

PENGARUH PEMBERIAN INFUSA DAUN SALAM (*Eugenia polyantha* Wight) TERHADAP PENURUNAN KADAR ASAM URAT DARAH MENCIT PUTIH JANTAN YANG DIINDUKSI DENGAN POTASIMUM OKSONAT

SALAM (*Eugenia polyantha* Wight) LEAF INFUSA EFFECT IN REDUCING MALE MICE URIC ACID LEVEL INDUCED BY POTASSIUM OXONATE

Rina Ariyanti, Nurcahyanti Wahyuningtyas dan Arifah Sri Wahyuni
Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian infusa daun salam terhadap penurunan kadar asam urat darah mencit jantan yang diinduksi dengan potasium oksonat dosis 300 mg/kgBB. Sebanyak 30 ekor mencit jantan dibagi menjadi 6 kelompok. Kelompok I dan II sebagai kontrol diberi aqua proinjeksi 1,0 ml/20gBB dan diberi potasium oksonat dosis 300 mg/kgBB secara intraperitoneal. Kelompok III-VI masing-masing diberi perlakuan allopurinol 10 mg/kgBB (kontrol positif), infusa daun salam dosis berturut-turut 1,25 g/kgBB, 2,5 g/kgBB dan 5,0 g/kgBB secara peroral, dan diinduksi potasium oksonat 300 mg/kgBB secara intraperitoneal 1 jam setelah perlakuan. Serum darah diambil dari vena *ophthalmicus*, direaksikan dengan reagen uric acid*FS TBHBA (2,4,6-Tribromo-3-hydroxybenzoic acid) dan dibaca kadar asam uratnya pada panjang gelombang 546 nm setelah diinkubasi selama 10 menit. Hasil penelitian menunjukkan bahwa sediaan infusa daun salam dosis 1,25 g/kgBB; 2,5 g/kgBB dan 5,0 g/kgBB mampu menurunkan kadar asam urat darah mencit putih jantan yang diinduksi potasium oksonat dosis 300 mg/KgBB berturut-turut sebesar 79,98% ($P=0,000$), 112,27% ($P=0,004$) dan 112,75% ($P=0,006$).

Kata kunci: daun salam, infusa, asam urat

ABSTRACT

The purpose of this research was to study the effect of *Eugenia polyantha* leaf infusa to uric acid concentration of mice treated by potassium oxonate 300 mg/kgBW. Thirty male mice were divided into 6 groups, i.e the first group as a negative control, was treated with aqua 1.0 ml/20g/BW i.p, the second group was treated with oxonate potassium 300 mg/kgBW i.p, the third group as a positive control, was treated with allopurinol 10 mg/kgBW orally, and the fourth to sixth groups were treated with infusa of *Eugenia polyantha* doses 1.25; 2.5 and 5.0 g/kgBW orally, respectively. Potassium oxonate i.p was induced 1 hour after treatment. The serum was collected from vena *ophthalmicus*. The concentration of uric acid was determined with FS TBHBA. Data were analyzed by ANOVA and LSD test. The result showed that infusa *Eugenia polyantha* has a statistically significant effect to reduce the concentration of uric acid in mice.

Key words: Infusa of *Eugenia polyantha*, uric acid

PENDAHULUAN

Asam urat telah dikenal sejak abad V SM. Penyakit asam urat adalah istilah yang sering digunakan untuk menyebut salah satu jenis penyakit rematik artikuler (Utami, 2003). Asam urat merupakan substansi hasil akhir *nucleic acid* atau metabolisme purin dalam tubuh. Berdasarkan penyelidikan bahwa 90% dari asam urat merupakan hasil katabolisme purin yang dibantu oleh enzim guanase dan xantin oksidase (Shamley, 2005). Asam urat yang berlebihan tidak akan tertampung dan termetabolisme seluruhnya oleh tubuh, maka akan terjadi peningkatan kadar asam urat dalam darah yang disebut sebagai hiperurisemia. Hiperurisemia yang lanjut dapat berkembang menjadi *gout* (Klippel, 2000). Prevalensi *gout*

tidak hanya terjadi di Amerika Serikat saja tetapi juga di beberapa negara berkembang, seperti di Indonesia (Walker dan Edward, 2003). Data terakhir dari Rumah Sakit Umum Nasional Dr. Cipto Mangunkusumo menunjukkan terjadi kenaikan penderita sekitar 9 orang dari tahun 1993 sampai 1994 dan sekitar 19 orang dari 1994 sampai 1995 (Utami, 2003). Pada tahun 2007, menurut data pasien yang berobat di klinik RS CIPTO Mangun Kusumo (RSCM) Jakarta, penderita asam urat sekitar 7% dari keseluruhan pasien yang menderita penyakit rematik (Anonim, 2007).

Penggunaan obat tradisional di Indonesia pada hakekatnya merupakan bagian kebudayaan bangsa Indonesia. Keuntungan dari penggunaan obat tradisional adalah efek samping

yang relatif kecil dibandingkan obat modern, juga dapat digunakan sebagai senyawa penuntun untuk menemukan obat baru (Wijayakusuma, 1996). Daun salam (*Eugenia polyantha* Wight) yang biasa dimanfaatkan oleh masyarakat Indonesia sebagai pelengkap bumbu dapur juga mempunyai khasiat sebagai obat antara lain sebagai obat asam urat (Wijayakusuma, 2002).

