termasuk asam urat adalah 20 gram per minggu atau 2,86 gram per hari. Sama seperti pada penetapan dosis alopurinol, penetapan dosis ekstrak didapatkan dengan mengalikan dosis ekstrak untuk manusia dengan faktor konversi untuk tikus sebesar 0,018 dan faktor farmakokinetika sebesar 10 serta rendemen ekstrak sebesar 34,73%. Berdasarkan hasil perhitungan tersebut didapatkan dosis ekstrak untuk tikus sebesar 179 mg/200g bb. Dosis ini dijadikan dosis I pada uji pendahuluan dosis ekstrak diikuti dosis II yang merupakan kelipatan dua dari dosis I.

Dosis ekstrak etanol umbi sarang semut :

$$\text{Dosis I} = 20 \text{ g} : 7 \text{ hari} \times 0,018 \times 10 \times 34,73\% = 179 \text{ mg}/200\text{g bb}$$

$$\text{Dosis II} = 2 \times \text{Dosis I} = 358 \text{ mg}/200\text{g bb}$$

Hasil uji pendahuluan dosis ekstrak menunjukkan bahwa hanya dosis I yang dapat menurunkan kadar asam urat pada tikus. Dengan demikian, pada uji sesungguhnya digunakan dosis ekstrak 179 mg/200g bb sebagai dosis II, dimana dosis I merupakan 2/3 kali dosis II dan dosis III merupakan 3/2 kali dosis II. Berikut ini adalah penetapan dosis ekstrak yang digunakan pada uji sebenarnya :

$$\text{Dosis I} = \frac{2}{3} \times 179 \text{ mg}/200\text{g bb} = 119 \text{ mg}/200\text{g bb}$$

$$\text{Dosis II} = 179 \text{ mg}/200\text{g bb}$$

$$\text{Dosis III} = \frac{3}{2} \times 179 \text{ mg}/200\text{g bb} = 267 \text{ mg}/200\text{g bb}$$

### Lampiran 11. Pembuatan Sediaan Uji

Semua sediaan uji diberikan dalam volume 3 mL/200 g bb tikus dimana setiap sediaan ekstrak maupun pembanding alopurinol diberikan dalam bentuk tersuspensi dalam CMC 0,5%.

Karena setiap kelompok terdiri dari 5 ekor tikus, maka setiap sediaan dibuat dalam volume minimal  $5 \times 3 \text{ mL} = 15 \text{ mL}$ . Dalam prakteknya, setiap hari dibuat sediaan dengan volume 20 mL.

Berikut ini adalah jumlah penimbangan setiap bahan uji :

Ekstrak dosis I	: $119 \text{ mg}/3 \text{ mL} \times 20 \text{ mL} = 793 \text{ mg}$
Ekstrak dosis II	: $179 \text{ mg}/3 \text{ mL} \times 20 \text{ mL} = 1193 \text{ mg}$
Ekstrak dosis III	: $267 \text{ mg}/3 \text{ mL} \times 20 \text{ mL} = 1780 \text{ mg}$
Pembanding Allopurinol	: $36 \text{ mg}/3 \text{ mL} \times 20 \text{ mL} = 240 \text{ mg}$

Setiap bahan uji yang ditimbang kemudian disuspensikan ke dalam CMC 0,5% hingga volume akhir 20 mL. Pada setiap harinya dilakukan pemberian sediaan uji pada 6 kelompok perlakuan, maka dibutuhkan minimal  $6 \times 20 \text{ mL} = 120 \text{ mL}$  CMC 0,5%. Untuk itu, dibuat larutan CMC 0,5% sebanyak 150 mL setiap harinya. Pembuatan CMC 0,5% dilakukan dengan menimbang 750 mg serbuk CMC dan menaburkannya pada aquadest suhu  $60-70^{\circ}\text{C}$  dalam lumpang hangat lalu didiamkan selama kurang lebih 15 menit hingga CMC mengembang. Kemudian larutan kental yang terbentuk digerus hingga homogen dan ditambahkan akuades hingga volume 150 mL.

Kalium oksonat sebagai penginduksi hiperurisemia juga dibuat dalam bentuk tersuspensi dalam CMC 0,5% dengan volume pemberian 2 mL/200 g bb. Karena dosis yang digunakan adalah 50 mg/200 g bb maka dibuat sediaan dengan konsentrasi 25 mg/mL.

