



Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar Unand.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin Unand.

**EFEK ANTIHIPERURISEMIA FRAKSI ETANOL DARI EKSTRAK
DAUN KEMBANG SUNGSANG (Gloriosa Superba Linn.)
TERHADAP TIKUS PUTIH DIABETES**

TESIS



**DWITIYANTI
0821213013**

**PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS ANDALAS
2011**

**EFEK ANTIHIPERURISEMIA FRAKSI ETANOL DARI EKSTRAK
DAUN KEMBANG SUNGSANG (*Gloriosa Superba* Linn.) TERHADAP
TIKUS PUTIH DIABETES**

Oleh : Dwitiyanti

(Pembimbing : Prof.Dr.Helmi Arifin,MS.Apt dan Prof.Dr.Almahdy A.Apt)

RINGKASAN

Daun kembang sungsang (*Gloriosa superba* L.) secara tradisional digunakan sebagai antihiperurisemia. Tanaman ini mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, tanin dan triterpenoid. Untuk memisahkan senyawa berdasarkan kepolarannya, maka dilakukan fraksinasi. Dalam hal ini digunakan fraksi etanol, etil asetat, dan n-heksan. Pemilihan fraksi bertujuan untuk mengetahui fraksi yang mempunyai efek paling besar sebagai antihiperurisemia.

Penelitian dilakukan dua tahap. Tahap pertama mengukur kadar asam urat dari tiga fraksi. Tahap kedua fraksi yang berpotensi menurunkan asam urat paling besar di uji kadar asam urat pada keadaan asam urat tinggi dan pada keadaan patologis diabetes. Penelitian ini menggunakan tikus putih galur *Sprague-Dawley* sebagai hewan percobaan. Untuk uji tahap pertama hewan dibagi menjadi 12 kelompok perlakuan, K-I (kelompok normal), K-II kelompok pembanding (alopurinol), K-III (kelompok positif, yang diinduksi kalium oxonat), K-IV (fraksi etanol dosis 50 mg/kg BB), K-V (fraksi etanol dosis 25 mg/ kg BB), K-VI (fraksi etanol 12,5 mg/kg BB), K-VII (fraksi etil asetat dosis 50 mg/kg BB), K-VIII (fraksi etil asetat dosis 25 mg/kg BB), K-IX (fraksi etil asetat 12,5 mg/kg BB), K-X (fraksi n-heksan dosis 50 mg/kg BB), K-XI (fraksi n-heksan dosis 25 mg/kg BB), K-XII (fraksi n-heksan 12,5 mg/kg BB).

Penelitian tahap kedua hewan dibagi menjadi 10 kelompok, K-I sampai K-V merupakan kelompok perlakuan asam urat tinggi, K-I (positif yang di induksi asam urat), K-II (fraksi etanol dosis 40 mg/kg BB), K-III (fraksi etanol dosis 30 mg/kg BB), K-IV (fraksi etanol dosis 20 mg/kg BB), K-V (alopurinol). K-VI sampai K-X, kelompok perlakuan patologis diabetes, K-VI (fraksi etanol dosis 40 mg/kg BB), K-VII (fraksi etanol dosis 30 mg/kg BB), K-VIII (fraksi etanol dosis 20 mg/kgBB), K-IX (allopurinol), K-X (positif yang di induksi asam urat dan DM). Pengukuran kadar asam urat tahap pertama dilakukan pada hari ke-1,7 dan 14. Sedangkan Pengukuran kadar asam urat darah tahap kedua dilakukan pada hari ke- 0, 7,14, dan 21.

Uji efek asam urat dilakukan dengan metode induksi menggunakan kalium oksonat secara intraperitoneal. Kalium oksonat bekerja dengan cara menghambat enzim urikase yang mengubah asam urat menjadi allantoin. Dibandingkan dengan asam urat, allantoin lebih mudah diekskresikan. Dengan dihambatnya enzim urikase, maka kadar asam urat pada tikus akan meningkat dan dapat digunakan sebagai model keadaan hiperurisemia.

Sedangkan pada keadaan patologis diabetes, hewan uji di induksi dengan streptozotocin. Streptozotocin mengalami peningkatan kadar glukosa darah. hal ini disebabkan karena pemberian streptozotocin dapat merusak sel β pankreas, dimana dalam pengaturan kadar gula darah sel β merupakan unsur terpenting, mengingat fungsinya sebagai penghasil insulin.

Pengukuran kadar asam urat dalam darah diukur dengan menggunakan metode *enzimatik photometrik* menggunakan pereaksi asam urat FS TBHBA (*2,4,6-Tribromo-3-hydroxybenzoic acid*). Pada pengukuran metode ini, asam urat

diubah secara enzimatis menjadi allantoin, hydrogen peroksida, serta karbon dioksida. Hidrogen peroksida yang terbentuk akan bereaksi dengan 4-aminoantipirin dan TBHBA menjadi *quinoneimine* berwarna merah sebagai indikator.

Hasil uji analisa statistik ANAVA dua arah pada penelitian tahap pertama atau uji pendahuluan menunjukkan bahwa setelah hari perlakuan diperoleh ($p < 0,05$). Pada uji Tukey HSD menunjukkan adanya perbedaan nyata antara kelompok positif (induksi kalium oxonat) dengan kelompok pembanding dan kelompok yang diberi sediaan uji. Semua sediaan uji mampu menurunkan kadar asam urat lebih besar dari kontrol positif ($p < 0,05$). Penurunan kadar asam urat yang lebih besar terjadi pada kelompok V (fraksi etanol dosis 25 mg/kg BB).

Hasil uji analisa statistik ANAVA dua arah pada penelitian tahap kedua (uji lanjutan) menunjukkan bahwa setelah hari perlakuan diperoleh ($p < 0,05$). Hal ini berarti terdapat pengaruh antara kelompok perlakuan, dosis dan lama pemberian sediaan uji terhadap penurunan kadar asam urat darah. Pada uji Tukey HSD menunjukkan adanya pengaruh lama pemberian dengan penurunan kadar asam urat, berdasarkan pengukuran hari, penurunan kadar asam urat terjadi pada hari ke-0 kemudian menurun terus sampai hari ke-21. Kadar asam urat pada hari ke-21 merupakan kadar asam urat paling rendah dibandingkan pengukuran pada hari ke-14 dan 7. Peningkatan penurunan kadar asam urat pada keadaan patologis diabetes lebih besar dibandingkan dengan keadaan asam urat tinggi. Hal ini dapat diartikan bahwa zat uji memiliki aktivitas semakin tinggi pada keadaan patologis diabetes, sehingga dosis zat uji harus diturunkan pada keadaan patologis diabetes.

**EFEK ANTIHIPERURISEMIA FRAKSI ETANOL DARI EKSTRAK
DAUN KEMBANG SUNGSANG (*Gloriosa Superba* Linn.) TERHADAP
TIKUS PUTIH DIABETES**

TESIS

OLEH

DWITIYANTI

08.212.13.013

**Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh
gelar Magister Farmasi pada Program Pascasarjana
Universitas Andalas**

**PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS ANDALAS
PADANG
2011**

PERNYATAAN KEASLIAN TESIS

Dengan ini saya menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa tesis yang saya tulis dengan judul "EFEK ANTIHIPERURISEMIA FRAKSI ETANOL DARI EKSTRAK DAUN KEMBANG SUNGSANG (*Gloriosa Superba* Linn.) TERHADAP TIKUS PUTIH DIABETES " adalah hasil kerja/karya saya sendiri dan bukan merupakan jiplakan dari hasil kerja/karya orang lain, kecuali kutipan yang sumbernya dicantumkan.

Jika dikemudian hari pernyataan ini tidak benar, maka status kelulusan dan gelar yang saya peroleh menjadi batal dengan sendirinya.