Berdasarkan penelitian terdahulu menunjukkan bahwa dekokta daun salam pada dosis 1,25 g/kgBB mampu menurunkan kadar asam urat dalam darah mencit putih jantan secara efektif (Handadari, 2007). Oleh karena itu penulis ingin mencoba membandingkan keefektifan antara sediaan infusa dan dekokta daun salam dalam menurunkan kadar asam urat darah pada mencit putih jantan.

METODE PENELITIAN

Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental semu dengan rancangan penelitian acak lengkap pola searah.

Variabel Penelitian

1. Variable bebas: variabel bebas dalam penelitian ini adalah dosis potasium oksonat (300 mg/kgBB), allopurinol (10 mg/kgBB) dan infusa daun salam (1,25 g/kgBB; 2,5 g/kgBB dan 5,0 g/kgBB) serta aqua p.i. (1 ml/20gBB).
2. Variable tergantung: variabel tergantung dalam penelitian ini adalah kadar asam urat darah.
3. Variable terkontrol: variabel terkontrol dalam penelitian ini antara lain: berat badan, jenis kelamin, umur, strain dan makanan dari hewan uji serta daun salam yang digunakan dalam penelitian.

Alat: panci infus, timbangan analitik (Presica A-SCS), spuit injeksi volume 3,0 ml (Terumo), spuit injeksi untuk insulin 1,0 ml, spuit oral ukuran 15 gauge (Terumo), flakon, timbangan mencit kapasitas 2610 gram (Lark, Cina), timbangan analitik (Presica A-SCS), pipa kapiler (Assistent), *microtube sentrifuge* (eppendorf), sentrifuge (mini spin), vortex, mikropipet ukuran 5-40 µl; 200-1000 µl, *blue tip*, *yellow tip*, StarDust FC* 15 (DyaSys), kuvet disosibel dan alat-alat gelas (Pyrex).

Bahan: daun salam segar dari Desa Bonomerto yang diambil 10 helai dari pucuk daun pada pagi hari, potasium oksonat p.a. (Aldrich Chemical Company), allopurinol p.a. (Sigma), aqua p.i., akuades dan bahan pengukur kadar asam urat yaitu reagen *uric acid* FS* TBHBA (DyaSys) serta hewan uji yaitu

mencit putih (*Mus musculus*) jantan galur Swiss yang sehat dengan berat badan sekitar 25-35 gram dan telah berumur 2-3 bulan.

Jalan Penelitian

Determinasi tanaman

Determinasi tanaman ini adalah untuk menetapkan kemurnian sampel daun salam yang berkaitan dengan ciri-ciri makroskopis terhadap pustaka. Tanaman ini dideterminasi di Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Biologi Universitas Muhammadiyah Surakarta.

Pengumpulan bahan

Daun salam diperoleh dari Desa Bonomerto, Kecamatan Suruh, Kabupaten Semarang. Daun diambil 10 helai dari pucuk daun dua jam sebelum disari.

Pembuatan infusa daun salam

Pembuatan infusa dilakukan dengan cara sebagai berikut: daun salam yang telah ditimbang, dicuci kemudian dimasukkan dalam panci infus ditambah akuades 100 ml dan ditambah lagi akuades sebanyak dua kali bobot daun salam kemudian dipanaskan selama 15 menit mulai dihitung ketika suhunya mencapai 90°C sambil sekali-kali diaduk. Infusa diserai selagi panas melalui kain flannel. Untuk mencukupi kekurangan air, dapat menambahkan air melalui ampasnya.

Penelitian pendahuluan

1. Orientasi dosis potasium oksonat dengan mencoba dosis 250 mg/kgBB dan 300 mg/kgBB terhadap kontrol normal dengan pemberian aqua p.i. secara intraperitoneal.
2. Orientasi waktu pengambilan darah dengan percobaan pengambilan darah yang dilakukan pada jam ke-1, 3, 6, 25, 27 dan ke-30 setelah pemberian potasium oksonat dosis 300 mg/kgBB.

Penentuan dosis

1. Dosis allopurinol yang digunakan adalah 10 mg/kgBB atau 0,2 mg/20 gBB, dimana dosis ini mengacu pada penelitian sebelumnya (Zhao *et al.*, 2005).
2. Dosis potasium oksonat yang digunakan adalah 300 mg/kgBB yang mengacu pada penelitian pendahuluan.
3. Dosis infusa daun salam yang diberikan pada hewan uji dalam penelitian adalah 1,25 g/kgBB; 2,5 g/kgBB dan 5 g/kgBB (konsentrasi 5%, 10% dan 20%).

Penginduksian hiperurisemia

Kadar asam urat tinggi (hiperurisemia) dibuat dengan cara menginjeksikan secara intraperitoneal potasium oksonat 300 mg/kgBB

atau 6 mg/20gBB pada mencit 1 jam setelah pemberian sediaan uji.

Perlakuan pada hewan uji

Hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit putih jantan galur *Swiss* dengan berat rata-rata 25-35 gram dan berumur 2-3 bulan.

Hewan uji tersebut diadaptasikan terlebih dahulu dengan lingkungan penelitian selama 1 hari dan dipuasakan \pm 18 jam sebelum penelitian dimulai dengan diberi air minum *ad libitum*. Perlakuan terhadap hewan uji dilakukan pada jam 14.00-15.00 WIB.

