



ANTIHYPERURISEMIA ACTIVITY OF ETHANOL EXTRACT OF (*PANDANUS AMARYLLIFOLIUS* ROXB.) LEAVES ON HYPERURICEMIC MALE MICE

Novia Sinata*, Rahma Dona, Muthui'ah

Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Riau
Jl.Kamboja, Kel. Simpang Baru, Kec.Tampan, Kota Pekanbaru, Riau 28289,
Indonesia

*Corresponding author: Novia Sinata (noviasinata@stifar-riau.ac.id)

ARTICLE HISTORY

Received: 15 June 2021

Revised: 14 July 2022

Accepted: 27 July 2022

Abstract

Hyperuricemia is a condition where the uric acid blood levels in excess of normal levels. Hyperuricemia can result from increased production or decreased excretion of uric acid, or a combination of both. Uric acid is the end product of purine degradation in the body. Gout is an acute inflammatory disorder characterized by swelling of the joints usually associated with a high serum uric acid level (hyperuricemia). One of the plants that can be used as a traditional medicine for hyperuricemia is the pandan wangi leaves (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.). The study was conducted to evaluate the antihyperuricemia activity of ethanol extract of pandan wangi leaves on hyperuricemic male mice. Thirty mice were divided into six groups, namely normal control group, negative control group (given beef liver juice 0.6 ml/20gBB), a positive control group (allopurinol 13 mg/kgBW), extract dose of 200 mg/kgBW, extract dose of 400 mg/kgBW and extract dose of 800 mg/kgBW. Hyperuricemia was induced by using high purine diet food (MDPT) fresh beef liver juice. Measurement of blood uric acid levels were measured by using the method of POCT (Point of Care Testing) using the EasyTouch® GCU digital tool. Observations, showed that ethanol extract of pandan wangi leaves dose of 200mg/kgBW, 400mg/kgBW and 800 mg/kgBW gave antihyperuricemia activity significantly reduced blood uric acid levels in male mice ($P < 0.05$). The potency of the ethanolic extract of pandan wangi leaves at a dose of 400 mg/kgBW and 800 mg/kgBW is equivalent to allopurinol at a dose of 13 mg/kgBW in reducing uric acid levels in hyperuricemic mice ($P > 0,05$).

Key words: allopurinol, gout, hyperuricemic, pandan wangi

AKTIVITAS ANTIHIPERURISEMIA EKTRAK ETANOL DAUN PANDAN WANGI (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) PADA MENCIT JANTAN HIPERURISEMIA

Abstrak

Hiperurisemia adalah peningkatan kadar asam urat darah di atas normal. Hiperurisemia terjadi akibat meningkatnya produksi atau menurunnya pembuangan asam urat, atau kombinasi keduanya. Asam urat merupakan hasil akhir metabolisme purin dalam tubuh. Penyakit gout merupakan gangguan inflamasi akut yang ditandai dengan pembengkakan pada sendi disebabkan kadar asam urat yang tinggi (hiperurisemia). Salah satu tanaman yang dapat digunakan sebagai obat tradisional untuk hiperurisemia adalah daun pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.). Tujuan penelitian ini untuk mengetahui aktivitas antihiperurisemia ekstrak etanol dari daun pandan wangi terhadap kadar asam urat darah mencit jantan hiperurisemia. Tiga puluh ekor mencit dibagi menjadi enam kelompok yaitu kelompok kontrol normal, kelompok kontrol negative (diberi jus hati sapi 0,6 ml/20gBB), kelompok kontrol positif (alopurinol 13 mg/kgBB), kelompok dosis 200 mg/kgBB, kelompok dosis 400 mg/kgBB dan kelompok dosis 800 mg/kgBB. Penginduksian hiperurisemia dilakukan dengan menggunakan Makanan Diet Purin tinggi (MDPT) jus hati sapi segar. Pemeriksaan kadar asam urat menggunakan metode *Point of Care Testing* (POCT) dengan menggunakan alat digital *EasyTouch*[®]GCU. Hasil yang didapat ekstrak etanol dari daun pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) dosis 200mg/kgBB, 400mg/kgBB dan 800 mg/kgBB dapat menurunkan kadar asam urat darah pada mencit putih jantan secara signifikan ($P < 0,05$). Potensi ekstrak etanol daun pandan wangi dosis 400 mg/kgbb dan 800 mg/kgBB setara dengan allopurinol dosis 13 mg/kgBB dalam menurunkan kadar asam urat mencit hiperurisemia ($P > 0,05$).