**Lampiran 12.** Perhitungan Persentase Penurunan Kadar Asam Urat Kelompok Perlakuan Terhadap Kelompok Normal

$$\frac{\text{Kadar induksi} - \text{kadar sampel}}{\text{Kadar induksi} - \text{kadar normal}} \times 100 \%$$

Penurunan kadar asam urat kelompok ekstrak dosis I terhadap normal

$$= \frac{2,20 - 1,20}{2,20 - 0,32} \times 100 \%$$

$$= 52,99 \%$$

Penurunan kadar asam urat kelompok ekstrak dosis II terhadap normal

$$= \frac{2,20 - 1,41}{2,20 - 0,32} \times 100 \%$$

$$= 41,94 \%$$

Penurunan kadar asam urat kelompok ekstrak dosis III terhadap normal

$$= \frac{2,20 - 1,90}{2,20 - 0,32} \times 100 \%$$

$$= 15,75 \%$$

Penurunan kadar asam urat kelompok pembanding (alopurinol) terhadap normal

$$= \frac{2,20 - 0,50}{2,20 - 0,32} \times 100 \%$$

$$= 90,44 \%$$

**Lampiran 13.** Perhitungan Efektivitas Penurunan Kadar Asam Urat Kelompok Dosis Ekstrak Terhadap Kelompok Alopurinol Sebagai Pembanding

$$\frac{\text{Kadar induksi} - \text{kadar sampel}}{\text{Kadar induksi} - \text{kadar pembanding}} \times 100 \%$$

Efektivitas penurunan kadar asam urat kelompok ekstrak dosis I terhadap kelompok pembanding

$$\begin{aligned} &= \frac{2,20 - 1,20}{2,20 - 0,50} \times 100 \% \\ &= 58,59 \% \end{aligned}$$

Efektivitas penurunan kadar asam urat kelompok ekstrak dosis II terhadap kelompok pembanding

$$\begin{aligned} &= \frac{2,20 - 1,41}{2,20 - 0,50} \times 100 \% \\ &= 46,37 \% \end{aligned}$$

Efektivitas penurunan kadar asam urat kelompok ekstrak dosis III terhadap kelompok pembanding

$$\begin{aligned} &= \frac{2,20 - 1,90}{2,20 - 0,50} \times 100 \% \\ &= 17,42 \% \end{aligned}$$

**Lampiran 14.** Uji Normalitas, Homogenitas dan *Kruskal-Walis* Terhadap Data Kadar Asam Urat Setiap Kelompok Perlakuan

Pengambilan kesimpulan :

Jika nilai signifikansi  $\geq 0,05$ , maka  $H_0$  diterima

Jika nilai signifikansi  $< 0,05$ , maka  $H_0$  ditolak

Jenis Uji Statistik	Tujuan	Hipotesis	Nilai signifikansi	Kesimpulan
Uji normalitas <i>Shapiro-Wilk</i>	Menguji normalitas data	$H_0$ = data terdistribusi normal $H_a$ = data tidak terdistribusi normal	0,326 0,159 0,135 0,799 0,354 0,841	Data terdistribusi normal
Uji homogenitas <i>Levene</i>	Menguji homogenitas data	$H_0$ = data homogen $H_a$ = data tidak homogen	0,015	Data tidak homogen
Uji <i>Kruskal-Walis</i>	Menguji adanya perbedaan antar kelompok perlakuan	$H_0$ = tidak ada perbedaan bermakna antar kelompok $H_a$ = ada perbedaan bermakna antar kelompok	0,001	Ada perbedaan bermakna antar kelompok perlakuan

**Lampiran 15.** Uji Statistik *Mann-Whitney* Terhadap Data Kadar Asam Urat Antara Setiap Kelompok Perlakuan

Tujuan : Mengetahui ada atau tidaknya perbedaan bermakna dari data kadar asam urat antara setiap kelompok perlakuan

Hipotesis :  $H_0$  = data kadar asam urat antara kelompok perlakuan tidak berbeda secara bermakna

$H_a$  = data kadar asam urat antara kelompok perlakuan berbeda secara bermakna

Pengambilan kesimpulan :

Jika nilai signifikansi  $\geq 0,05$ , maka  $H_0$  diterima

Jika nilai signifikansi  $< 0,05$ , maka  $H_0$  ditolak

Pengujian di antara kelompok	Nilai signifikansi	Kesimpulan
I dan II	0,917	Tidak berbeda secara bermakna
I dan III	0,465	Tidak berbeda secara bermakna
I dan IV	0,028	Berbeda secara bermakna
I dan V	0,016	Berbeda secara bermakna
I dan VI	0,175	Tidak berbeda secara bermakna
II dan III	0,251	Tidak berbeda secara bermakna
II dan IV	0,009	Berbeda secara bermakna
II dan V	0,028	Berbeda secara bermakna
II dan VI	0,009	Berbeda secara bermakna
III dan IV	0,009	Berbeda secara bermakna
III dan V	0,249	Tidak berbeda secara bermakna
III dan VI	0,009	Berbeda secara bermakna
IV dan V	0,009	Berbeda secara bermakna
IV dan VI	0,036	Tidak berbeda secara bermakna
V dan VI	0,009	Berbeda secara bermakna

Keterangan: Kelompok I, II, dan III diberikan ekstrak sarang semut pada dosis berturut-turut: 119, 179, dan 267 mg/200 g bb, kelompok IV adalah kelompok normal, kelompok V adalah kelompok induksi, kelompok VI diberikan alopurinol 36 mg/200 g bb sebagai pembanding.