Hewan uji yang berjumlah 30 ekor dibagi menjadi 6 kelompok sama banyak, yaitu sebagai berikut:

Kelompok I: kontrol negatif hiperurisemia (normal), diberi aqua proinjeksi 1,0 ml/20gBB secara intraperitoneal.

Kelompok II: kontrol hiperurisemia, diberi potasium oksonat dosis 300 mg/kgBB (1 ml/20gBB) secara intraperitoneal.

Kelompok III: kontrol positif, diberi allopurinol dosis 10 mg/kgBB secara peroral dan potasium oksonat dosis 300 mg/kgBB (1 ml/20gBB) secara intraperitoneal 1 jam setelah perlakuan.

Kelompok IV : diberi infusa daun salam dosis 1,25 g/kgBB secara peroral dan potasium oksonat dosis 300 mg/kgBB (1 ml/20gBB) secara intraperitoneal 1 jam setelah perlakuan.

Kelompok V: diberi infusa daun salam dosis 2,5 g/kgBB secara peroral dan potasium oksonat dosis 300 mg/kgBB (1 ml/20gBB) secara intraperitoneal 1 jam setelah perlakuan.

Kelompok VI: diberi infusa daun salam dosis 5,0 g/kgBB secara peroral dan potasium oksonat dosis 300 mg/kgBB (1 ml/20gBB) secara intraperitoneal 1 jam setelah perlakuan.

Pengambilan darah

Satu jam setelah induksi hiperurisemia, darah diambil lewat mata mencit dengan cara menusuk cabang vena *ophthalmicus* yang terletak pada *saccus medianus orbitales* dengan pipa kapiler. Darah yang mengalir lewat pipa kapiler ditampung dalam tabung ependorf yang dipegang miring kira-kira sebanyak 0,5 ml. Darah tersebut dialirkan lewat dinding tabung ependorf untuk menghindari terjadinya hemolisis. Setelah ditunggu beberapa saat, ketika darah dalam tabung ependorf menggumpal baru kemudian darah disentrifus dengan kecepatan 3000 rpm selama 5 menit kemudian diambil serumnya.

Penetapan kadar asam urat

Kadar asam urat ditetapkan berdasarkan reaksi enzimatik menggunakan reagen *uric acid* FS* TBHBA, dengan cara 20 μ l serum ditam-

bah 1000 μ l monoreagen yang dibuat dengan mencampurkan 4 bagian reagen 1 dan 1 bagian reagen 2. Serum yang telah dicampur homogen dengan pereaksi *uric acid* FS* TBHBA diinkubasi selama 10 menit pada suhu 37° C. Selanjutnya larutan sampel, standart dan blanko dibaca absorbansinya dengan menggunakan spektrofotometer StartDust FC*15 pada panjang gelombang 546 nm.

Analisis Data

Data yang diperoleh dari penelitian yang berupa kadar asam urat darah diuji statistik dengan analisis varian satu jalan kemudian dilanjutkan dengan uji Bonferroni dengan taraf kepercayaan 95%. Dari data kadar asam urat darah tersebut dihitung prosentase penurunan dengan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ penurunan} = \frac{\text{rata-rata kontrol hiperurisemia} - \text{perlakuan}}{\text{rata-rata kontrol hiperurisemia} - \text{kontrol normal}} \times 100\%$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman dimaksudkan untuk menetapkan kemurnian sampel daun salam yang berkaitan dengan ciri-ciri makroskopis dengan mencocokkan ciri-ciri tersebut terhadap pustaka. Determinasi tanaman dilakukan di laboratorium Biologi FKIP Universitas Muhammadiyah Surakarta dengan menggunakan literatur *Flora of Java* (Backer, 1965) dan *Flora* (Van Steenis, 2003). Hasil determinasi adalah sebagai berikut:

1b_2b_3b_4b_6b_7b_9b_10b_11b_12b_14a_15_109b_120b_128b_129b_135b_136b_139b_140b_142b_143b_146b_154b_155b_156a_157a_158a

Myrtaceae

1b_2b _____ Eugenia

1a _____ *Eugenia polyantha* Wight

Dari hasil determinasi diatas dapat dipastikan bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian adalah *Eugenia polyantha* Wight.

Hasil Uji Pendahuluan

Uji pendahuluan dilakukan untuk mengetahui bagaimana model hiperurisemia pada mencit putih jantan, yaitu dengan mencari dosis efektif potasium oksonat dalam menaikkan kadar asam urat dari kondisi normal serta mencari waktu pengambilan darah yang optimal, dimana asam urat dalam darah mencapai kadar yang tertinggi pada jam tertentu setelah diinduksi dengan potasium oksonat.