Kata kunci: allopurinol, gout, hiperurisemia, pandan wangi

Pendahuluan

Hiperurisemia adalah suatu keadaan dimana terjadi peningkatan kadar asam urat darah di atas normal. Hal ini dapat disebabkan oleh peningkatan produksi atau penurunan ekskresi asam urat, atau kombinasi keduanya. Hiperurisemia dapat menyebabkan asam urat, suatu kondisi peradangan akut yang pembengkakan pada persendian dan seringkali terasa sakit dan nyeri.¹ Pengobatan hiperurisemia umumnya melibatkan penggunaan obat-obat sintetik. Penggunaan obat sintetik memiliki efek samping seperti gangguan gastrointestinal (mual, muntah dan diare), leukopenia, anemia aplastik, kerusakan hepar, nefritis interstisial, dan hipersensitivitas bila digunakan dalam jangka panjang.² Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Pane *et al.*, 2020 mengenai gambaran penggunaan obat herbal pada masyarakat Indonesia dan interaksinya terhadap obat konvensional tahun 2020 didapatkan alasan penggunaan obat herbal paling banyak yaitu karena efek samping yang relatif kecil dan responden yang merasakan efek samping dari penggunaan obat herbal lebih sedikit (0,4%) dibandingkan dengan yang tidak merasakan efek samping (99,6%) sehingga hal ini menyebabkan masyarakat lebih memilih obat dari bahan alam yang relatif lebih aman dan efek sampingnya rendah.³

Salah satu pemanfaatan sumber dari alam yaitu pemanfaatan tanaman untuk mengobati penyakit seperti pemanfaatan tanaman sebagai obat antihiperurisemia. Daun pandan wangi salah satu tanaman yang diduga memiliki aktivitas

antihiperurisemia. Berbagai manfaat dari tumbuhan daun pandan wangi antara lain berkhasiat sebagai antibakteri, antioksidan, analgetik, dan antidiabetes.^{4,5,6,7}

Pandan wangi merupakan salah satu tanaman yang memiliki kandungan kimia alkaloid, flavonoid, saponin, polifenol, terpenoid, steroid, essential oil, karetenoid, tokoferol dan kuersetin.⁷ Flavonoid pada daun pandan wangi diduga berpengaruh dalam menurunkan kadar asam urat darah. Flavonoid memiliki potensi untuk menghambat xantin oksidase.⁸ Xantin oksidase adalah enzim yang membantu mengkatalisis oksidasi hipoxantin menjadi xantin dan asam urat.⁸ Enzim xantin oksidase sering menjadi target untuk menurunkan kadar asam urat yang menyebabkan penyakit gout.⁹

Berdasarkan latar belakang tersebut maka peneliti melakukan penelitian untuk menguji aktivitas antihiperurisemia ekstrak etanol daun pandan wangi pada mencit putih jantan hiperurisemia menggunakan Makanan Diet Purin Tinggi (MDPT) dari hati sapi sebagai penginduksi dan pengukuran kadar asam urat menggunakan metoda *Point of Care Testing* (POCT) menggunakan alat Easy Touch[®] GCU dan untuk mengetahui dosis yang efektif menurunkan kadar asam urat sehingga hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi kepada masyarakat tentang aktivitas antihiperurisemia ekstrak etanol daun pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) dan bisa dijadikan sebagai alternatif dalam pengobatan.

Metode

Alat

Alat yang digunakan adalah seperangkat alat destilasi (Duran 50), seperangkat alat *vacuum rotary evaporator* (Rotavapor R-210 Buchi), timbangan analitik (Shimadzu Auw-220), botol gelap, timbangan hewan (Tanita[®]), kandang hewan, kertas saring, aluminium foil, corong, sonde oral (Terumo[®]), *hot plate* (SH-2 Laboratorium), gunting bedah, gelas ukur (Pyrex[®]), beker (Iwaki[®]), kaca arloji, pipet tetes, mortir dan stanfer, vial, perkamen, tabung reaksi (Iwaki[®]), plat tetes, alkohol swab, alat pengukur kadar asam urat (Easy Touch[®] GCU) dan strip test (Easy Touch[®]).

Bahan

Bahan yang digunakan adalah daun pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) yang diambil di Desa Paritbaru daerah Kampar, kloroform (Merck), kloroform amoniak, asam sulfat 2N (Sigma- Aldrich), reagen Mayer, asam klorida pekat (Sigma-Aldrich), besi (III) klorida (Sigma-Aldrich), logam magnesium (Sigma-Aldrich), norit, asam asetat anhidrat (Sigma), asam sulfat pekat (Merck), etanol 96% (Brataco), makanan mencit (Pellet CP 552), Na CMC 0,5 %, *aquadest*, Makanan Diet Purin Tinggi (MDPT) hati sapi 100 gram/25 ml *aquadest* dan tablet alopurinol (Hexpharm Jaya).

Prosedur

Determinasi Bahan

Tujuan dari determinasi adalah mengidentifikasi tanaman dari bahan yang dikumpulkan. Determinasi dilakukan di Laboratorium Botani Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Riau, Pekanbaru.

Pengolahan Bahan

Proses pengolahan simplisia dengan cara daun pandan wangi segar disortasi basah, pencucian, pengeringan, sortasi kering, kemudian digiling menjadi serbuk. Serbuk ditimbang kemudian disimpan ke dalam wadah bersih dan tertutup rapat.

Pembuatan Ekstrak

Ekstrak etanol daun pandan wangi dibuat dengan cara maserasi simplisia daun pandan wangi dalam etanol 96%. 500 gram simplisia ditempatkan dalam wadah yang tertutup rapat, kemudian ditambahkan etanol 96% sampai semua simplisia terendam sempurna dan diaduk. Perendaman dilakukan selama lima hari, sampai 3 kali pengulangan. Hasil maserasi dipekatkan dengan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental sebanyak 26,884 gram dengan rendemen sebesar 5,38%.