Padang, Januari 2011

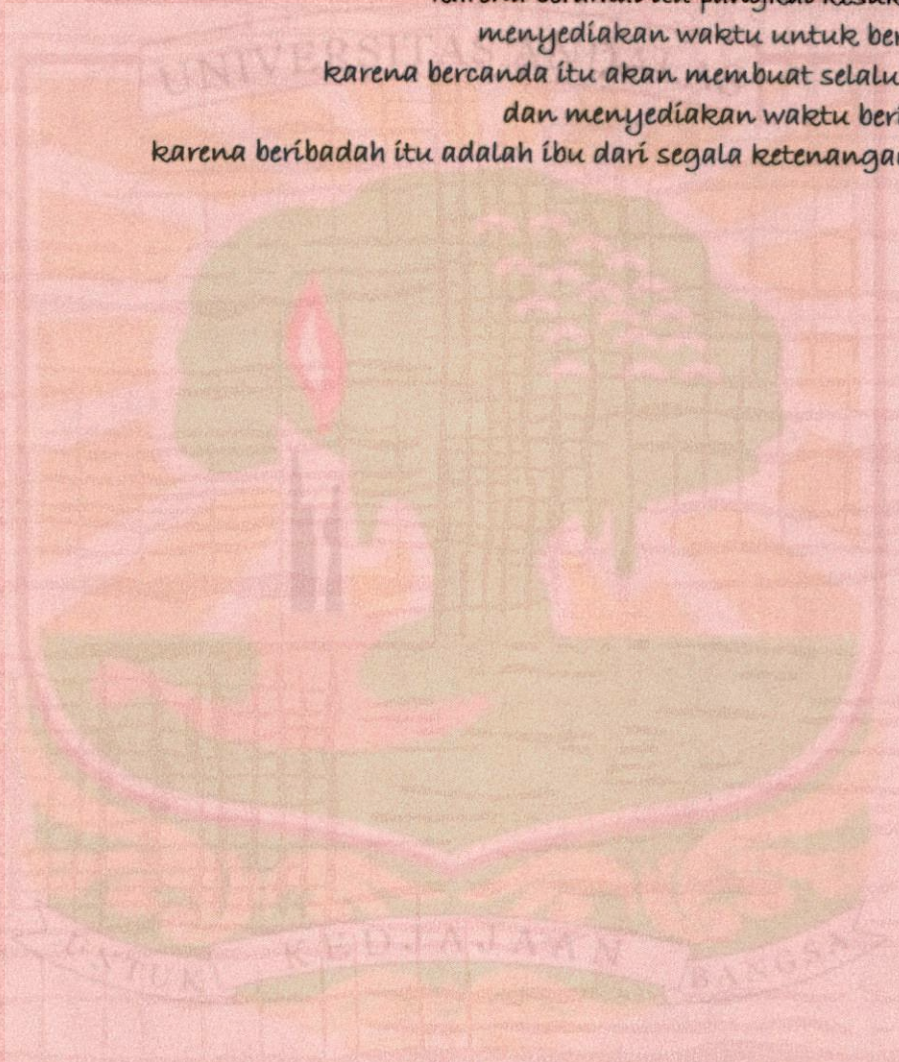
Yang Membuat Pernyataan



DWITIYANTI

UNTUK KEDJAJAAN BANGSA

Orang yang bahagia itu
akan selalu menyediakan waktu untuk membaca
karena membaca itu sumber ilmu,
menyediakan waktu tertawa
karena tertawa itu musik jiwa,
menyediakan waktu untuk berfikir
karena berfikir itu dasar kemajuan,
menyediakan waktu untuk beramal
karena beramal itu pangkal kesuksesan,
menyediakan waktu untuk bercanda
karena bercanda itu akan membuat selalu muda
dan menyediakan waktu beribadah
karena beribadah itu adalah ibu dari segala ketenangan jiwa.



Tesis ini kupersembahkan untuk kedua orang tuaku yang luar biasa, suamiku tercinta yang tak henti-hentinya memberi semangat dan perhatian, serta putri cantikkeu Nadiva zetha kireysa atas cinta dan kasih sayang yang mampu memotivasi hingga terciptanya karya ini.

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan pada tanggal 05 Mei 1982 di Jakarta, sebagai anak kedua dari Bapak Kadiran Nuryanto dan Ibu Budi Yanti. Penulis menamatkan SD pada tahun 1994, SMP tahun 1997 dan SMU pada tahun 2000 di Jakarta. Penulis memperoleh gelar Sarjana Sains pada Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Muhammadiyah Prof. DR. Hamka Jakarta tahun 2005 dan memperoleh gelar Apoteker pada Program Studi Apoteker Universitas Muhammadiyah Prof. DR. Hamka Jakarta tahun 2007.

Sejak tahun 2008 sampai sekarang, penulis ditugaskan sebagai staf pengajar oleh Universitas Muhammadiyah Prof. DR. Hamka Jakarta. Penulis menikah tahun 2008 dengan Wisnu Widayat, SE dan telah dikaruniai satu orang putri, Nadiva Zetha Kireysa (14 Maret 2009). Pada tahun 2008 memperoleh kesempatan melanjutkan pendidikan pada Program Studi Farmasi Program Pascasarjana Universitas Andalas di Padang.

KATA PENGANTAR



Puji dan syukur kehadiran Allah SWT, karena berkat rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis yang berjudul : **“EFEK ANTIHIPERURISEMIA FRAKSI ETANOL DARI EKSTRAK DAUN KEMBANG SUNGSANG (*Gloriosa Superba* Linn.) TERHADAP TIKUS PUTIH DIABETES”**. Penyusunan tesis ini merupakan salah satu syarat untuk memperoleh gelar Magister Farmasi pada program Pascasarjana Universitas Andalas.

Dalam penyusunan tesis ini, berbagai pihak telah banyak memberikan dorongan, bantuan serta masukan kepada penulis. Dengan penuh kerendahan hati, penyusun menyampaikan terima kasih yang tidak terhingga kepada semua pihak yang langsung maupun tidak langsung, turut andil dan memotivasi penyelesaian tesis ini, antara lain kepada :

1. Direktur Program Pascasarjana Universitas Andalas Padang, Bapak Prof.Dr.Ir.H. Novirman Jamarun, M.Sc., yang telah memberi kesempatan kepada penulis untuk dapat belajar dan menggali ilmu pada almamater yang beliau pimpin.
2. Ketua Program Farmasi Pascasarjana Universitas Andalas Padang, Bapak Prof.Dr.Dachriyanus,Apt. dan Prof.Dr.Akmal Djamaan, Apt. yang telah mengarahkan dan banyak memberikan bekal ilmu kepada penulis.
3. Prof. Dr. Helmi Arifin, MS. Apt, dan Prof. Dr. Almahdy A, Apt., selaku pembimbing yang telah banyak memberikan pengetahuan dan bimbingan yang sangat bermanfaat dalam penulisan tesis ini.
4. Seluruh Dosen Magister Program Studi Farmasi Universitas Andalas, yang telah berkenan mentransfer dan membuka cakrawala ilmu pengetahuan kepada penulis.
5. Rektor Universitas Muhammadiyah Prof.Dr.Hamka, Prof. Dr.H.Suyatno beserta Staf yang telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk melanjutkan studi magister.