Tabel 1—Data kadar asam urat darah (mg/dl) setelah diinduksi potasium oksonat dengan tiga peringkat dosis (n = 3)

Perlakuan	No HU	Kadar Asam urat (mg/dL)	$\bar{X} \pm SD$ (mg/dL)
Tanpa perlakuan (Normal)	1	0,89	0,917 \pm 0,031
	2	0,95	
	3	0,91	
Potasium oksonat 250 mg/ kgBB	1	1,16	1,437 \pm 0,532
	2	2,05	
	3	1,10	
Potasium oksonat 300 mg/ kgBB	1	3,20	3,197 \pm 0,95
	2	3,29	
	3	3,10	

Berdasarkan hasil orientasi tersebut diperoleh dosis potasium oksonat yang dapat menaikkan kadar asam urat darah yang tertinggi pada dosis 300 mg/kgBB. Dosis yang dipilih untuk penelitian adalah dosis 300 mg/kgBB dimana hal ini sesuai dengan pernyataan yang menyatakan bahwa mencit dikatakan hiperurisemia bila kadar asam urat darahnya sebesar 1,7–3,0 mg/dL (Mazzali *et al.*, 2001) dan pada dosis 250 mg/kgBB belum bisa dikatakan hiperurisemia. Hal tersebut juga didukung dengan uji statistik yang memberikan hasil signifikan.

Penetapan waktu pengambilan darah yang optimal pada penelitian ini mengacu pada penelitian sebelumnya (Zhao *et al.*, 2005), dan didukung oleh penelitian yang dilakukan pada jam ke-1, 3, 6, 25, 27 dan ke-30. Dari uji penetapan waktu pengambilan darah tersebut diperoleh hasil bahwa pengambilan darah yang optimal terjadi pada jam ke-1 setelah diinduksi dengan potasium oksonat.

Tabel 2—Data persentase peningkatan kadar asam urat (mg/dl) pada waktu tertentu (jam) setelah induksi potasium oksonat dosis 300 mg/kgBB

Perlakuan	Jam ke-	Kadar	Persentase kenaikan kadar asam urat terhadap normal (%)
Normal	0	0,89	0,00
	1	3,20	259,55
	3	1,67	87,64
Potasium oksonat 300 mg/kg BB	6	1,71	92,13
	25	1,31	47,19
	27	0,51	-42,70
	30	0,34	-61,80

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa pengambilan darah pada jam ke-1 setelah diinduksi dengan potasium oksonat dosis 300 mg/kgBB memberikan peningkatan kadar asam urat yang paling tinggi (Tabel 2). Semakin lama waktu pengambilan darah setelah induksi dengan potasium oksonat semakin kecil kadar asam urat dalam darahnya. Hal ini kemungkinan disebabkan karena waktu paruh dari potasium oksonat yang pendek atau proses eliminasi dari dalam tubuh yang terlalu cepat sehingga potasium oksonat dalam darah

telah habis, dimana hal ini menyebabkan potasium oksonat tidak dapat menghambat urikase dalam proses penguraian asam urat menjadi allantoin. Hal ini dapat terlihat pada jam ke-27 dan 30 nilai kadar asam urat dalam darahnya negatif.

Hasil Uji Infusa Daun Salam

Pada penelitian ini digunakan hewan uji mamalia bukan primata yaitu mencit putih jantan (*Mus musculus*) yang memiliki enzim urikase yang dapat memecah asam urat dengan membentuk produk akhir allantoin yang bersifat larut dalam air (Martin, 1987). Untuk memperkecil variasi biologis, maka peneliti melakukan pengendalian terhadap beberapa variabel. Pengendalian tersebut dilakukan dengan cara menggunakan hewan uji yang kurang lebih sama variasi biologisnya yaitu diantaranya dengan berat badan sekitar 25-35 gram, umur 2-3 bulan, galur Swiss, jenis kelamin jantan dan diperlakukan sama yaitu ditempatkan dalam kandang dengan jumlah tiap kandangnya sama dan diberi makanan sama yaitu pellet dan sebelum diberi perlakuan, hewan uji dipuaskan terlebih dahulu selama 18 jam dengan tetap diberi minum *ad libitum*. Hal ini dilakukan agar kondisi hewan uji sama dan untuk mengurangi pengaruh makanan yang dikonsumsi terhadap sediaan uji yang diberikan dalam penelitian. Dan untuk mengurangi tingkat kestresan, hewan uji diadaptasikan dengan kondisi laboratorium selama 7 hari.

Pemilihan jenis kelamin jantan lebih didasarkan pada pertimbangan bahwa mencit jantan tidak mempunyai hormon estrogen, jikalau ada hanya dalam jumlah yang relatif sedikit serta kondisi hormonal pada jantan lebih stabil jika dibandingkan dengan mencit betina, karena pada mencit betina mengalami perubahan kondisi hormonal pada masa-masa tertentu seperti pada masa siklus estrus, masa kehamilan dan menyusui yang dapat mempengaruhi kondisi psikologis hewan uji tersebut. Selain itu tingkat stress pada mencit betina lebih tinggi dibandingkan dengan mencit jantan yang mungkin dapat mengganggu pada saat pengujian.

Potasium oksonat digunakan sebagai induktor hiperurisemia karena potasium oksonat merupakan inhibitor urikase yang kompetitif untuk meningkatkan kadar asam urat dengan jalan mencegah asam urat menjadi allantoin. Dimana allantoin bersifat larut dalam air dan dapat diekskresi lewat urin, sehingga dengan dihambatnya enzim urikase oleh potasium oksonat maka asam urat akan tertumpuk dan tidak tereliminasi dalam bentuk urin.