Pemeriksaan Kandungan Metabolit Sekunder Ekstrak

Pemeriksaan Alkaloid

Skrining fitokimia alkaloid dilakukan dengan metode *Culvenor Fitzgerald*. Sejumlah kecil ekstrak etanol daun pandan wangi dimasukkan dalam lumpang, ditambahkan 10 mL kloroform dan 10 mL kloroform amoniak 0,05N digerus homogen, dipipet menggunakan kapas dan dimasukkan kedalam tabung reaksi, ditambahkan 10 tetes asam sulfat 2N, dikocok selama 1 menit. Biarkan campuran memisah. Kemudian lapisan asam (atas) dipindahkan ke dalam tabung reaksi lain dan ditambahkan beberapa tetes pereaksi mayer. Reaksi positif ditunjukkan dengan adanya kabut putih atau endapan putih.¹⁰

Pemeriksaan flavonoid, fenolik, terpenoid, steroid dan saponin

Sejumlah kecil ekstrak etanol daun pandan wangi dimasukkan dalam tabung reaksi, dicampur dengan 5 mL air suling dan kloroform, kemudian dikocok kuat. Setelah beberapa saat, dua lapisan terbentuk. Lapisan air digunakan untuk menguji flavonoid, fenolik, dan saponin. Sedangkan lapisan kloroform digunakan untuk menguji terpenoid dan steroid.

Beberapa tetes lapisan air dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan sedikit serbuk magnesium dan beberapa tetes asam klorida pekat, terbentuknya warna oranye sampai merah menunjukkan adanya flavonoid. Pengujian fenolik dilakukan dengan memindahkan beberapa tetes lapisan air ke dalam plat tetes dan menambahkan beberapa larutan besi (III) klorida. Reaksi ditandai dengan terbentuknya warna hijau tua.

Uji terpenoid dan steroid dilakukan dengan cara menyaring Lapisan kloroform dengan norit yang ditempatkan pada pipet tetes yang diberi kapas pada ujungnya. Selanjutnya ditempatkan pada 3 lobang plat tetes, setelah kering pada lobang pertama ditambahkan beberapa tetes asam sulfat pekat dan asam asetat anhidrat, lobang kedua ditambahkan beberapa tetes asam asetat anhidrat dan asam sulfat pekat dan lobang ketiga ditambah beberapa tetes asam pereaksi Liebermann Bouchardat sama banyak. Jika terbentuk warna merah positif untuk terpenoid dan warna hijau atau biru positif untuk steroid.

Sedangkan untuk uji saponin, beberapa mL lapisan air dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan dikocok kuat. Bila berbentuk busa yang bertahan selama 5 menit, ini menunjukkan positif saponin.¹⁰

Penyiapan Sediaan Uji

Suspensi Ekstrak etanol dosis 200 mg, 400 mg dan 800 mg/kgBB

Serbuk Na CMC ditimbang 25 mg. Kemudian ditaburkan di atas aquadest panas sebanyak 20 kalinya yang berada dalam lumpang panas dan dibiarkan selama 15 menit kemudian digerus sampai homogen selanjutnya ditambahkan sedikit demi sedikit ekstrak etanol daun pandan wangi yang sudah ditimbang sesuai dengan dosis yang

direncanakan, kemudian digerus hingga homogen dan ditambahkan aquadest sampai volume 5 mL.

Suspensi Alopurinol

Dosis allopurinol untuk manusia 1 kali pemakaian adalah 100 mg.¹ Faktor konversi dosis mencit adalah 0,0026/20gBB. Dosis allopurinol dalam 1 tablet adalah 100 mg. Volume Administrasi Obat (VAO) pada mencit yaitu 1% dari berat badan (20 g).
Dosis untuk mencit = 100 mg x 0,0026 = 0,26 mg/20 g = 13 mg/kgBB

$$0,2 \text{ mL} = \frac{0,02\text{kg} \times 0,26\text{mg}/0,02\text{kgBB}}{C}$$
$$0,2 \text{ mL} \times C = 0,26 \text{ mg}$$
$$C = \frac{0,26 \text{ mg}}{0,2 \text{ mL}}$$
$$C = 1,3 \text{ mg/mL}$$
$$C = 6,5 \text{ mg/5mL}$$

Konsentrasi suspensi alopurinol yang dibuat = 6,5 mg/5mL. Suspensi Na CMC 5 % sebanyak 0,5 ml ditambahkan sedikit demi sedikit Alopurinol yang sudah ditimbang setara 6,5 mg digerus hingga homogen dan ditambahkan aquadest sampai volume 5 mL.

Penyiapan Induktor Hiperurisemia

Induktor hiperurisemia yang digunakan adalah Makanan Diet Tinggi Purin (MDPT) yaitu hati sapi segar 100 g dicuci bersih, kemudian diblender dengan menambahkan aquadest 25 mL hingga halus, kemudian saring dan masukkan dalam wadah.