6. Pimpinan,seluruh Dosen, dan Karyawan Fakultas Farmasi UHAMKA, Jakarta. Atas segala bantuan yang telah diberikan.
7. Kepala laboratorium Puslitbang Biomedis dan Farmasi, Drs.Cornelis Adimunca beserta seluruh staf atas segala bantuan dan kemudahan yang diberikan selama melaksanakan penelitian.
8. Bapak dan Ibu tercinta, Kadiran Nuryanto dan Budi Yanti, serta Bapak Cipto suyono dan Ibu Suyatmi. Kakak dan adik tersayang Rini Wijayanti, dan Yoga Sugama, yang selalu memberikan dukungan moril dan materiil sehingga tugas akhir ini dapat terselesaikan.
9. Suamiku tercinta, Wisnu Widayat, SE. atas segala jerih payah, dorongan, kesabaran dan perhatian yang tak henti-hentinya, serta yang terpenting kebersamaan yang terbaik dalam suka dan duka yang pernah dihadapi.
10. Putri Kecilku yang cantik, Nadiva Zetha Kireysa terimakasih atas segala pengorbanan, cinta, dan kasih sayang, serta senyum manis yang mampu memberi semangat dan motivasi dalam menyelesaikan tesis ini.
11. Bapak Hari dan keluarga, Bapak Firmansyah dan keluarga (keponakanku yang lucu Keyla), Ibu Sardi dan keluarga serta Eyang putri Sunari dan keluarga atas segala dukungan.
12. Teman-teman seperjuangan, sahabat-sahabatku (elly,icha,robby,lia,vina dan kiki) semangat terus demi meraih kesuksesan, serta semua teman-teman yang tidak mungkin penulis sebutkan satu persatu.

Penulis telah berusaha menampilkan tesis ini dalam kondisi yang terbaik dan setepat mungkin, namun karena keterbatasan dan kelemahan yang ada, pasti terbuka kemungkinan kesalahan. Untuk itu penulis mengharap masukan positif dari semua pihak untuk perbaikan tesis ini.

Akhirnya, semoga tesis ini membawa manfaat untuk pengembangan ilmu pengetahuan. Amin.

Jakarta, Januari 2011

Penulis

Dwitiyanti

DAFTAR ISI

		Halaman
HALAMAN JUDUL		i
RINGKASAN.....		ii
KATA PENGANTAR		ix
DAFTAR ISI		xi
DAFTAR TABEL		xiii
DAFTAR GAMBAR		xiv
DAFTAR LAMPIRAN		xvi
BAB I	PENDAHULUAN	1
	1.1 Latar Belakang	1
	1.2 Perumusan Masalah.....	3
	1.3 Tujuan Masalah	3
	1.4 Hipotesis Penelitian	3
	1.5 Manfaat Penelitian	3
BAB II	TINJAUAN PUSTAKA	4
	2.1 Daun kembang sungsang.....	4
	2.2. Simplisia	6
	2.3. Ekstrak.....	7
	2.4 Asam Urat	9
	2.5 Obat-obat anti Gout.....	13
	2.6 Kalium Oxonat	15
	2.7 Diabetes Mellitus... ..	16
	2.8 Streptozotocin	20

2.9	Tinjauan metodologi.....	21
BAB III	METODOLOGI PENELITIAN	22
3.1	Tempat dan Jadwal Penelitian	22
3.2	Metode Penelitian	22
3.3	Prosedur Penelitian	23
3.4	Analisis Data	35
BAB IV	HASIL DAN PEMBAHASAN	36
4.1	Aklimitasi dan Rancangan Percobaan.....	36
4.2	Determinasi Tumbuhan.....	36
4.3	Ekstrasi daun Kembang Sungsang.....	36
4.4	Fraksinasi.....	37
4.5	Hasil uji Penapisan fitokimia.....	37
4.6	Karakteristik Ekstrak dan fraksi.....	38
4.7	Hasil pengukuran kadar asam urat uji pendahuluan.....	39
4.8	Hasil pengukuran kadar asam urat uji lanjutan.....	40
4.9	Pembahasan.....	42
BAB V	KESIMPULAN DAN SARAN	52
5.1	Kesimpulan	52
5.2	Saran	52
	DAFTAR PUSTAKA	53
	LAMPIRAN	57

DAFTAR TABEL

Nomor		Halaman
1.	Prosedur pengukuran asam urat.....	34
2.	Data simplisia dan hasil ekstraksi.....	37
3.	Hasil Fraksinasi.....	37
4.	Hasil Penapisan Fitokimia Ekstrak.....	37
5.	Hasil Penapisan Fitokimia Fraksi.....	38
6.	Uji organoleptis ekstrak.....	38
7.	Karakteristik fraksi etanol daun kembang sunsang.....	38
8.	Data pengukuran kadar asam urat tikus (uji pendahuluan).....	39
9.	Penurunan rata-rata kadar asam urat	40
10.	Persentase penurunan rata-rata kadar asam urat uji lanjutan.....	41
11.	Perlakuan hewan uji (uji pendahuluan).....	61
12.	Perlakuan hewan uji (uji pendahuluan).....	62

DAFTAR GAMBAR

Nomor		Halaman
1.	Kembang Sungsang	4
2.	Rumus bangun asam urat	9
3.	Pembentukan asam urat	10
4.	Patofisiologi gout dan cara kerja obat-obatnya.....	12
5.	Rumus bangun Allopurinol.....	13
6.	Rumus bangun kalium oksonat	15
7.	Rumus bangun streptozotocin.....	20
8.	Grafik rata-rata kadar asam urat (uji pendahuluan).....	39
9.	Bahan uji.....	57
10.	Ekstrak etanol daun kembang sungsang	59
11.	fraksi etanol daun kembang sungsang	59
12.	fraksi etil asetat daun kembang sungsang	60
13.	fraksi n-heksan daun kembang sungsang	60
14.	Rotary evaporator.....	63
15.	Spektrofotometer klinikal	63
16.	Hewan percobaan.....	64
17.	pemberian obat melalui oral	64
18.	Proses pengambilan darah tikus melalui sinus orbital.....	65
19.	Grafik rata-rata penurunan kadar asam urat dosis 40 mg.....	75
20.	Grafik rata-rata penurunan kadar asam urat dosis 30 mg.....	75

21. Grafik rata-rata penurunan kadar asam urat dosis 20 mg..... 76
22. Grafik rata-rata penurunan kadar asam urat alopurinol..... 76
23. Grafik rata-rata penurunan asam urat kelompok positif..... 77
24. persentase penurunan kadar asam urat dosis 20 mg/kgBB... 78
25. persentase penurunan kadar asam urat dosis 30 mg/kgBB.... 78
26. persentase penurunan kadar asam urat dosis 40 mg/kgBB.... 79
27. persentase penurunan kadar asam urat dosis alopurinol..... 80



DAFTAR LAMPIRAN

Nomor		Halaman
1.	Bahan uji	57
2.	Skema alur fraksinasi	58
3.	Ekstrak dan fraksi daun kembang sungsang	59
4.	Perlakuan hewan uji (uji pendahuluan).....	61
5.	Perlakuan hewan uji (uji lanjutan).....	62
6.	Peralatan penelitian	63
7.	Hewan Percobaan	64
8.	Pengambilan darah tikus	65
9.	Perhitungan penetapan kadar senyawa terlarut dalam pelarut tertentu dan perhitungan kadar abu	66
10.	Hasil determinasi tumbuhan	67
11.	Sertifikat Analisa Kalium Oksonat	68
12.	Setifikat Analisa Allopurinol	69
13.	Setifikat Analisa Streptozotocin.....	70
14.	Hasil statistik asam urat uji pendahuluan.....	71
15.	Hasil statistik asam urat uji lanjutan.....	73
16.	Grafik rata-rata kadar asam urat dengan uji Ttest.....	75
17.	Penurunan persentase kadar asam urat pada keadaan asam urat tinggi maupun dalam patologis diabetes.....	78

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Asam urat sering dialami masyarakat saat ini, dan banyak diderita oleh kelompok usia produktif, yaitu usia 30 – 50 tahun, sehingga hal ini dapat menurunkan produktivitas kerja secara keseluruhan.

Asam urat merupakan hasil akhir katabolisme purin dalam tubuh yang tidak memiliki fungsi fisiologis sehingga dianggap sebagai produk buangan. Pada kondisi patofisiologis terjadi peningkatan kadar asam urat dalam darah melewati batas normal (pria 3,4-7,0 mg/dl; wanita 2,4-6,0 mg/dl) yang disebut hiperurisemia. Pada hiperurisemia akan dapat terjadi akumulasi kristal asam urat pada persendian sehingga menimbulkan rasa sakit atau nyeri yang dikenal dengan istilah penyakit pirai atau gout (Priyanto, 2009).

