

Pemanfaatan Ekstrak Kulit Buah Kawista (*Limonia acidissima*) Sebagai Anti Asam Urat Secara *In Vivo* Pada Mencit Jantan

Ika Maruya Kusuma^{1*}, Putu Rika Veryanti¹, Ervina Tri Dewi Saragih¹

¹Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi, Institut Sains dan Teknologi Nasional, Jl. Moh Kahfi II, Srengseng Sawah, Jagakarsa, Jaksel 12630 telp.(021)7270090

*Email korespondensi: imaruya@istn.ac.id

ABSTRAK

Allopurinol adalah obat yang umum digunakan oleh penderita asam urat. Penggunaan jangka panjang dapat menyebabkan gagal hati, hepatitis, diare, konstipasi, muntah, mual dan eksim. Berdasarkan hal tersebut perlu dikembangkan obat bahan alam untuk mengatasi hiperurisemia berasal dari kulit buah kawista (*Limonia acidissima*). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas ekstrak kulit buah kawista dalam menurunkan kadar asam urat secara *in vivo* terhadap mencit jantan hiperurisemia. Kulit buah kawista diekstraksi dengan metode maserasi hingga terbentuk ekstrak kental. Dilanjutkan uji skrining fitokimia dan uji *in vivo* dengan mencit hiperuresemia yang diberi ekstrak kulit buah kawista. Konsentrasi ekstrak kulit buah kawista yang diberikan 100 mg/kg BB (K100), 200 mg/kg BB (K200), dan 400 mg/kg BB (K400), pembanding allopurinol 10 mg/kg BB sebagai kontrol positif dan kontrol negatif aquadest. Dari penelitian ini diperoleh bahwa ekstrak kulit buah kawista memiliki aktivitas anti asam urat dengan persentase penurunan kadar asam urat melalui pemberian ekstrak kulit 100mg/Kg BB, 200mg/Kg BB, 400mg/Kg BB; secara berturut sebesar 73%, 45% dan 54%.

Kata Kunci: asam urat, ekstrak metanol, *in vivo*, *Limonia acidissima*

In Vivo Study on Methanol Extract of Kawista Fruit (*Limonia acidissima*) Rind as Anti-Uric Acid in Hyperuricemia Male Mice

ABSTRACT

Allopurinol is usually used to decrease uric acid in patients with gout. Long term use of allopurinol could cause liver failure, hepatitis, diarrhea, constipation, vomiting and eczema. The development of natural drugs, such as rind of kawista fruit (*Limonia acidissima*) is needed to overcome hyperuricemia. Aim of this study was to know the activity of *Limonia acidissima* extract in lowering uric acid using hyperuricemia male mice (in vivo method). *Limonia acidissima* rind was macerated by methanol until thick extract performed. After that, the phytochemical of extract was screened and ready to be applied to the mice. The mice divided into 5 groups. Group 1 to 3 were given different concentration of extract: 100 mg/ bodyweight (K100), 200 mg/ bodyweight (K200) and 400 mg/ bodyweight (K400). Group 4 was the positive control which the mice only given allopurinol 10 mg/ bodyweight and last group was the negative control group. The results showed that *Limonia acidissima* rind extract could decrease uric acid in male mice at 100 mg/ bodyweight, 200 mg/bodyweight and 400 mg/ bodyweight concentration. Each group gave 73%, 45% and 54% decrease of uric acid.

Keywords: uric acid, methanol extract, *in vivo*, *Limonia acidissima*

PENDAHULUAN

Kadar asam urat di atas normal jika tidak segera diatasi dapat menyebabkan rasa nyeri atau pegal pada sistem gerak, ini merupakan gejala awal yang sering dirasakan oleh penderita hiperurisemia atau yang dikenal dengan penyakit asam urat. Penumpukan kristal mononatrium urat di atas normal lebih dari 7 mg/dl pada dewasa dan lebih dari 5,7 mg/dl pada wanita merupakan penyebab hiperurisemia (Krisdayanti *et al.*, 2016). Terapi yang umum digunakan bagi penderita asam urat yaitu