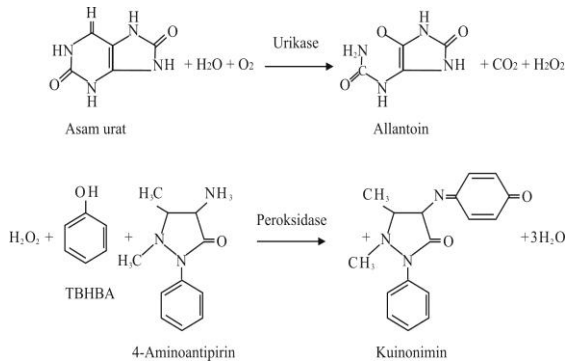
Kontrol positif yang digunakan adalah allopurinol yaitu salah satu obat pirai atau *gout*

yang sering digunakan dalam pengobatan. allopurinol dalam dosis rendah sebagai penghambat ksantin oksidase yaitu suatu enzim yang mengoksidasi asam urat secara kompetitif menjadi oksipurinol (= allantoin) (Tjay dan Raharja, 2002).

Sediaan uji yang digunakan untuk menurunkan asam urat dalam penelitian ini adalah infusa daun salam yang disari dengan metode infundasi dimana metode ini ada 2 cara penyarian yaitu infusa dan dekokta. Yang membedakan antara kedua cara tersebut hanyalah pada waktu penyariannya yaitu infusa selama 15 menit, sedangkan dekokta selama 30 menit (Anonim, 1986). Metode ini juga merupakan cara yang mirip dengan penggunaan bahan nabati sebagai obat tradisional yaitu dengan merebus bahan dan mengambil konsentrasinya untuk diminum sehingga kesetaraan perlakuan penggunaan secara tradisional dan perlakuan dalam penelitian identik. Daun salam yang digunakan dalam penelitian ini berupa daun yang masih segar. Senyawa kimia yang terkandung dalam tanaman salam adalah minyak atsiri, tannin, polifenol dan flavonoid. Senyawa yang bertanggungjawab terhadap penurunan kadar asam urat darah ini belum diketahui secara pasti sehingga perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk meneliti senyawa aktif dalam daun salam yang berfungsi menurunkan kadar asam urat dalam darah tersebut.

Penetapan kadar asam urat ditetapkan dengan metode enzimatik, dengan menggunakan reagen *Uric acid FS** TBHBA (2,4,6-tribromo-3-hydroxybenzoic acid) dengan menggunakan alat spektrofotometer StarDust FC 15. Mekanisme yang terjadi adalah asam urat dioksidasi oleh enzim urikase dengan bantuan H₂O dan O₂ menjadi allantoin, karbondioksida dan hidrogen peroksida. Hidrogen peroksida yang terbentuk akan bereaksi dengan 4-amino antipirin dan TBHBA (2,4,6-tribromo-3-hydroxybenzoic acid) menjadi kuinonimin yang berwarna merah muda dimana reaksi tersebut dikatalisis oleh enzim peroksidase (POD). Besarnya intensitas warna yang dihasilkan oleh kuinonimin tersebut ekuivalen dengan kadar asam urat dalam darah (Gambar 1).

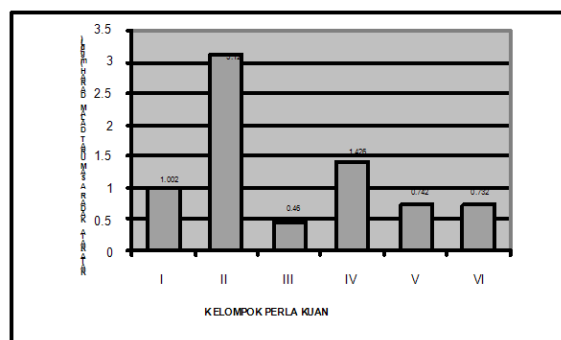
Dalam penelitian ini, perlu diperhatikan kemungkinan adanya senyawa pengganggu dalam penetapan kadar asam urat. Senyawa pengganggu tersebut terutama terdapat dalam sel-sel darah merah. Senyawa dalam sel darah merah yang diketahui paling mengganggu adalah glutatone dan ergotion. Untuk mengurangi gangguan digunakan darah yang tidak hemolisis, sehingga glutatone dan ergotionen tidak lepas dari sel darah merah (Dawiesah, 1989).



Gambar 1—Mekanisme reaksi pembentukan senyawa kuinonimin (Schunack *et al.*, 1990)

Tabel 3—Data kadar asam urat darah mencit jantan putih setelah perlakuan

Kelompok	No. HU	Berat Badan(gr)	Kadar Asam Urat (mg/dl)	$\bar{X} \pm SEM$
Kontrol normal (aqua p.i.)	1	30,2	1,24	1,002 ± 0,064
	2	28,8	1,02	
	3	28,8	0,91	
	4	29,7	0,95	
	5	28,4	0,89	
Kontrol hiperurisemia (potasium oksonat)	1	31,5	3,20	3,102 ± 0,061
	2	31,0	2,98	
	3	31,0	3,03	
	4	31,0	3,29	
	5	30,2	3,01	
Kontrol positif (allopurinol)	1	33,3	0,37	0,460 ± 0,031
	2	32,6	0,47	
	3	32,5	0,41	
	4	29,1	0,51	
	5	32,0	0,54	
Infusa daun salam 1,25 g/kgBB	1	26,3	1,20	1,426 ± 0,104
	2	26,7	1,21	
	3	25,0	1,40	
	4	26,5	1,60	
	5	25,0	1,72	
Infusa daun salam 2,5 g/kgBB	1	26,5	0,64	0,742 ± 0,048
	2	25,6	0,64	
	3	26,2	0,72	
	4	25,6	0,85	
	5	25,5	0,86	
Infusa daun salam 5,0 g/kgBB	1	26,2	0,65	0,732 ± 0,035
	2	26,4	0,69	
	3	28,7	0,72	
	4	26,4	0,74	
	5	26,7	0,86	