Gout, juga memicu meningkatnya resiko penyakit lain, seperti diabetes mellitus. Penelitian yang dilakukan oleh Vasquez Mellado diketahui 86 % pasien dengan gout mengalami sindrom metabolik yang meningkatkan glukosa sehingga menyebabkan resistensi insulin dan diabetes tipe 2 serta peningkatan penyerapan asam urat (hiperurisemia) (Setyohadi, bambang, 2007).

Dimasa yang akan datang prevalensi dan insiden sindrom metabolik diperkirakan semakin meningkat seiring dengan peningkatan prevalensi

dan insiden obesitas dan gaya hidup, yang akan meningkatkan resistensi insulin (Choi HK, 2009).

Hasil Survei yang dilakukan mengenai prevalensi pasien hiperurisemia dengan gangguan sindrom metabolik (diabetes mellitus) dari lima wilayah di DKI Jakarta pada tahun 2006, terlihat bahwa kadar asam urat yang cenderung meningkat secara linear. Pada kelompok sindroma metabolik dijumpai 29% mengalami hiperurisemia (Isbagio Hary, 2007).

Usaha penelitian pencarian obat baru semakin berkembang pesat seiring dengan perkembangan ilmu dan teknologi serta peningkatan jumlah dan jenis penyakit. Tanaman sebagai sumber senyawa bioktif alami merupakan bahan baku potensial yang menunjang usaha pencarian senyawa-senyawa yang memiliki aktivitas biologik terhadap sel hidup, khususnya sebagai senyawa bioaktif medicinal. Munculnya berbagai dampak negatif dari pemakaian zat-zat kimia sintetik, menyebabkan bahan alam saat ini lebih banyak digunakan.

Pemanfaatan tanaman berkhasiat obat atau herbal digunakan sebagai salah satu upaya untuk menanggulangi masalah kesehatan. Saat ini beberapa tanaman obat telah dikembangkan dan diantaranya telah diteliti untuk menguji efektifitasnya. Salah satunya yaitu kembang sunsang (*Gloriosa superba* L.)

Pudjiastuti melaporkan penelitiannya pada tahun 2003 mengenai daun kembang sunsang (*Gloriosa Superba* Linn.) yang telah berhasil digunakan untuk pengobatan gout (Pudjiastuti, 2003). Tahun 2008 sandi gunawan dkk, melaporkan penelitiannya mengenai potensi ekstrak etanol

daun kembang sungsang sebagai antidiabetes dan berhasil digunakan sebagai penurun kadar glukosa darah (Gunawan sandi, 2008).

Berdasarkan hal di atas, maka dilakukan pengujian efek anti-asam urat fraksi etanol dari ekstrak daun kembang sungsang terhadap tikus putih jantan diabetes. Peningkatan kadar asam urat dilakukan dengan induksi menggunakan kalium oksonat dan pengukuran kadar asam urat darah hewan uji dilakukan dengan menggunakan metode photometric enzimatik dengan menggunakan *photometer* EMP-168.

1.2 Perumusan Masalah

Apakah fraksi etanol dari ekstrak daun kembang sungsang dapat menurunkan kadar asam urat darah pada tikus putih diabetes ?

1.3 Tujuan Penelitian

Untuk mengetahui pengaruh fraksi etanol dari ekstrak daun kembang sungsang terhadap kadar asam urat pada tikus putih diabetes.

1.4 Hipotesis Penelitian

Fraksi etanol daun kembang sungsang dapat menurunkan kadar asam urat darah pada tikus putih diabetes.

1.5 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah dan pengetahuan kepada masyarakat tentang penggunaan daun kembang sungsang sebagai antihiperurisemia dalam keadaan patologis diabetes mellitus.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan tanaman Obat Daun Kembang sungsang

2.1.1 Klasifikasi dan tata nama



Gambar 1. Kembang sungsang (*Gloriosa superba* Linn.)

Kingdom : *Plantae*

Divisi : *Spermatophyta*

Bangsa : *Liliales*

Keluarga : *Liliaceae*

Marga : *Gloriosa*

Jenis : *Gloriosa superba* L.

Sinonim : *Metonicha superba* L. (annika, 2003)

2.1.2 Nama Daerah

Daun kembang sungsang memiliki nama daerah kembang jonggrang, kembang kuku macan (Jakarta), ketongkat (Jawa), kembang sungsang

(Sunda), dongkel sungsang, pacing tawa (Jawa), mandhalika (Madura), mandalika (Bali). (Dalimartha, 2003)

2.1.3 Morfologi Tanaman

Daun kembang sungsang merupakan terna tahunan yang berbatang lunak, memanjat dengan sulur pendek menggulung berbentuk spiral yang terdapat di ujung daun, tinggi mencapai 2,5 m, percabangan melebar, dan tidak berambut. Daun tunggal, tersebar atau hampir berhadapan, bentuk lanset, ujung runcing, pangkal memeluk batang, tepi rata, panjang 8-25 cm, lebar 1-4 cm, dan warnanya hijau, bunga tunggal, keluar di ketiak daun, dan bertangkai panjang. Bunga kuncup bentuknya bulat memanjang, bertangkai panjang, ujungnya runcing menghadap ke bawah. Jika mekar, bunga nya akan membalik ke atas, mahkota berjumlah enam yang bentuk nya keriting, bagian atas warnanya merah, pangkalnya berwarna kuning kehijauan, dan tidak cepat layu. Warna bunga lama kelamaan akan menjadi merah keseluruhan. Buah panjangnya 4-5 cm. Bijinya banyak dan berwarna coklat orange. Akarnya mempunyai umbi yang tumbuhnya horizontal, berukuran besar, dan beracun. Perbanyak dengan biji atau umbi (Dalimartha, 2003)

2.1.4 Ekologi dan Penyebaran

Kembang sungsang dapat ditemukan tumbuh liar di semak belukar, hutan jati, atau di tanam sebagai tanaman hias yang di rambatkan dipagar atau pergola. Tanaman yang rajin berbunga terutama di awal musim penghujan ini asalnya dari daerah tropik di benua Asia dan Afrika. Kembang sungsang merupakan terna tahunan yang berumur panjang. Pada saat-saat tertentu tidak

terlihat pertumbuhannya, dan akan timbul tunas-tunas sewaktu musim penghujan. Tanaman ini menyukai tempat terbuka yang terkena sinar matahari penuh dan dapat di temukan dari daerah pantai sampai ketinggian 300 m di atas permukaan laut (Dalimartha, 2003).

2.1.5 Kandungan Kimia Tanaman

Daun kembang sungsang mengandung Alkaloid, gloriosina, kholune, hars, fitosteol, fitosterolin, stigmasterol (Dalimartha, 2003).

2.1.6 Kegunaan dan Khasiat Tanaman

Daun kembang sungsang biasa digunakan sebagai stimulan, meredakan panas dalam, pereda nyeri (analgesik), menghilangkan bengkak, dan mempunyai efek anti bakteri (Dalimartha, 2003). Daun kembang sungsang juga digunakan sebagai obat untuk menurunkan kadar glukosa darah (Gunawan sandi, 2008) dan obat untuk menurunkan kadar asam urat (Pudjiastuti, 2003). Akar tanaman kembang sungsang memiliki efek antibakteri dan antifungi (Khan H, 2008) .

2.2 Simplisia

Simplisia adalah bahan alamiah yang dipergunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun juga kecuali dinyatakan lain berupa bahan yang telah dikeringkan. Simplisia dikelompokkan menjadi tiga macam yaitu simplisia nabati, hewani, dan mineral. Simplisia nabati adalah simplisia yang berupa tanaman utuh, bagian tanaman atau eksudat tanaman. Simplisia hewani berupa zat-zat berguna yang dihasilkan oleh hewan dan belum berupa zat-zat kimia murni. Simplisia mineral merupakan simplisia yang berasal dari

bumi, baik telah diolah atau belum, tidak berupa zat kimia murni (Anonim, 2000).