dengan pengobatan allopurinol. Namun, penggunaan jangka panjang allopurinol dapat menyebabkan gagal hati, hepatitis, diare, konstipasi, muntah, mual dan eksim. Oleh karena itu, perlu dikembangkan alternatif obat bahan alam yang berpotensi sebagai alternatif pengobatan asam urat. Kawista (*Limonia acidissima*) dapat digunakan untuk mengatasi penyakit asam urat. Kawis atau kawista (*Limonia acidissima*) termasuk ke dalam suku jeruk-jerukan (Rutaceae). Air perasan jeruk nipis salah satu Famili Rutaceae telah diteliti oleh Hasanah *et al.* (2015) dapat menurunkan kadar asam urat pada mencit jantan

yang diinduksi kalium oxonat dan hati ayam dengan dosis 0,65 ml/ Kg BB dengan pembanding allopurinol. Ekstrak kulit jeruk purut 5 mg/10 g BB juga efektif menurunkan kadar asam urat pada mencit yang diinduksi kalium bromat (Widyastuti *et al.*, 2017).

Berdasarkan hasil penelitian sebelumnya ekstrak etanol daun kawista telah diketahui berpotensi sebagai antibakteri (Panda *et al.*, 2013). Kawista juga berpotensi sebagai antivirus, antitumor dan antifungi (Absar *et al.*, 2010). Buah kawista dapat juga digunakan sebagai pengobatan kanker (Pradhan *et al.*, 2012). Penelitian lain, ekstrak buah kawista matang dengan metode sokletasi juga memiliki aktivitas antioksidan kuat (Darsini *et al.*, 2013; Dewi, 2013). Potensi ekstrak metanol buah kawista dapat digunakan dalam menyembuhkan luka (Ilango & Chitra, 2010).

Buah kawista memiliki kandungan kimia terpenoid, glikosida, flavonoid, saponin dan tannin (Dewi, 2013; Azmi *et al.*, 2012) yang berpotensi sebagai antioksidan, antidiabetes, penyembuhan luka dan dapat mengendalikan kadar asam urat plasma sebagai inhibitor xantin oksidase. Buah kawista diduga dapat menurunkan kadar asam urat, sehingga berdasarkan latar belakang tersebut penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas ekstrak kulit buah kawista dalam menurunkan kadar asam urat secara *in vivo* terhadap mencit jantan hiperurisemia yang diberi hati ayam segar.

METODOLOGI PENELITIAN

Bahan. Bahan uji yang digunakan adalah kulit buah kawista yang diekstrak dengan pelarut metanol. Ekstrak kulit buah kawista yang diuji dengan konsentrasi 100 mg/Kg BB, 200 mg/Kg BB dan 400 mg/Kg BB. Buah kawista matang diperoleh dari Bogor, dipisahkan antara kulit buah dan daging buahnya. Bahan lain yang digunakan yaitu metanol, eter, aquadest, H₂SO₄, allopurinol, hati ayam, mencit jantan. Mencit jantan sehat yang berusia 2-3 bulan, dengan berat 25-30 gram yang diperoleh dari Fakultas Kedokteran Hewan, IPB.

Pengolahan simplisia. Buah kawista matang sebanyak 2 kg, dipisahkan antara kulit buah dan daging buahnya. Kemudian kulit buah segar seberat 735 gram dijemur tidak terkena matahari langsung selama 7 hari hingga kering. Setelah kering, kulit buah diserbuk dan diayak dengan ukuran mesh 60 hingga diperoleh serbuk sebanyak 458 gram.

Pembuatan ekstrak. Ekstrak kulit buah kawista dibuat dengan metode maserasi dengan perbandingan serbuk dan pelarut metanol 1:10. Proses maserasi dilakukan selama 1x24 jam dengan sesekali pengadukan. Hasil maserasi disaring menggunakan kertas saring sehingga diperoleh filtrat. Kemudian dilakukan remaserasi sebanyak 1 kali dengan pelarut yang sama. Seluruh filtrat yang diperoleh dipisahkan dengan *vacuum rotary evaporator* pada suhu 50°C, lalu ekstrak diuapkan menggunakan *waterbath* sampai diperoleh ekstrak kental, kemudian disimpan dalam wadah gelas tertutup rapat sebelum digunakan untuk pengujian.

Uji penapisan fitokimia. Uji penapisan fitokimia dilakukan pada serbuk dan ekstrak kulit buah kawista yang meliputi pemeriksaan alkaloid, flavonoid, saponin, tanin dan triterpenoid.