Gambar 2—Histogram hubungan antara kelompok perlakuan dengan rata-rata kadar asam urat darah (mg/dL) pada mencit putih jantan

Keterangan

Kelompok I: kontrol normal (aqua proinjeksi)

Kelompok II: kontrol hiperurisemia (potasium oksonat 300 mg/kgBB)

Kelompok III: kontrol positif (allopurinol dosis 10 mg/KgBB + potasium oksonat 300 mg/KgBB)

Kelompok IV: diberi infusa daun salam 1,25 g/kgBB + potasium oksonat 300 mg/KgBB

Kelompok V: diberi infusa daun salam 2,5 g/kgBB + potasium oksonat 300 mg/KgBB

Kelompok VI: diberi infusa daun salam 5,0 g/kgBB + potasium oksonat 300 mg/KgBB

Kelompok I: kontrol normal (aqua proinjeksi)

Kelompok II: kontrol hiperurisemia (potasium oksonat 300 mg/kgBB)

Kelompok III: kontrol positif (allopurinol dosis 10 mg/KgBB + potasium oksonat 300 mg/KgBB)

Kelompok IV: diberi infusa daun salam 1,25 g/kgBB + potasium oksonat 300 mg/KgBB

Kelompok V: diberi infusa daun salam 2,5 g/kgBB + potasium oksonat 300 mg/KgBB

Kelompok VI: diberi infusa daun salam 5,0 g/kgBB + potasium oksonat 300 mg/KgBB

Potasium oksonat 300 mg/kgBB berhasil menginduksi kenaikan asam urat (Tabel 3, Gambar 2). Hal ini juga didukung oleh penelitian sebelumnya yang menyebutkan bahwa mencit dikatakan hiperurisemia bila kadar asam uratnya 1,7-3,0 mg/dL dengan kadar asam urat normal 0,5-1,4 mg/dL (Mazzali et al., 2001).

Dari data kadar asam urat yang diperoleh tersebut kemudian dilakukan uji statistik dengan SPSS 11.0 for Windows. Uji yang dilakukan pertama kali adalah uji distribusi data dengan metode Kolmogorof-Smirnov. Uji ini dilakukan untuk mengetahui apakah sampel terdistribusi normal atau tidak. Hasil uji ini menunjukkan bahwa data hasil penelitian terdistribusi secara normal dengan nilai $p = 0,07$ dan taraf kepercayaan 95%. Selanjutnya dilakukan uji homogenitas variannya dan diperoleh hasil dengan harga Levene statistic sebesar 2,759 dan signifikansi 0,042 ($p < 0,05$) sehingga data tersebut tidak homogen karena syarat homogen $p > 0,05$. Oleh karena itu, agar data tersebut terdistribusi secara homogen maka data kadar asam urat dalam darah ditransformasikan ke dalam bentuk log kadar, kemudian diuji kembali dan diperoleh hasil bahwa data tersebut terdistribusi normal dengan nilai $p = 0,604$ ($p > 0,05$) dan variannya homogen dengan harga Levene statistic sebesar 1,849 dan $p = 0,141$ ($p > 0,05$) sehingga uji dapat dilanjutkan dengan uji ANAVA satu jalan.

Untuk mengetahui adanya perbedaan terhadap besarnya kadar asam urat yang ditimbulkan maka dilakukan uji statistik analisa varian satu jalan. Berhubung hasilnya signifikan maka dilanjutkan dengan uji Bonferroni untuk mengetahui signifikansi antar perlakuan.

Tabel 4—Hasil signifikansi uji bonferroni antar kelompok perlakuan untuk data log kadar asam urat

Kel	I	II	III	IV	V	VI
I	-	0,000*	0,000*	0,004*	0,019*	0,014*
II	-	-	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*
III	-	-	-	0,000*	0,000*	0,000*
IV	-	-	-	-	0,000*	0,000*
V	-	-	-	-	-	1,000
VI	-	-	-	-	-	-

Keterangan: *: Menunjukkan perbedaan yang signifikan jika $p < 0,05$

Dari tabel 4 tersebut terlihat bahwa kelompok I (kontrol normal) berbeda bermakna terhadap kelompok II dengan signifikansi sebesar 0,000. Hal ini berarti bahwa pemberian potasium oksonat dapat meningkatkan kadar asam urat darah secara nyata, pembuatan model hiperurisemia dapat dikatakan berhasil.