2.3 Ekstrak

Ekstrak adalah sediaan kering, kental atau cair yang diperoleh dengan mengekstraksi senyawa aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan masa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan. Secara umum metode ekstraksi dengan menggunakan pelarut dibagi menjadi 2 yaitu cara dingin dan cara panas (Anonim, 2000).

2.3.1 Cara Dingin

2.3.1.1 Maserasi

Maserasi adalah proses pengekstrakan simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan.

2.3.1.2 Perkolasi

Perkolasi adalah ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru sampai sempurna yang umumnya dilakukan pada temperatur ruangan. Proses terdiri dari tahapan pengembangan bahan, tahap maserasi antara, tahap perkolasi sebenarnya (penetesan atau penampungan ekstrak), terus menerus sampai diperoleh ekstrak (perkolat).

2.3.2 Cara Panas

2.3.2.1 Infus

Infus adalah ekstraksi dengan pelarut air pada temperatur penangas air (bejana infus tercelup dalam penangas air mendidih, temperatur terukur (96°C – 98°C)).

2.3.2.2 Soxhlet

Soxhlet adalah ekstraksi menggunakan pelarut yang selalu baru yang umumnya dilakukan dengan alat khusus sehingga terjadi ekstraksi berkelanjutan dengan jumlah pelarut konstan dengan adanya pendingin balik.

2.3.2.3 Refluks

Refluks adalah ekstraksi 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.

2.3.2.4 Digesti

Digesti adalah maserasi kinetik (dengan pengadukkan kontinu) pada temperatur ruangan (kamar), yaitu secara umum dilakukan pada temperatur 40°C - 50°C .

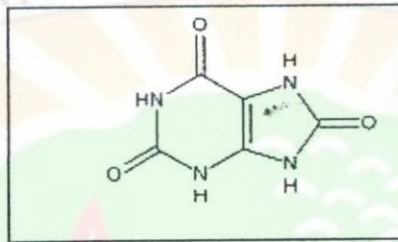
2.3.2.5 Dekok

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

2.4 Asam Urat

2.4.1 Sifat fisika dan kimia asam urat

Asam urat dikenal dengan nama kimia 2,6,8-trioksipurin, merupakan asam lemah organik dengan berat molekul 169. Asam urat merupakan senyawa yang berbentuk kristal (lubert stryee, 2000).



Gambar 2. Rumus bangun asam urat

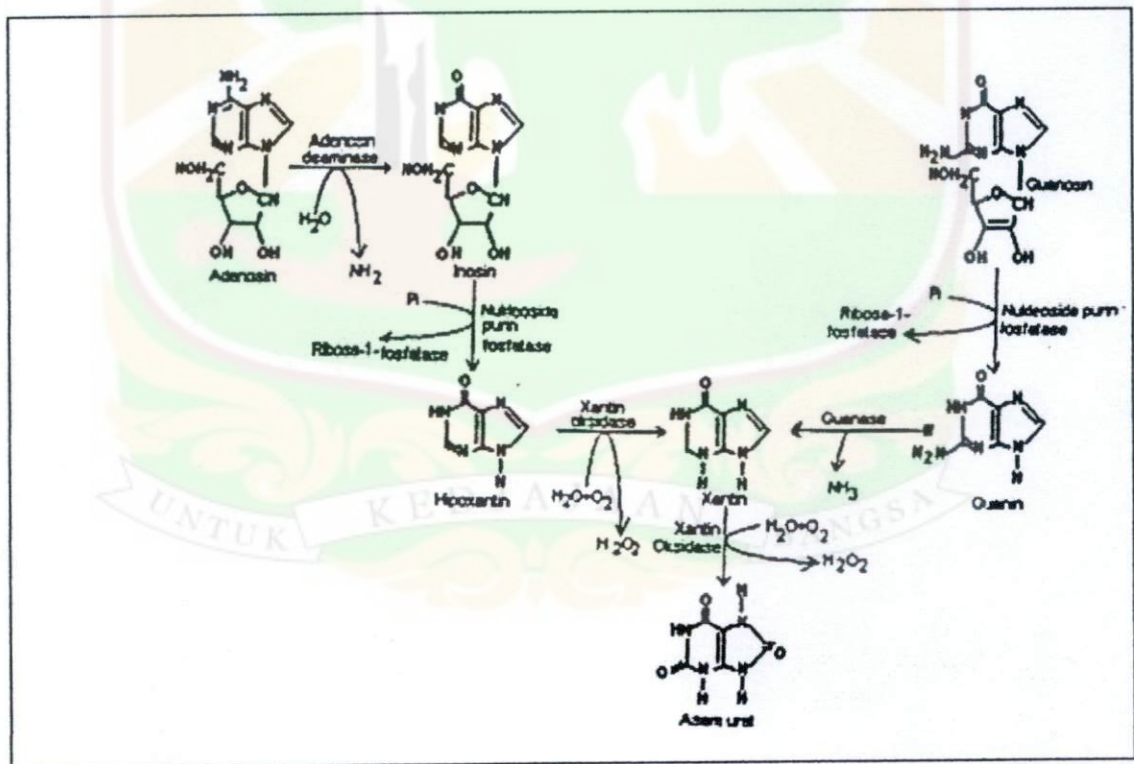
Asam urat pada konsentrasi yang tinggi, dapat mengendap, terutama di sendi, sehingga menyebabkan gout.

2.4.2 Pembentukan asam urat

Asam urat pada manusia dibentuk sebagai hasil katabolisme purin (salah satu unsur protein) yang menyusun material genetik. Pada mamalia yang bukan primata, enzim urikase akan memecah asam urat dengan membentuk produk akhir allantoin yang bersifat sangat larut dalam air. Namun demikian, karena manusia tidak memiliki enzim urikase, maka produk akhir katabolisme purin pada manusia adalah asam urat (Rodwell, 1995). Manusia mengubah nukleosida purin yang utama, yaitu adenosin dan guanin menjadi produk akhir asam urat yang diekskresikan keluar.

Adenosin pertama-tama mengalami deaminasi menjadi inosin oleh enzim adenosin deaminase. Fosforolisis ikatan N-glikosidat inosin dan

guanosin, yang dikatalisis oleh enzim nukleosida purin fosforilase, akan melepas senyawa ribose 1-fosfat dan basa purin. Hipoxantin dan guanin selanjutnya membentuk xantin dalam reaksi yang dikatalisis oleh enzim xantin oksidase dan guanase. Kemudian xantin teroksidasi menjadi asam urat dalam reaksi kedua yang dikatalisis oleh enzim xantin oksidase. Dengan demikian, xantin oksidase merupakan lokasi yang esensial untuk intervensi farmakologis pada penderita hiperurisemia dan penyakit gout (Rodwell, 1995). Penyebarannya yang terbatas dan keberadaanya di hati dalam jumlah besar menandakan asam urat disintesis di dalam hati. Produk degradasi jaringan lain ditransportasikan di hati untuk dioksidasi lebih lanjut.



Gambar 3. Pembentukan asam urat (Rodwell, 1995)

2.4.3 Gout dan Hiperurisemia

Gout (pirai) adalah penyakit yang sering ditemukan, merupakan kelompok penyakit heterogen sebagai akibat deposisi kristal monosodium urat pada jaringan, akibat gangguan metabolisme berupa hiperurisemia. Manifestasi klinik deposisi urat meliputi arthritis gout, akumulasi kristal di jaringan yang merusak tulang (tofus), batu urat, dan nefropati gout.