Penyiapan hewan uji

Mencit yang digunakan dalam percobaan adalah mencit putih (*Mus musculus L.*) jantan sebanyak 30 ekor yang berumur 2-3 bulan dengan berat 20-30 gram. Sebelum menggunakan hewan, hewan tersebut diaklimatisasi selama 7 hari dengan lingkungannya dan diberi makanan dan minuman yang cukup. Jika hewan tidak mengalami perubahan berat badan lebih dari 10% dan menunjukkan perilaku normal, hewan dinyatakan sehat. Semua hewan dikelompokkan secara acak agar distribusi berat badan merata untuk semua kelompok dengan variasi tidak lebih dari 20% dari rata-rata berat badan.

Pengujian Aktivitas Antihiperurisemia

Hewan percobaan 5 kelompok yaitu kelompok normal, kontrol negatif, control positif dan 3 kelompok perlakuan dosis yaitu kelompok dosis 200 mg/kgbb, 400 mg/kgbb dan 800 mg/kgbb. Setiap kelompok terdiri dari 5 ekor mencit putih (*Mus musculus L.*) jantan. Adapun cara perlakuannya sebagai berikut :

Kelompok kontrol normal: mencit diberi suspensi Na CMC 0,5% diberikan 1 kali sehari secara per oral sebanyak 1% dari berat badan mencit selama 28 hari.

Kelompok kontrol negatif: mencit diberi MDPT 0,6 mL/20gBB selama 14 hari 1 kali sehari, hari ke 15 hingga ke 28 diberi MDPT 0,6 mL/20gBB dan suspensi Na CMC 0,5% 1 kali sehari per oral sebanyak 1% dari berat badan mencit.

Kelompok kontrol positif: mencit diberi MDPT 0,6 mL/20gBB selama 14 hari 1 kali sehari, hari ke 15 hingga ke 28 diberi MDPT 0,6 mL/20gBB dan allopurinol dosis 13 mg/kgBB 1 kali sehari per oral sebanyak 1% dari berat badan mencit.

Kelompok dosis 1, mencit diberi MDPT 0,6 mL/20gBB selama 14 hari 1 kali sehari, hari ke 15 hingga ke 28 diberi MDPT 0,6 mL/20gBB dan ekstrak etanol daun pandan wangi dosis 200 mg/kgBB 1 kali sehari per oral sebanyak 1% dari berat badan mencit.

Kelompok dosis 2, mencit diberi MDPT 0,6 mL/20gBB selama 14 hari 1 kali sehari, hari ke 15 hingga ke 28 diberi MDPT 0,6 mL/20gBB dan ekstrak etanol daun pandan wangi dosis 400 mg/kgBB 1 kali sehari per oral sebanyak 1% dari berat badan mencit.

Kelompok dosis 3, mencit diberi MDPT 0,6 mL/20gBB selama 14 hari sebanyak 1 kali sehari, hari ke 15 hingga ke 28 diberi MDPT 0,6 mL/20gBB dan ekstrak etanol daun pandan wangi dosis 800 mg/kgBB 1 kali sehari per oral sebanyak 1% dari berat badan mencit.

Pengukuran kadar asam urat dilakukan dengan metode *Point of Care Testing* (POCT) menggunakan alat digital Easy Touch® GCU. Alat dikalibrasi terlebih dahulu dengan nomor kode yang disesuaikan dengan strip tes yang akan digunakan. Strip tes diselipkan pada tempat khusus pada alat tersebut, kemudian pada layar akan muncul gambar tetesan darah yang menandakan alat siap digunakan. Setelah ekor mencit didesinfeksi dengan etanol 70% ujung ekor digunting dengan gunting bedah, tetesan darah pertama dibuang, tetesan berikutnya diserapkan pada strip tes sampai terdengar bunyi. Dalam waktu 20 detik pada layar akan tertera kadar asam urat dengan mg/dL. Pengukuran kadar asam urat dilakukan pada hari ke-0, 15, 22 dan 29. Hewan percobaan di puasakan selama 16 jam sebelum dilakukan pengukuran kadar asam urat.

Data dari hasil penelitian ini dianalisa secara statistik dengan ANOVA dua arah. Jika hasil analisa bermakna kemudian dilanjutkan dengan Uji Tukey dan kebermaknaan diambil pada tingkat kepercayaan 95%.

Hasil

Tabel 1. Hasil Penapisan Metabolit Sekunder Ekstrak Etanol Daun Pandan Wangi

Metabolit Sekunder	Hasil Pengamatan
Alkaloid	+
Flavonoid	+
Terpenoid	-
Steroid	+
Fenolik	+
Saponin	-

Keterangan : (+) = terdeteksi (-) = tidak terdeteksi

Tabel 2. Kadar Asam Urat Mencit Sebelum dan Sesudah Pemberian Ekstrak etanol Daun Pandan Wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb)

Kelompok	Kadar Asam Urat rata-rata (mg/dL) ±SD			
	t ₀	t ₁₅	t ₂₂	t ₂₉
Normal	3,18±0,08	3,16±0,11	3,16±0,11	3,16±0,11
Negatif	3,14±0,11	6,36±0,57	8,04±0,39	9,54±0,63
Positif	3,12±0,13	6,54±0,65	4,64±0,46	3,36±0,21