Persiapan hewan coba. Hewan coba yang digunakan mencit jantan berumur 2-3 bulan, dengan berat 25-30 gram. Sebelum penanganan terhadap hewan coba, terlebih dahulu dilakukan pengurusan surat izin protokol penelitian dengan hewan coba, dikampus UPN Jakarta. Persiapan penelitian mencit jantan ditimbang dengan berat 25-30 gram yang akan digunakan sebagai penelitian. Jumlah kelompok mencit yang akan digunakan sebanyak 5 kelompok, meliputi K100, K200, K400, KN dan Kallo.

Uji anti asam urat secara *in vivo*. Sebelum dilakukan pengujian, hewan mencit diadaptasi selama 7 hari, kemudian 12 jam sebelum diuji, mencit dipuasakan hanya diberi minum dan diuji kadar asam uratnya dengan alat *Easy Touch*® untuk mengetahui bahwa kadar asam urat mencit dalam keadaan normal. Pengambilan darah dilakukan dengan cara menggunting bagian ujung ekor mencit dan mengurut ekor agar darah keluar untuk diukur dengan alat *Easy Touch*®. Selanjutnya mencit diberi makan hati ayam segar sebanyak 1 mL dengan spuit sonde oral, setelah 60 menit kadar asam urat mencit diukur dengan cara mengurut kembali ekor yang terluka tadi dan darah yang keluar diukur dengan alat *Easy Touch*®. Pengukuran dilanjutkan pada menit ke 90, 120, 150 dan 270 setelah pemberian hati ayam segar.

Analisis data. Data yang diperoleh dari hasil pengukuran kadar asam urat dengan menggunakan alat *Easy Touch* dianalisis secara diskripsi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Rendemen simplisia dan ekstrak

Serbuk kulit buah kawista diperoleh sebanyak 458 g dari kulit segar sebanyak 735 gram. Hal ini menunjukkan rendemen simplisia yang diperoleh sebanyak 62,31%. Kemudian serbuk dimaserasi dengan pelarut metanol perbandingan 1:10, dengan 1 kali remaserasi, sehingga diperoleh ekstrak kental sebanyak 27,81 gram. Rendemen ekstrak yang dihasilkan yaitu sebesar 6,07%.

Hasil Penapisan fitokimia

Hasil penapisan fitokimia ekstrak kulit buah kawista positif mengandung saponin, tannin, alkaloid, flavonoid, dan terpenoid. Sedangkan pada serbuk kulit buah kawista positif mengandung saponin, alkaloid, flavonoid dan terpenoid. Hasil dari penapisan fitokimia dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Penapisan Fitokimia Serbuk dan Ekstrak Kulit Buah Kawista

No	Golongan Senyawa	Hasil Pengujian Kulit Buah Kawista	
		Serbuk	Ekstrak
1	Saponin	+	+
2	Tannin	-	+
3	Alkaloid	+	+
4	Flavonoid	+	+
5	Terpenoid	+	+

Keterangan :

- + : mengandung senyawa yang dimaksud
- : tidak mengandung senyawa yang dimaksud

Hasil pengujian anti asam urat secara in vivo

Pengujian anti asam urat dilakukan pada hewan coba mencit jantan yang berusia 2-3 bulan dengan berat 25-30 g. Kelompok perlakuan terdiri dari 5 kelompok, yaitu pemberian ekstrak kulit buah kawista 100 mg/kg BB (K100), 200 mg/kg BB (K200), 400 mg/kg BB (K400), Kontrol negatif (KN) dan Kontrol positif allopurinol (KA). Pengukuran kadar asam urat pada mencit dilakukan sebanyak 6 kali, yaitu pada menit ke 0, 60, 90, 120, 150 dan 270. Sebelum kadar asam urat mencit diukur pada menit ke 0, mencit terlebih dahulu dipuasakan selama 12 jam agar tidak ada pengaruh makan terhadap kadar asam urat darah.