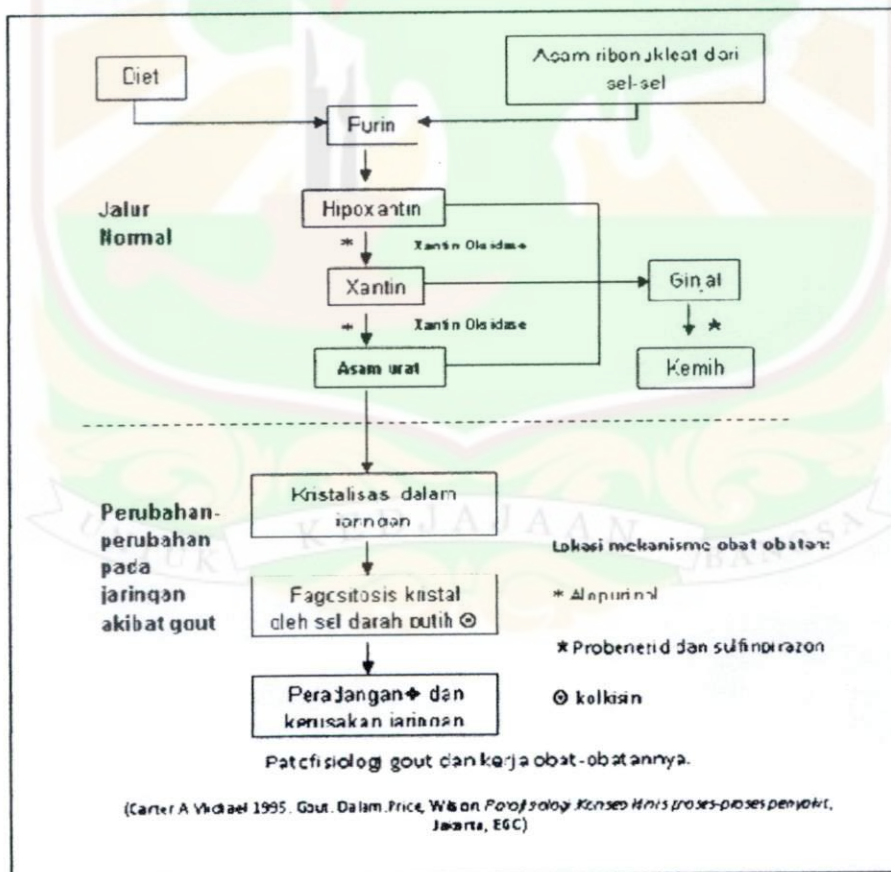
Hiperurisemia adalah keadaan dimana terjadi peningkatan kadar asam urat darah di atas normal. Secara biokimiawi akan terjadi hipersaturasi yaitu kelarutan asam urat di serum yang melewati ambang batasnya. Kadar asam urat >7 mg% pada laki-laki, dan >6 mg% pada perempuan, berdasarkan berbagai studi epidemiologi selama ini. Keadaan hiperurisemia akan beresiko timbulnya arthritis gout, nefropati gout, atau batu ginjal. Hiperurisemia dapat terjadi akibat peningkatan metabolisme asam urat (overproduction), penurunan ekskresi asam urat urin (underexcretion), atau gabungan keduanya (Rudy Hidayat, 2009)

2.4.4 Patofisiologi asam urat

Asam urat merupakan produk akhir dari degradasi purin yang bersumber dari dalam tubuh atau diet dan dianggap sebagai sampah yang harus dibuang. Kadar asam urat yang berlebihan merupakan akibat dari over produksi (degradasi purin) atau karena ekskresi yang rendah. Over produksi dapat terjadi karena peningkatan *Phosphoribosyl phosphate (PRPP) syntetase* yang menyebabkan peningkatan sintesis purin yang pada akhirnya dapat menyebabkan peningkatan asam urat. Over produksi asam urat juga dapat

terjadi pada peningkatan peruraian asam nukleat jaringan pada gangguan *myeloproliferatif* (David, 1997).

Dua pertiga asam urat yang diproduksi dieksresi melalui urin dan sisanya melalui gastrointestinal (GI) setelah terdegradasi oleh bakteri kolon. Gangguan eksresi ginjal pada tubuli distal atau karena ginjal yang rusak, misalnya pada glomerulonefritis juga akan meningkatkan asam urat. Obat-obat yang mengurangi kliren atau eksresi asam urat seperti diuretik (thiazid dan furosemid), asam salisilat, pyrazinamid, INH, ethambutol, etanol, dan obat – obat sitotoksik. Karena mengganggu eksresi, maka dapat meningkatkan kadar asam urat, sehingga perlu diperhatikan.



Gambar 4. patofisiologi gout dan cara kerja obat-obatnya (Price, 2005)

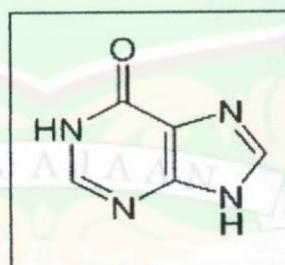
2.5 Obat – obat anti gout

Pengobatan gout bertujuan meredakan serangan gout akut dan mencegah masa gout berulang.

2.5.1 Obat penghambat xantin oksidasi

2.5.1.1 Alopurinol

Alopurinol, memiliki nama IUPAC 1H-Pyrazolol [3,4-d] pyrimidine dan memiliki rumus molekul $C_5H_4N_4O$ (lubert Stryer, 2000). Merupakan bubuk kristal putih, tidak berbau, sedikit larut dalam air. Alopurinol berguna untuk mengobati penyakit gout karena dapat menurunkan kadar asam urat. Pengobatan jangka panjang mengurangi frekuensi serangan, menghambat pembentukan tofi, memobilisasi asam urat dan mengurangi besarnya tofi. Obat ini berguna untuk mengobati penyakit gout kronik dengan infusensi ginjal dan batu urat dalam ginjal tetapi dosis awal harus dikurangi (Ganiswara, 1995).



Gambar 5. Rumus Bangun Alopurinol (Tjay dan Raharja,2002)

Alopurinol bekerja dengan menghambat xantin oksidase, enzim yang mengubah *hipoxantin* menjadi *xantin* dan selanjutnya menjadi asam urat. Melalui mekanisme umpan balik alopurinol menghambat sintesa purin yang

merupakan *prekursor xantin*. Alopurinol sendiri mengalami biotransformasi oleh enzim *xantin oksidase* menjadi *aloxantin* yang masa paruhnya lebih panjang daripada alopurinol, itu sebabnya alopurinol yang masa paruhnya pendek cukup diberikan satu kali sehari (katzung, 2008).

Sebagai efek samping dapat terjadi gangguan saluran cerna serta (jarang) terjadi reaksi alergi. Pada awal pengobatan dengan alopurinol terdapat bahaya serangan pirai akut. Interaksi penting yang perlu disebut adalah penghambatan eliminasi azatiopin dan merkaptopurin oleh alopurinol. Kedua turunan purin dibioreformasi oleh xantinoksidase seperti halnya hipoxantin dan xantin. Oleh karena itu blokade xantinoksidase memperlambat eliminasi metaboliknya. Alopurinol juga dapat meningkatkan kerja antikoagulan tak langsung dan memperkuat kerusakan pembentukan darah yang ditimbulkan oleh sitostatika (Charles R.craigt, 2004).

Dosis untuk gout sekunder 100-200 mg/hari, penyakit gout ringan 200-400 mg/hari, untuk penyakit yang lebih berat 400-600 mg/hari (Ganiswara, 1995).

2.5.2 Obat – obatan Urikosurik

2.5.2.1 Probenesid

Probenesid meningkatkan eliminasi asam urat dalam urin karena obat ini menghambat reabsorpsi tubulus dan dengan demikian menurunkan kadar asam urat dalam darah. Pemberian Na-karbonat dan minum cukup air penting untuk menjamin jumlah urin tetap normal. Dosis probenesid awal 250 mg 2

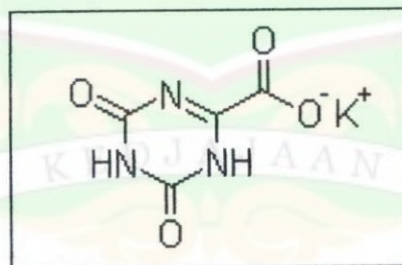
kali sehari selama 1-2 minggu, kemudian 500 mg 2 kali sehari selama 2 minggu. Kemudian dosis dapat ditingkatkan hingga 2 g/hari (Priyanto,2008).