Tabel 2. (Lanjutan)

Kelompok	Kadar Asam Urat rata-rata (mg/dL) ±SD			
	t ₀	t ₁₅	t ₂₂	t ₂₉
Dosis 200 mg/kgBB	3,16±0,11	6,44±0,66	5,50±0,64	4,30±0,73
Dosis 400 mg/kgBB	3,12±0,13	6,42±0,56	5,20±0,43	3,54±0,32
Dosis 800 mg/kgBB	3,14±0,11	6,70±0,67	5,22±0,85	3,50±0,33

Keterangan : t₀ = Kadar asam urat awal pada sebelum diinduksi MDPT
t₁₅ = Kadar asam urat setelah 14 hari diinduksi MDPT
t₂₂ = Kadar asam urat setelah 7 hari setelah pemberian sediaan uji
t₂₉ = Kadar asam urat setelah 14 hari setelah pemberian sediaan uji

Tabel 3. Persentase Peningkatan Kadar Asam Urat Setelah Diinduksi MDPT Hati Sapi

Kelompok	Kadar Rata-rata Asam Urat (mg/dL)±SD		% Peningkatan Kadar Asam Urat
	t ₀	t ₁₅	
Negatif	3,14±0,11	6,36±0,57	↑102,54
Positif	3,12±0,13	6,54±0,65	↑109,61
Dosis 200 mg/kgBB	3,16±0,11	6,44±0,66	↑103,79
Dosis 400 mg/kgBB	3,12±0,13	6,42±0,56	↑105,76
Dosis 800 mg/kgBB	3,14±0,11	6,70±0,67	↑113,37

*Keterangan

Rumus perhitungan:

$$\frac{\text{kadar rata-rata asam urat } t_{15} - \text{kadar rata-rata asam urat } t_0}{\text{kadar rata-rata asam urat } t_0} \times 100\%$$

Tabel 4. Persentase Penurunan Kadar Asam Urat Setelah diinduksi MDPT dan diberi sediaan uji

Kelompok	Kadar Rata-rata Asam Urat (mg/dL) ±SD			% Penurunan Kadar Asam Urat	
	t ₁₅	t ₂₂	t ₂₉	t ₂₂	t ₂₉
Normal	3,16±0,11	3,16±0,11	3,16±0,11	↓0,00	↓0,00
Negatif	6,36±0,57	8,04±0,39	9,54±0,63	↑26,42	↑50,00
Positif	6,54±0,65	4,64±0,46	3,36±0,21	↓29,05	↓48,62
Dosis 200 mg/kgBB	6,44±0,66	5,50±0,64	4,30±0,73	↓14,59	↓33,22
Dosis 400 mg/kgBB	6,42±0,56	5,20±0,43	3,54±0,32	↓19,00	↓44,85

Tabel 4. (Lanjutan)

Kelompok	Kadar Rata-rata Asam Urat (mg/dL) ±SD			% Penurunan Kadar Asam Urat	
	t ₁₅	t ₂₂	t ₂₉	t ₂₂	t ₂₉
Dosis 800 mg/kgBB	6,70±0,67	5,22±0,85	3,50±0,33	↓22,08	↓47,76

*Keterangan : ↓ = Penurunan
 ↑ = Kenaikan

Rumus perhitungan:

$$\frac{\text{kadar rata-rata asam urat } t_{22} / t_{29} - \text{kadar rata-rata asam urat } t_{15}}{\text{kadar rata-rata asam urat } t_{15}} \times 100\%$$

Pembahasan

Sampel yang digunakan adalah 1,7 kg daun pandan wangi segar yang telah dikeringkan. Tujuan pengeringan sampel adalah untuk mengurangi kadar air dan menghentikan reaksi enzimatik untuk menjaga mutu simplisia. Setelah kering, dilakukan perajangan sampel yang bertujuan untuk memperluas permukaan sampel agar kontak antara pelarut dengan sampel semakin luas sehingga mempermudah penetrasi pelarut kedalam membran sel dan proses penarikan senyawa-senyawa yang terkandung didalam sampel semakin baik. Hal ini didasari oleh semakin kecil ukuran sampel maka proses interaksi pelarut dengan sampel semakin efektif.¹¹

Sampel diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan etanol 96% yang telah didestilasi. Etanol adalah pelarut universal yang dapat melarutkan hampir semua senyawa baik yang bersifat polar, semi polar dan non polar. Selain itu, etanol dapat menjaga stabilitas zat dengan cara menghambat kerja enzim dan bersifat antiseptik sehingga dapat menghambat pertumbuhan kapang dan jamur dan kadar toksisitasnya relatif rendah terhadap makhluk hidup.¹⁰

Sampel kering daun pandan wangi dimaserasi selama 5 hari sambil sesekali diaduk dan dilakukan tiga kali pengulangan. Maserat yang diperoleh dipisahkan dengan *rotary evaporator*. Prinsip *vacum rotary evaporator* adalah menguapkan pelarut dibawah titik didih dibantu dengan dengan penurunan tekanan menggunakan vakum sehingga zat yang terkandung didalam pelarut tidak rusak oleh suhu tinggi.¹⁰ Ekstrak kental etanol daun pandan wangi yang diperoleh adalah sebanyak 26,8841 gram. Rendemen sebesar 5,38%. Besarnya rendemen dipengaruhi oleh banyaknya jenis komponen senyawa yang dapat terlarut dalam pelarut yang digunakan.