Allopurinol yang merupakan salah satu obat asam urat yang bekerja dengan menghambat ksantin oksidase terbukti mampu menurunkan asam urat dengan optimal dalam penelitian ini. Hal ini terbukti pada data hasil penelitian antara kelompok II dan III berbeda bermakna ($p < 0,05$) dengan nilai penurunan sebesar $125,59\% \pm 1,48$ (Tabel 4).

$$\% \text{ penurunan} = \frac{\text{kontrol hiperurise mia} - \text{perlakuan}}{\text{kontrol hiperurise mia} - \text{kontrol normal}} \times 100\%$$

Tabel 5—Persentase penurunan kadar asam urat darah mencit putih jantan terhadap kontrol hiperurisemia

Perlakuan	No. HU	Kadar asam urat (mg/dL)	Persentase penurunan (%)	$\bar{X} \pm SEM$
Allopurinol 10 mg/kgBB	1	0,37	129,84	$125,59 \pm 1,48$
	2	0,41	127,95	
	3	0,47	125,12	
	4	0,51	123,23	
	5	0,54	121,81	
Infusa daun salam 1,25 g/kgBB	1	1,20	90,65	$79,98 \pm 4,90$
	2	1,21	90,18	
	3	1,40	81,21	
	4	1,60	71,77	
	5	1,72	66,10	
Infusa daun salam 2,5 g/kgBB	1	0,64	117,09	$112,27 \pm 2,29$
	2	0,64	117,09	
	3	0,72	113,31	
	4	0,85	107,18	
	5	0,86	106,70	
Infusa daun salam 5,0 g/kgBB	1	0,65	116,75	$112,75 \pm 1,67$
	2	0,69	114,27	
	3	0,72	113,31	
	4	0,74	112,37	
	5	0,86	106,70	

Dari data persentase penurunan kadar asam urat terhadap kontrol hiperurisemia seperti pada tabel 5 tersebut dilakukan uji statistik dimana diperoleh hasil bahwa sediaan infusa mampu menurunkan kadar asam urat mencit putih jantan yang diinduksi dengan potasium oksonat dan hasil tersebut belum setara dengan kontrol positif yaitu pemberian allopurinol dosis 10 mg/kgBB karena hasilnya berbeda bermakna (Tabel 6).

Tabel 6—Hasil signifikansi uji bonferroni antar kelompok perlakuan untuk data prosentase penurunan kadar asam urat

Kel	I	II	III	IV
I	-	0,000*	0,004*	0,006*
II	-	-	0,000*	0,000*
III	-	-	-	1,000
IV	-	-	-	-

Keterangan: * : Menunjukkan perbedaan yang signifikan jika $p < 0,05$

Kelompok I : allopurinol 10 mg/kgBB

Kelompok II : infusa daun salam dosis 1,25 g/kgBB

Kelompok III : infusa daun salam dosis 2,5 g/kgBB

Kelompok IV : infusa daun salam dosis 5,0 g/kgBB

Sediaan infusa daun salam terbukti dapat menurunkan kadar asam urat darah pada mencit putih jantan, yaitu pada dosis 2,5 g/kgBB mampu menurunkan kadar asam urat darah mencit jantan yang paling tinggi yaitu sebesar $112,27 \% \pm 2,29$. Besarnya penurunan yang dihasilkan oleh infusa daun salam ini lebih efektif bila dibandingkan dengan dekokta daun salam, karena dekokta daun salam pada dosis 1,25 g/kgBB telah mampu menurunkan kadar asam urat darah sebesar $135,32 \% \pm 0,38$. Perbedaan ini kemungkinan disebabkan karena dalam sediaan infusa bahan yang digunakan berupa daun segar, sedangkan dekokta menggunakan simplisianya dimana bobot kering dari simplisia sama dengan 0,2333 x bobot basahnya sehingga jika sama-sama menggunakan daun segar pada dosis 1,25 g/kgBB, dosis infusa setelah dikonversikan ke manusia adalah sebesar 0,139 g/kgBB dan dosis dekoktanya sebesar 0,596 g/kgBB atau dapat dikatakan dosis dekokta yang digunakan lebih kurang sebesar 4 kali dosis infusa. Hal ini juga didukung dengan lamanya waktu penyarian pada infusa yang lebih singkat, yaitu selama 15 menit sedangkan dekokta selama 30 menit dimana kemungkinan ada senyawa-senyawa yang berperan dalam penurunan kadar asam urat darah rusak karena pemanasan yang terlalu lama sehingga efek yang ditimbulkan pun akan berkurang.

Pada kelompok V dan VI (Tabel 5) atau dapat pula dilihat pada kelompok III dan IV (Tabel 6) menunjukkan hasil yang tidak berbeda bermakna sehingga tidak perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui berapa kadar yang optimal yang mampu menurunkan kadar asam urat darah mencit putih jantan karena tingkat penurunan dari infusa daun salam yang optimal telah terjadi pada dosis 2,5 g/kgBB. Hal ini kemungkinan disebabkan karena telah terjadi penjumlahan pada dosis tersebut sehingga meskipun dosis dinaikkan, zat aktif yang tersari kadarnya sama. Oleh karena itu penurunan kadar asam uratnya pun akan sama meski dosis dinaikkan.