2.5.2.2 Sulfinpirazon

Sulfinpirazon mencegah dan mengurangi kelainan sendi dan tofi pada penyakit gout kronik berdasarkan hambatan reabsorpsi tubular asam urat. Pemberian sulfinpirazon 50 mg 2 kali sehari selama 3 sampai 4 hari, kemudian 100 mg 2 kali sehari, dosis dapat ditingkatkan 100 mg/ minggu hingga mencapai 800 mg/hari. Efek samping obat ini adalah iritasi GI. Obat ini dikontraindikasikan pada pasien dengan kliren kreatinin <50 ml/menit (Priyanto,2008).

2.6 Kalium Oksonat

Kalium oksonat merupakan merupakan garam potasium atau kalium dari asam oksonat. Memiliki berat molekul 195,17 dengan rumus molekul $C_4H_2KN_3O_4$. Stabil pada penyimpanan di bawah temperatur normal (suhu kamar), memiliki titik didih pada $300^{\circ}C$.



Gambar 6. Rumus bangun kalium oksonat

Kalium oksonat merupakan inhibitor urikase yang berperan sebagai penghambat enzim urikase atau urat oksidase. Enzim urikase mengkatalis penguraian oksidatif asam urat menjadi allantoin. Zat ini cepat mengalami

klirens dengan kadar asam urat tertinggi dapat dicapai dalam waktu 2 jam setelah pemberian secara intraperitoneal pada tikus, kemudian menurun hingga akhirnya mencapai keadaan normal setelah 24 jam (Thanh, mai,2005).

2.7 Diabetes Mellitus

2.7.1 Definisi Diabetes Mellitus

Diabetes mellitus kelainan metabolik yang ditandai oleh hiperglikemia dan kurangnya insulin (Garry, 2001). Diabetes adalah suatu penyakit karena tubuh tidak mampu mengendalikan jumlah gula, atau glukosa, dalam aliran darah. Ini menyebabkan hiperglikemia, suatu kadar gula darah yang tingginya sudah membahayakan. Faktor utama pada diabetes ialah insulin, suatu hormon yang dihasilkan oleh sel khusus di pankreas. Insulin memberi sinyal kepada sel tubuh agar menyerap glukosa. Insulin, bekerja dengan hormon pankreas lain yang disebut glukagon, juga mengendalikan jumlah glukosa dalam darah. Apabila tubuh menghasilkan terlampau sedikit insulin atau jika tubuh tidak menanggapi insulin dengan tepat terjadilah diabetes (Katzung,2007).

2.7.2 Tipe-tipe Diabetes Mellitus

Diabetes mellitus dibagi menjadi tiga, yaitu (Dipiro,2002) :

2.7.2.1 Diabetes mellitus tipe 1

Diabetes mellitus tipe 1 (IDDM, “diabetes yang bergantung pada insulin”), dicirikan dengan hilangnya sel beta penghasil insulin pada pulau-pulau Langerhans pankreas sehingga terjadi kekurangan insulin pada tubuh. Diabetes tipe ini dapat diderita oleh anak-anak maupun orang dewasa.

Penyebab terbanyak dari kehilangan sel beta pada diabetes tipe 1 adalah kesalahan reaksi autoimunitas yang menghancurkan sel beta pankreas (Dipiro,2002).

2.7.2.2 Diabetes mellitus tipe 2

Diabetes mellitus tipe 2, diabetes mellitus tidak bergantung pada Insulin. diabetes tipe ini ditandai dengan adanya resistensi insulin atau defisiensi insulin. Resistensi insulin ditandai dengan adanya peningkatan lipofisis dan peningkatan produksi asam lemak bebas, peningkatan produksi gula di hepar dan pengurangan intake gula ke sel otot. Diabetes mellitus tipe ini terjadi ketika gaya hidup dengan asupan kalori berlebihan, kurang olah raga, obesitas, dan ada dukungan faktor genetik (Dipiro,2002).

2.7.2.3 Diabetes mellitus gestasional

Diabetes mellitus tipe ini dikenali pertama kali selama kehamilan dan mempengaruhi 4% dari semua kehamilan. Faktor risiko terjadinya diabetes gestasional (GDM) adalah usia tua, etnik, obesitas, multiparitas, riwayat keluarga dan riwayat diabetes gestasional terdahulu. Karena terjadi peningkatan sekresi berbagai hormon yang mempunyai efek metabolik terhadap toleransi glukosa, maka kehamilan adalah suatu keadaan diabetogenik. Pasien-pasien yang mempunyai predisposisi diabetes secara genetik akan memperlihatkan intoleransi glukosa atau manifestasi klinis diabetes pada kehamilan (Price, 2005). Sesudah melahirkan bayi, kadar

glukosa darah pada wanita yang menderita diabetes gestasional akan kembali normal. (Brunner & Suddarth, 2002)

2.7.3 Patofisiologi Diabetes Mellitus

Penyakit diabetes membuat gangguan atau komplikasi melalui kerusakan pada pembuluh darah di seluruh tubuh, disebut angiopati diabetik. Bila yang terkena pembuluh darah di otak timbul stroke, bila pada mata terjadi kebutaan, pada jantung penyakit jantung koroner yang dapat berakibat serangan jantung atau infark jantung, pada ginjal menjadi penyakit ginjal kronik. Bila terjadi gangguan saraf, disebut neuropati diabetik dapat timbul gangguan rasa (sensorik) baal, kurang berasa sampai mati rasa. Selain itu gangguan motorik, timbul kelemahan otot, otot mengecil, kram otot, mudah lelah. Kaki yang tidak berasa akan berbahaya karena bila menginjak benda tajam tidak akan dirasa padahal telah timbul luka, ditambah dengan mudahnya terjadi infeksi (Marya,2006).

2.7.4 Pengobatan Diabetes Mellitus

2.7.4.1 Sulfonilurea

Golongan sulfonilurea seringkali dapat menurunkan kadar gula darah secara adekuat pada penderita diabetes tipe 2, tetapi tidak efektif pada diabetes tipe 1. Contohnya adalah glibenklamide, Glibenklamida adalah hipoglikemik oral derivat sulfonil urea yang bekerja aktif menurunkan kadar gula darah. Glibenklamida bekerja dengan merangsang sekresi insulin dari pankreas. Oleh karena itu glibenklamida hanya bermanfaat pada penderita

diabetes dewasa yang pankreasnya masih mampu memproduksi insulin. Pada penggunaan per oral glibenklamida diabsorpsi sebagian secara cepat dan tersebar ke seluruh cairan ekstrasel, sebagian besar terikat dengan protein plasma. Pemberian glibenklamida dosis tunggal akan menurunkan kadar gula darah dalam 3 jam dan kadar ini dapat bertahan selama 15 jam. Dosis glibenklamida 2,5 mg/hari. Contoh lainnya adalah glipizid, gliburid, tolbutamid dan klorpropamid (Mansjoer, 2001).

2.7.4.2 Biguanid

Menurunkan kadar glukosa darah tapi tidak sampai dibawah normal. Termasuk golongan ini adalah metformin, tidak mempengaruhi pelepasan insulin tetapi meningkatkan respon tubuh terhadap insulinnya sendiri (Mansjoer, 2001).

2.7.4.3 Inhibitor α glukosidase

Obat ini bekerja secara kompetitif menghambat kerja enzim α glukosidase di dalam saluran cerna, sehingga menurunkan penyerapan glukosa dan menurunkan hiperglikemia (Mansjoer, 2001).

2.7.4.4 Insulin sensitizing agent

Thiazolidinediones adalah golongan obat baru yang mempunyai efek farmakologi meningkatkan sensitivitas insulin, sehingga bisa mengatasi masalah resistensi insulin dan berbagai masalah akibat resistensi insulin tanpa menyebabkan hipoglikemia (Mansjoer, 2001).