Setelah didapatkan ekstrak kental, dilakukan uji kandungan metabolit sekunder ekstrak etanol daun pandan wangi yang meliputi alkaloid, flavonoid, terpenoid, steroid, fenolik dan saponin. Pada tabel 1 hasil pemeriksaan metabolit sekunder, diperoleh hasil ekstrak etanol daun pandan wangi mengandung senyawa metabolit sekunder yaitu flavonoid, alkaloid, fenolik dan steroid.

Pengujian ekstrak etanol daun pandan wangi untuk aktivitas antihiperurisemia ini dilakukan pada hewan percobaan berupa mencit. Mencit yang akan digunakan adalah mencit yang sehat dan tidak mengalami perubahan berat badan lebih dari 10% selama aklimatisasi. Selanjutnya diukur kadar asam urat awal mencit untuk memastikan bahwa mencit yang digunakan adalah mencit yang kadar asam uratnya berada pada *range* normal. Kadar normal asam urat mencit adalah 1,5-3,3 mg/dL.¹²

Penginduksian mencit dilakukan dengan pemberian makanan diet purin tinggi (MDPT) yaitu hati sapi segar sebanyak 0,6 mL/20gBB secara oral setiap hari.

Pemberian hati sapi digunakan sebagai penginduksi karena hati sapi termasuk bahan pangan dengan kadar purin tinggi kategori 1 dan mempunyai kandungan purin nomor dua tertinggi setelah otak. Kandungan purin hati sapi adalah 554 mg/100g. Seluruh purin yang berasal dari tubuh sendiri (sintesa asam nukleat) ataupun yang berasal dari makanan akan dimetabolisme menjadi asam urat. Purin yang berasal dari makanan akan dipecah melalui pencernaan sehingga menghasilkan hipoxantin dan xantin. Selanjutnya dengan bantuan enzim xantin oksidase, hipoxantin dan xantin akan diubah menjadi asam urat. Selain itu, penelitian yang dilakukan Rahmawati, dkk menunjukkan penggunaan hati sapi dapat meningkatkan kadar asam urat darah pada tikus putih jantan. Mencit yang dikatakan hiperurisemia jika kadar asam urat darahnya lebih dari 3,3 mg/dL.¹³

Penelitian ini menggunakan alopurinol dosis 13 mg/kgBB sebagai kontrol positif. Pemilihan alopurinol sebagai kontrol positif karena alopurinol adalah obat modern yang umum digunakan dalam menurunkan kadar asam urat. Alopurinol bekerja menghambat enzim xantin oksidase sehingga pembentukan hipoxantin menjadi xantin dan xantin menjadi asam urat dapat terhambat.² Oleh karena itu, pemilihan alopurinol sebagai kontrol positif bertujuan untuk mengetahui sekaligus membandingkan efek antara ekstrak etanol daun pandan wangi dengan alopurinol dalam menurunkan kadar asam urat darah.

Pada penelitian yang telah dilakukan terlihat hasil yang menunjukkan kelompok mencit normal kadar asam uratnya stabil pada rentang kadar normal yaitu 0,5-3,3 mg/dL, sebab mencit normal ini tidak diinduksi dengan MDPT hati sapi sehingga kadar asam urat darah mencit ini tetap normal selama masa perlakuan.¹² Sedangkan kelompok kontrol negatif terlihat bahwa kadar asam urat darah mencit kontrol negatif ini jauh lebih tinggi dibandingkan dengan mencit normal yaitu lebih dari 3,3 mg/dL. Tingginya kadar asam urat darah mencit kontrol negatif ini disebabkan karena kelompok ini telah diinduksi dengan MDPT hati sapi tanpa diberikan sediaan uji.

Pada penelitian ini terlihat adanya aktivitas antihiperurisemia yang ditandai penurunan kadar asam urat darah mencit pada kelompok positif (alopurinol) dosis 13mg/kgBB dan kelompok sediaan ekstrak uji pada pengamatan hari ke-22 dan ke-29. Sedangkan untuk kelompok negatif yang tidak diberi alopurinol maupun sediaan ekstrak uji menunjukkan terjadi kenaikan kadar asam urat darah mencit hari ke-22 dan ke-29. Hasil analisis ANOVA dua arah menunjukkan kelompok dosis (perlakuan) dan lama perlakuan mempengaruhi kadar asam urat darah secara bermakna ($p < 0,05$). Hal ini berarti faktor perbedaan dosis tiap kelompok dan lama pemberian sediaan uji memberikan pengaruh terhadap perubahan kadar asam urat secara bermakna ($p < 0,05$).