Hasil pengukuran awal (t0), kadar asam urat mencit setelah dipuasakan pada masing-masing perlakuan tidak terdeteksi. Atau dengan kata lain kadar asam urat mencit setelah dipuasakan selama 12 jam rendah sehingga

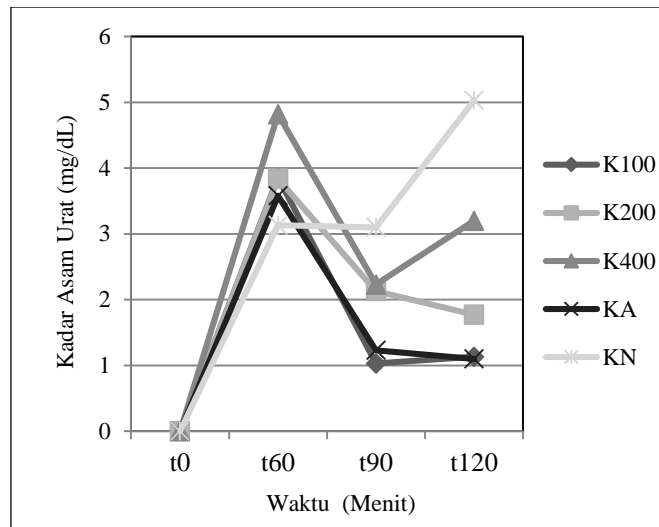
tidak terdeteksi pada alat *Easy Touch*® sehingga mencit dikatakan sehat. Kemudian mencit diberi makan hati ayam segar dengan spuit sonde secara oral sebanyak 1 mL, dengan tujuan membuat kadar asam urat mencit naik di atas normal. Setelah 60 menit pemberian hati ayam segar, kadar asam urat mencit diukur dan terjadi peningkatan pada masing-masing kelompok perlakuan rata-rata antara 3,13-4,82 mg/dL (Tabel 2). Hewan uji dikatakan hiperuresemia jika kadar asam urat darah $\geq 3,0$ mg/dL (Apriani *et al.*, 2016). Pada menit ke 60, mencit pada semua kelompok perlakuan dikatakan hiperurisemia atau menderita asam urat. Ketika kadar asam urat pada mencit meningkat masing-masing kelompok diberi perlakuan pemberian ekstrak kulit buah kawista 100 mg/kg BB pada K100, 200 mg/kg BB pada K200, 400 mg/kg BB pada K400, pemberian allopurinol pada kelompok kontrol positif (KA) dan pemberian aquadest pada kontrol negatif (KN). Kemudian kadar asam urat mencit diukur kembali dengan mengurut ujung ekor mencit yang telah dilukai dengan meneteskan darah yang keluar pada strip alat *Easy Touch*®.

Hasil pengukuran pada menit ke 90 (30 menit setelah pemberian perlakuan) terjadi penurunan kadar asam urat dalam darah mencit rata-rata kelompok perlakuan pada K100, K200, K400, KA, yaitu: 1,03; 2,13; 2,23; 1,23 mg/dL. Nilai rata-rata kadar asam urat pada t90 dapat dilihat pada Tabel 2. Pada pengukuran t120 kadar asam urat pada KA (kontrol positif) sudah banyak penurunan. Dan pada t150 dan t270 rata-rata kadar asam urat sulit ditentukan, karena hasil pembacaan alat sudah tidak dapat terukur.

Tabel 2. Kadar Asam Urat Mencit Selama Pengujian

Waktu	Perlakuan				
	K100	K200	K400	KA	KN
t0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
t60	3,85	3,84	4,82	3,58	3,13
t90	1,03	2,13	2,23	1,23	3,10
t120	1,13	1,77	3,20	1,10	5,03

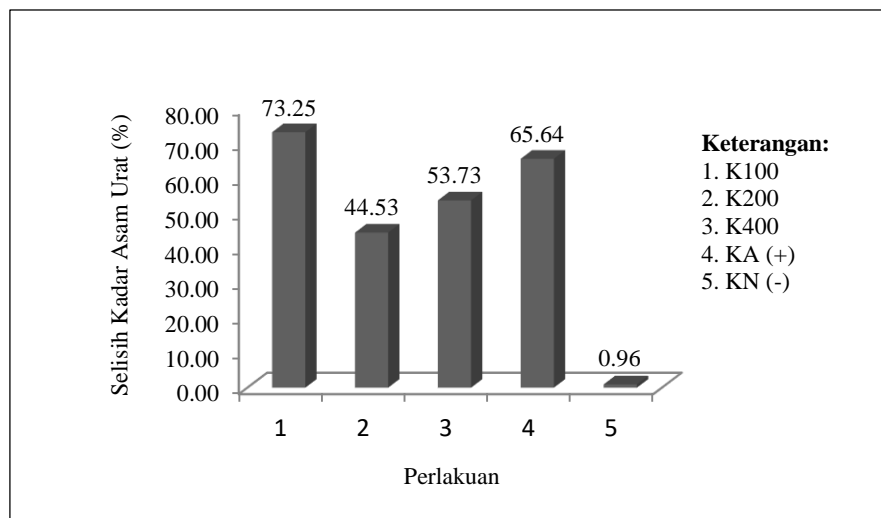
Keterangan: K100 : dosis ekstrak kulit buah kawista 100mg/kg BB
 K200 : dosis ekstrak kulit buah kawista 200mg/kg BB
 K400 : dosis ekstrak kulit buah kawista 400mg/kg BB
 KA : Kontrol Allopurinol (Positif)
 KN : Kontrol Negatif
 t0, t60, t90, t120 : waktu dalam menit ke 0, 60, 90, 120