Mekanisme penurunan kadar asam urat pada penelitian ini belum diketahui secara pasti. Efek penurunan kadar asam urat infusa daun salam diduga disebabkan oleh penghambatan ksantin oksidase atau dapat disebabkan oleh adanya peningkatan ekskresi urin ataupun kombinasi keduanya yaitu antara penghambatan ksantin oksidase dan peningkatan ekskresi urin. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan mengukur aktivitas enzim ksantin oksidase ataupun dengan menghitung jumlah asam urat yang diekskresikan melalui urin yang diekresikan oleh mencit setelah pemberian sediaan infusa daun salam dengan pembandingan probenesid (obat asam urat yang bersifat *urikosurika*) dimana mekanisme kerjanya dengan jalan menghindarkan resorpsi kembali urat di tubuli proksimal untuk mengetahui mekanisme penurunan kadar asam urat darah.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

1. Infusa daun salam (*Eugenia polyantha* Wight) dosis 1,25 g/kgBB, 2,5 g/kgBB dan 5,0 g/kgBB mempunyai aktivitas menurunkan kadar asam urat darah pada mencit putih jantan yang diinduksi dengan potasium oksonat dosis 300 mg/kgBB.
2. Sediaan infusa daun salam terbukti dapat menurunkan kadar asam urat darah mencit putih jantan secara optimal pada dosis 2,5 g/kgBB yaitu menurunkan kadar asam urat darah sebesar $112,27 \% \pm 2,29$ terhadap kontrol hiperurisemia.
3. Penurunan kadar asam urat yang disebabkan oleh pemberian infusa daun salam (*Eugenia polyantha* Wight) tersebut belum setara dengan kontrol positif yaitu allopurinol dosis 10 mg/kgBB.

Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui zat aktif dalam daun salam yang bertanggung jawab terhadap penurunan kadar asam urat.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan mengukur aktivitas dari enzim ksantin oksidase untuk mengetahui mekanisme dari penurunan asam urat dalam darah.
3. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut pula dengan menghitung jumlah asam urat yang diekskresikan melalui urin yang diekskresikan oleh mencit dengan menggunakan pembandingan yang mekanisme kerjanya dengan jalan menghindarkan resorpsi kembali urat di tubuli proksimal, misalnya dengan obat asam urat yang bersifat urikosurik yaitu probenesid untuk mengetahui mekanisme penurunan kadar asam urat darah.

DAFTAR ACUAN

- Anonim, 1986, *Sediaan Galenik*, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta
- Anonim, 2007, *Data Pasien Asam Urat di RSCM* (on line), (<http://www.depkes.go.id>). Diakses 12 Februari 2007
- Backer, A and Van Den Brink, B., 1965, *Flora of Java (Spermatophytes Only)*, Volume I, N.V.P. The Netherlands, Noordhoff-Groningen
- Dawiesah, I.S., 1989, *Penentuan Nutrien dalam Jaringan dan Plasma Tubuh*, Hal 54–61, PAU Pangan dan Gizi, UGM. Yogyakarta
- Handadari, H.R., 2007, Efek Decocta Daun Salam (*Eugenia polyantha* Wight.) terhadap Penurunan Kadar Asam Urat dalam Darah Mencit Putih (*Mus musculus*) Jantan Hiperurisemia, *skripsi* Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta, Surakarta
- Martin, D.W., 1987, *Metabolisme Nukleotida Purin dan Pirimidin dalam Biokimia Harper*, Edisi 20, diterjemahkan oleh Darmawan, Iyan, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta
- Mazzali, M., Kanellis J., Han L., Feng L., Yang Xia Li, Chen Q., Duk-Hee Kang, Katherine L., Gordon, Watanabe S., Nakagawa T., Hui Y. Lan, and Richard J. Johnson., 2001, *Hyperuricemia Induces A Primary Renal Arteriopathy in Rats By A Blood Pressure-independent Mechanism*, Division of Nephrology, Baylor College of Medicine, Houston, Texas 77030
- Schunack, W., Mayer, and K., Manfred, H., 1990, *Senyawa Obat Kimia Farmasi*, diterjemahkan oleh Joke, Witlmena dan Soebita, S., Gajah Mada University Press, Yogyakarta
- Shamley. D., 2005, *Pathophysiology An Essential Text for the Allied Health Professions*, Elsevier Limited, USA
- Tjay, T.H., dan Raharja., 2002, *Obat – Obat Penting*. Khasiat, Penggunaan dan Efek–efek Sampingnya, edisi V, Cetakan ke-2, Penerbit PT. Elex Media Komputindo Kelompok Gramedia, Jakarta
- Utami, P., 2003, *Tanaman Obat untuk Mengatasi Rematik dan Asam Urat*, Agromedia Pustaka, Jakarta
- Van Steenis, C.G.G.J., 2003, *Flora*, PT. Pradnya Paramita, Jakarta
- Walker, R. and Edward, C., 2003, *Clinical Pharmacy And Therapeutics*, Edisi 3, Churchill Livingstone, USA
- Wijayakusuma, H., 2002, *Tumbuhan Berkhasiat Obat Indonesia Rempah, Rimpang dan Umbi*. Prestasi Instan Indonesia, Jakarta
- Zhao, X., Zhu, X. dan Pan, Y., 2005, *Effects Of Cassia Oil On Serum and Hepatic Uric Acid Levels In Oksonate-Induced Mice and Xantine Dehydrogenase and Xantin Oksidase Activities In Mouse Liver*, *Journal Of Ethnopharmacology*, (<http://www.elsevier.com/locate/jethpharm>, diakses 15 Agustus 2005)