Analisis dari ANOVA dua arah dilanjutkan dengan uji Tukey. Hasil uji Tukey pada faktor kelompok perlakuan terhadap kadar asam urat menunjukkan bahwa penurunan kadar asam urat kelompok kontrol normal dan negatif berbeda nyata dengan kelompok uji yang lain. Kelompok kontrol positif berbeda nyata ($p < 0,05$) dengan kelompok uji dosis 200 mg/kgBB, tetapi tidak berbeda nyata ($p > 0,05$) dengan kelompok uji dosis 400 dan 800 mg/kgBB. Dari data yang diperoleh didapatkan kesimpulan bahwa kelompok dosis 400 dan 800 mg/kgBB mempunyai efek yang sama dengan kelompok kontrol positif dalam menurunkan kadar asam urat darah.

Pada diagram rata-rata kadar asam urat terhadap dosis pada gambar 1 menunjukkan pemberian ekstrak etanol daun pandan wangi dosis 200, 400 dan 800 mg/kgBB dapat menurunkan kadar asam urat mencit putih jantan hiperurisemia. Dari 3 variasi dosis yang digunakan, dosis 400 dan 800 mg/kgBB menunjukkan penurunan kadar asam urat yang paling baik mendekati kadar kontrol positif yang diberi alopurinol dosis 13 mg/kgBB.

Persentase penurunan antara dosis dan kontrol positif (Alopurinol) terhadap kontrol normal dapat dilihat pada tabel 4. Persentase penurunan kadar asam urat

pada kelompok perlakuan yaitu, kelompok yang diberi alopurinol 13 mg/kgB dan kelompok dosis 200, 400 dan 800 mg/kgBB setelah 7 dan 14 hari pemberian sediaan uji yang diukur pada hari ke-22 dan 29 berturut-turut adalah pada alopurinol 29,05% dan 48,62%; dosis 200 mg/kgBB 14,59% dan 33,22%; dosis 400 mg/kgBB 19,00% dan 44,85%; dan dosis 800 mg/kgBB 22,08% dan 47,76%.

Berdasarkan tabel persentase penurunan kadar asam urat yang ditunjukkan oleh Alopurinol dosis 13 mg/kgBB, ekstrak etanol daun pandan wangi dosis 400 mg/kgBB dan ekstrak etanol daun pandan wangi dosis 800 mg/kgBB pada setiap hari tidak jauh berbeda. Peningkatan dosis ekstrak etanol daun pandan wangi dua kali lipat yaitu dosis 800 mg/kg BB meningkatkan efek penurunan kadar asam urat sedikit lebih tinggi dari dosis 400 mg/kgBB.

Hasil uji lanjut Tukey menunjukkan adanya perbedaan nyata ($p < 0,05$) antara lama perlakuan pada hari ke-15, 22 dan 29. Berdasarkan data tabel 4 persentase penurunan kadar asam urat selama perlakuan menunjukkan bahwa semakin lama pemberian zat uji maka semakin besar pula persen penurunan kadar asam urat darah mencit. Semakin lama waktu pemberian ekstrak etanol daun pandan wangi maka mekanisme kerja senyawa yang berkhasiat di dalam ekstrak akan semakin baik sehingga menunjukkan aktivitas penurunan yang signifikan.

Mekanisme ekstrak etanol daun pandan wangi dalam menurunkan kadar asam urat darah pada mencit hiperurisemia diduga karena kandungan senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam ekstrak etanol daun pandan wangi. Adapun dugaan senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada daun pandan wangi ini yang memiliki aktivitas menurunkan kadar asam urat adalah senyawa flavonoid. Hasil uji fitokimia dari penelitian yang dilakukan diperoleh bahwa ekstrak etanol daun pandan wangi mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, fenolik dan steroid. Senyawa golongan flavonoid lain yang juga terkandung dalam pandan wangi adalah kuersetin, rutin, epikatekin, katekin, kaemferol, myrisetin, luteolin dan naringin.¹⁴

Flavonoid memiliki banyak manfaat seperti sebagai antioksidan dan sebagai inhibitor aktivitas enzim. Salah satu enzim yang dapat dihambat aktivitasnya adalah xanthin oksidase. Mekanisme kerja flavonoid dalam menurunkan kadar asam urat dengan cara menghambat kerja enzim xanthin oksidase sehingga perubahan hipoxantin menjadi xantin dan xantin menjadi asam urat dapat terhambat. Hal ini disebabkan oleh adanya dua cincin aromatik yang memiliki gugus hidroksil sebagai akseptor elektron xanthin oksidase. Hubungan antara struktur flavonoid dengan aktivitasnya sebagai inhibitor xanthin oksidase disebabkan oleh adanya ikatan rangkap pada atom $C_2=C_3$ serta adanya gugus hidroksil pada atom C_3 , C_5 dan C_7 .