Gambar 1. Grafik kadar asam urat mencit selama pengujian

Jika dilihat dari Gambar 1 di atas, tiap perlakuan memberikan hasil penurunan kadar asam urat darah pada menit ke 90 (t90) setelah diberi makan hati ayam segar. Penurunan kadar asam urat paling besar terdapat pada

Gambar 1, secara berurut dari tinggi ke rendah dengan perlakuan K100, KA, K400, K200 dan penurunan kadar asam urat terendah pada KN (Kontrol Negatif).



Gambar 2. Grafik persentase penurunan kadar asam urat

Perhitungan rata-rata selisih penurunan kadar asam urat perlakuan dosis K100 memiliki selisih penurunan kadar asam urat yang cukup besar yaitu 73,25%. Nilai tersebut paling tinggi jika dibandingkan dengan perlakuan dosis lain dan lebih tinggi jika dibandingkan dengan kontrol positif allopurinol (KA) yaitu 65,64% (Gambar 2). Berdasarkan hal tersebut dapat dikatakan bahwa perlakuan dosis K100 mampu menurunkan kadar asam urat dari kadar tertingginya dengan baik. Tidak hanya perlakuan K100, perlakuan K200 dan K400 juga terjadi penurunan kadar asam urat dengan selisih kadar asam urat 44,53% dan 53,73%, nilai tersebut masih lebih tinggi jika dibandingkan dengan kontrol negatif (KN) yaitu 0,96%. Perhitungan persen (%) penurunan kadar asam urat mencit tiap kelompok dihitung berdasarkan rumus:

$$\% \text{ Penurunan} = \frac{\text{kadar asam urat awal} - \text{kadar akhir}}{\text{rata-rata kadar asam urat awal}} \times 100 \%$$

Dimana : Kadar asam urat awal = kadar asam urat 60 menit setelah diberikan hati ayam
 Kadar asam urat akhir = kadar asam urat 90 menit setelah diberikan hati ayam (30 menit setelah diberikan perlakuan)

Persen penurunan dihitung dari data kadar asam urat awal yaitu pada menit ke 60, karena telah terjadi peningkatan kadar asam urat diatas normal ($\geq 3,0$ mg/dL), dikurangi kadar asam urat akhir dihitung pada menit ke 90 karena terjadi penurunan kadar asam urat pada semua perlakuan. Pada waktu t120 (menit ke 120) kontrol positif sudah mengalami banyak penurunan sehingga tidak digunakan sebagai kadar asam urat akhir dalam

perhitungan persentase penurunan kadar asam urat. Penentuan waktu kadar asam urat awal dan kadar asam urat akhir penelitian ini tidak jauh berbeda dengan penelitian Salsabila *et al.*, (2015), dimana pada penelitian tersebut t60 (menit ke 60) sebagai kadar asam urat awal dan waktu menit ke 90 (t90) merupakan batas kerja obat dan pembanding sehingga digunakan sebagai kadar asam urat akhir.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa dengan dosis terkecil ekstrak kulit buah kawista sudah dapat menurunkan kadar asam urat. Hal ini diduga karena kulit buah kawista mengandung senyawa flavonoid dan saponin. Flavonoid memiliki mekanisme kerja yang sama dengan allopurinol, yaitu menghambat kerja enzim xantin oksidase dalam proses metabolisme asam urat. Tidak hanya senyawa flavonoid, metabolisme asam urat juga dapat dihambat oleh saponin (Hasanah *et al.*, 2015).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian ekstrak metanol kulit buah kawista dosis 100 mg/kg BB (K100), 200 mg/kg BB (K200) dan 400 mg/kg BB (K400) memiliki aktivitas dalam menurunkan kadar asam urat dalam darah dengan persentase penurunan kadar asam urat secara berurut 73,25%, 44,53% dan 53,73%. Dosis yang memberikan penurunan kadar asam urat terbesar adalah dosis 100 mg/kg BB (K100), yaitu 73,25%.

UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terimakasih tidak lupa kami sampaikan kepada Kemenristekdikti yang telah memberikan dana hibah pada skema Penelitian Dosen Pemula 2019 (PDP) SK No. T/140/E3/RA.00/2019, dengan No. 42/AKM/MONOPNT/2019, sehingga penelitian ini dapat terlaksana.

DAFTAR PUSTAKA

- Qureshi, A.A., Eswar, K.K., & Shaista, O. (2010). *Feronia limonia*: A Path less travelled. *IJRAP*, 1(1), 98-106.
- Apriani, A. A., Prabowo, W. C., & Ibrahim, A. (2016). Efek antihiperurisemia ekstrak etanol daun mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa* Scheff. Boerl.) pada mencit putih (*Mus musculus*). Paper was presented on *Prosiding Seminar Nasional Tumbuhan Obat Indonesia Ke-50*, Samarinda, Indonesia
- Azmi, P., Jamal, & Amid, A. (2012). Xantine oxidase inhibitory activity from potential Malaysian medicinal plant as remedie for gout. *International Food Research Journal*, 19(1), 156-159.
- Darsini. D., Vellinggiri, M., Mounasamy, V., Surendran, M., & Jagathala, M. (2013). Antioxidant potential and amino acid analysis of underutilized tropical fruit *Limonia acidissima* L. *Free Radicals and Antioxidants*, 3, 62-69.
- Dewi. (2013). Bioaktivitas buah kawista (*Limonia acidissima*) Bima dan penentuan sidik jarinya menggunakan Kromatografi Lapis Tipis. *Skripsi*. Fakultas MIPA. IPB. Bogor.
- Hasanah, M., Anita, I., & Yuke, A. (2015). Perbandingan pemberian allopurinol dan air jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) terhadap kadar asam urat pada mencit hiperurisemia. Paper was presented on *Prosiding pendidikan Dokter*, Bandung, Indonesia.
- Ilango & Chitra, V. (2010). Wound healing and anti-oxidant activities of the fruit pulp of *Limonia acidissima* Linn. (*Rutaceae*) in rats. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 9(3), 223-230.
- Krisdayanti, L., Hajrah, H., & Ramadhan, A. M. (2016). Uji aktivitas antihiperuresemia ekstrak etanol biji salak (*Salacca zalacca*) terhadap tikus putih jantan galur Wistar (*Ratus novergicus*) yang diinduksi kalium oksonat. Paper was presented on *Prosiding Seminar Kefarmasiaan Ke-4*. Samarinda. Indonesia.
- Panda, N., Jagannath P., Basanta K., & Panda, P.K. (2013). Evaluation of phytochemical and antimicrobial activity of ethanolic extract of *Limonia acidissima* L. leaves. *International Journal of Herbal Medicine*, 1(1), 22-27.
- Pradhan, D., Tripathy, G., & Pantanaik, S. (2012). Anticancer activity of *Limonia acidissima* Linn (*Rutaceae*) fruit extracts on human breast cancer cell lines. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 11(3): 413-419.
- Salsabila, Sri, P., & Fetri L. (2015). Uji aktivitas anti hiperurisemia ekstrak etanol kulit buah salak (*Salacca zalacca*) terhadap mencit *Swiss Webster* jantan yang diinduksi kalium oxonat. Paper was presented on *Prosiding Penelitian SPeSIA* Unisba. Bandung. Indonesia.
- Widyastuti, Lucia, M., Riyanto. (2017). Pengaruh ekstrak kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) terhadap penurunan kadar asam urat mencit jantan (*Mus musculus* L.) yang diinduksi kalium bromat dan sumbangannya pada pembelajaran Biologi SMA. *Jurnal Pembelajaran Biologi*, 4(1), 15-27.