Aktivitas antihiperurisemia senyawa flavonoid akan menurun dan bahkan kehilangan aktivitasnya apabila terjadi glikosilasi pada atom C_7 . Namun jika glikosilasi terjadi pada atom C_8 akan meningkatkan aktivitas antihiperurisemia dan inhibitor xanthin oksidase. Hal ini mungkin disebabkan oleh pengaruh posisi glikosilasi terhadap sisi pengikatan komponen tersebut terhadap enzim. Struktur planar dan adanya gugus hidroksil pada senyawa flavonoid mungkin memiliki peranan yang penting dalam interaksinya dengan molekul target pada komponen tersebut. Senyawa golongan flavonoid lain yang juga berperan dalam menurunkan asam urat adalah kuersetin dan rutin. Kuersetin dan rutin memiliki aktivitas xanthin oksidase yang dapat menurunkan kadar asam urat dalam darah.¹⁵

Kesimpulan

Dari hasil penelitian pemberian ekstrak etanol daun pandan wangi memberikan pengaruh terhadap penurunan kadar asam urat mencit hiperurisemia. Pemberian ekstrak etanol dosis 200, 400 dan 800 mg/kgBB dapat menurunkan kadar asam urat darah mencit sehingga memiliki aktivitas antihiperurisemia. Berdasarkan analisa statistik uji ANOVA Dua Arah menunjukkan Pemberian ekstrak etanol daun pandan wangi dosis 400 dan 800 mg/kgBB tetapi tidak berbeda nyata ($p>0,05$) dengan kelompok kontrol positif alopurinol dosis 13 mg/kgBB dalam menurunkan kadar asam urat darah.

Saran

Perlu penelitian lebih lanjut pada aktivitas antihiperurisemia menggunakan fraksi dari ekstrak etanol daun pandan wangi untuk mengetahui senyawa yang terkandung yang dapat menurunkan kadar asam urat serta uji toksisitas untuk mengetahui keamanan penggunaannya.

Daftar Pustaka

1. Wells B, Dipiro J, Et.al. Pharmacotherapy handbook. 9th ed. United States: Mc Graw Hill; 2015. 1–8 p.
2. Katzung B, Master S, et.al. Basic & clinical pharmacology. 12th ed. United States: Mc Graw Hill; 2012. 651–56 p.
3. Pane M, Rahma A, Et.al. Gambaran penggunaan obat herbal pada masyarakat indonesia dan interaksinya terhadap obat konvensional tahun 2020. J Med Stud. 2021;1(1):40–62.
4. Faras A, Wadkar S, Et.al. Effect of leaf extract of pandanus amaryllifolius (roxb.) on growth of escherichia coli and micrococcus (staphylococcus aureus). Int Food Res J [Internet]. 2014;21(1):421–3. Available from: <http://www.ifrj.upm.edu.my>
5. Suryani C, Tamaroh S, Et.al. Aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun pandan (pandanus amaryllifolius) dan fraksi-fraksinya. agritech [Internet]. 2020;37(3):271–9. Available from: <http://doi.org/10.22146/agritech.11312>
6. Azizah M, Yunita N. Uji efek analgetik ekstrak daun pandan wangi (pandanus amaryllifolius roxb.) terhadap mencit putih jantan (mus musculus) galur swiss webster. Sci J Farm dan Kesehat [Internet]. 2017;7(2):168–72. Available from: <https://doi.org/10.36434/scientia.v7i2.133>
7. Prameswari O, Widjanarko S. Uji efek ekstrak air daun pandan wangi terhadap penurunan kadar glukosa darah dan histopatologi tikus diabetes mellitus. J Pangan dan Agroindustri. 2014;2(2):16–27.
8. Mohos V, Nyú E. Inhibition of xanthine oxidase-catalyzed Xanthine and 6-Mmercaptopurine oxidation by flavonoid aglycones and some of their conjugates. Int Mol Sci [Internet]. 2020;21(3256):1–10. Available from: <https://doi.org/10.3390/ijms21093256>
9. Azmi S, Jamal P. Xantine oxidase inhibitory activity from potential malaysian medicinal plant as remedie for gout. Int Food Res J. 2012;19(1):56–9.
10. Nasyanka L, Na'imah J. Pengantar fitokimia. Jawa Timur: CV Penerbit Qiara Media; 2020. 9–17 p.
11. Prasetyo, Inorah E. Pengelolaan budidaya tanaman obat-obatan (bahan simplisia). Bengkulu: Badan Penerbitan Fakultas Pertanian UNIB; 2013. 16 p.
12. Sonia R, Yusneliti, et.al. Efektivitas ekstrak etanol daun durian (durio zibethinus (linn.) sebagai antihiperurisemia. J Kefarmasian Indones [Internet].

- 2020;10(2):130–9. Available from: <https://doi.org/10.22435/jki.v10i2.2148>
13. Rahmawati F, Nugraheni P, Et.al. Optimization of elevating blood uric acid levels with high purine diet. *J Pure Appl Chem Res* [Internet]. 2018;7(1):19–24. Available from: <https://doi.org/10.21776/ub.jpacr.2018.007.01.357>
 14. Ghasemzadeh A, Jaafar H. Optimization of reflux conditions for total flavonoid and total phenolic extraction and enhanced antioxidant capacity in pandan (*pandanus amaryllifolius* Roxb.) using response surface methodology. *Sci World J* [Internet]. 2014;13(342):1–10. Available from: <https://doi.org/10.1155/2014/523120>
 15. Liu L, Zhang L. Advances in structures required of polyphenols for xanthine oxidase inhibition. *Rev Artic Food Front* [Internet]. 2020;1:152–67. Available from: <https://doi.org/10.1002/fft2.27>