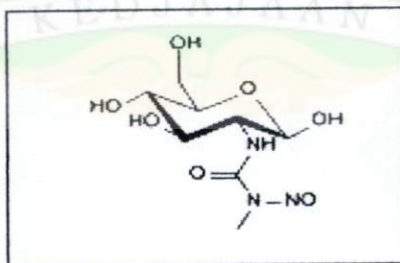
2.7.4.5 Insulin

Indikasi penggunaan insulin pada NIDDM adalah diabetes mellitus dengan berat badan menurun cepat, diabetes mellitus yang tidak berhasil dikelola dengan obat hipoglikemik oral dosis maksimal . Dosis insulin oral atau suntikan dimulai dengan dosis rendah, lalu dinaikkan secara perlahan lahan sesuai dengan hasil glukosa darah pasien (Mansjoer, 2001).

2.8 Streptozotocin

Streptozotocin dengan nama IUPAC 2-deoxy-2-[(methylnitrosoamino)-carbonyl-L-amino]-D-glucopyranose memiliki rumus molekul $C_8H_{15}N_3O_7$ dengan berat molekul 265,22 gr/mol.

Streptozotocin adalah senyawa yang dihasilkan dari streptomyces acromogenes yang merupakan suatu senyawa nitroso urea analog glukosa. Streptozotocin mudah larut dalam air, sedikit larut dalam alkohol dan keton. Dalam penelitian digunakan sebagai penginduksi diabetes pada hewan coba. Obat ini mempunyai spesifitas yang tinggi terhadap sel β . Penyuntikan secara intraperitoneal dosis 55mg/kg BB, dosis tunggal akan menyebabkan hiperglikemia secara cepat (M.Ferko, 2009)



Gambar 7. Rumus Bangun Streptozotocin

2.9 Tinjauan Metodologi

Untuk mengetahui efek yang terjadi akibat asam urat dalam patologi diabetes maka pada penelitian ini dilakukan percobaan dengan menggunakan model hewan uji dengan faktor resiko hiperurisemia dan hiperglikemia terhadap tikus *Sprague Dawley* putih jantan. Induksi hiperurisemia dilakukan dengan kalium oksonat yang akan menyebabkan terjadinya hiperurisemia, karena efeknya dapat meningkatkan asam urat dalam darah. Untuk induksi Diabetes mellitus dilakukan dengan menyuntikan Streptozotocin secara Intraperitoneal.

Sebagai pembanding terhadap kadar asam urat dalam darah yang akan diukur, digunakan senyawa antihiperurisemia golongan obat penghambat xantin oksidase yaitu alopurinol. Alopurinol bekerja dengan menghambat xantin oksidase, enzim yang mengubah *hipoxantin* menjadi *xantin* dan selanjutnya menjadi asam urat. Dengan dihambatnya xantin oksidase dapat menyebabkan penurunan kadar asam urat.

BAB III

BAHAN DAN METODA

3.1 Tempat dan waktu penelitian

3.1.1 Tempat penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Fitokimia dan Farmakologi Universitas Muhammadiyah Prof. DR. Hamka. Laboratorium hewan percobaan, Puslitbang Biomedis dan Farmasi, Badan Litbang Kesehatan. Laboratorium Afiliasi, Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Indonesia. Laboratorium Klinik MH Thamrin serdang, Jakarta.

3.1.2 Waktu penelitian

Penelitian dilakukan dari bulan Januari sampai Agustus 2010.

3.2 Metode Penelitian

3.2.1 Bahan uji

Bahan yang digunakan adalah Daun kembang sungsang yang diperoleh dari Balai Penelitian Tanaman Obat (BALITRO) Bogor.

3.2.1 Bahan kimia penelitian

Alopurinol, kalium oksonat, pereaksi asam urat FS TBHBA (2,4,6-Tribromo-3-hydroxybenzoic acid), Na. CMC, aquadest, etanol 70%, etil asetat, *n*-hexan, streptozotocin, amoniak, kloroform, asam klorida, asam sulfat (H₂SO₄).

3.2.2 Alat Penelitian

Toples berwarna gelap, *rotary evaporator*, corong pisah, oven, sonde, neraca analitik (o'haus), *photometer clinical* EMP-168,

mikrosentrifuge (Hettich), pipet *hematokrit* (Marienfield), *sprit*, pipet *Ependrof* (Socorex), vortex.

3.2.3 Hewan Uji

Penelitian ini menggunakan hewan uji tikus putih jantan galur *Sprague Dawley* berumur 3-4 bulan dengan bobot antara 200-300 gram sejumlah 60 ekor untuk uji pendahuluan dan 50 ekor untuk uji lanjutan. Hewan uji diperoleh dari Balitbangkes, Jakarta.

3.3 Prosedur penelitian

3.3.1 Pengumpulan Bahan dan Determinasi Tanaman

Daun kembang sungsang diperoleh dari Kawasan Wisata Ilmiah, Balitro Bogor dan di deteminasi di Herbarium bogoriense, bidang botani pusat penelitian biologi LIPI Cibinong (lampiran 10).

3.3.2 Persiapan hewan percobaan

Hewan percobaan diadaptasikan selama dua minggu dengan lingkungannya. Bobot hewan ditimbang dan diamati perilakunya. Hewan-hewan yang dinilai sehat digunakan dalam percobaan.

3.3.3 Pembuatan ekstrak dan fraksi daun kembang sungsang

3.3.3.1 Ekstraksi

Sebanyak 7 kg daun kembang sungsang, di cuci dengan air, diiris dan dikeringkan dengan cara diangin-anginkan hingga kering. Setelah kering dihaluskan menjadi serbuk dengan bantuan *blender*, kemudian diayak, hasil serbuk yang diperoleh sebanyak 700 gr diekstraksi dengan cara maserasi menggunakan larutan penyari etanol 70%. Maserasi dilakukan selama 3 hari dan selama perendaman dilakukan pengadukan

beberapa kali agar senyawa-senyawa yang terdapat dalam simplisia dapat larut, kemudian disaring dengan menggunakan kertas saring. Hasil maserasi diuapkan menggunakan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental yang masih dapat dituang.

3.3.3.2 Fraksinasi

Ekstrak kental etanol 70% di masukkan ke dalam corong pisah. Ekstrak kental kemudian difraksinasi dengan menggunakan pelarut n-heksan dengan perbandingan 1:1 dalam corong pisah, pengocokan dilakukan \pm 15 menit, diamkan hingga terbentuk 2 lapisan yaitu lapisan fraksi n-heksan dan lapisan residu fraksi n-heksan, kemudian lapisan residu n-heksan difraksinasi dengan etil asetat dan air dengan perbandingan 1:1:1 dikocok selama 15 menit setelah itu diamkan hingga terbentuk dua lapisan yaitu lapisan etil asetat dan lapisan etanol 70%. Lapisan etil asetat yang disebut sebagai fraksi etil asetat dan residu etil asetat yang disebut dengan fraksi etanol. Hasil fraksi n-heksan, etil asetat, dan etanol kemudian dipekatkan dengan *rotary evaporator* hingga diperoleh fraksi kental. Fraksi kental kemudian dikeringkan dengan oven pada suhu 40–50°C.

3.3.4 Penapisan Fitokimia

3.3.4.1 Pemeriksaan alkaloid

Sebanyak 500 mg serbuk simplisia, ditambahkan dengan 1 ml asam klorida 2N dan 9 ml air, panaskan di atas penangas air selama 2 menit, dinginkan dan saring. Hasil penarikan masing-masing diberi pereaksi dragendorf dan mayer. Endapan merah dengan pereaksi

dragendorff dan endapan putih dengan pereaksi mayer menunjukkan adanya alkaloid (Anonim,1995).

3.3.4.2 Pemeriksaan flavonoid

Sebanyak 200 mg simplisia dididihkan dalam 100 ml air panas selama 5 menit, saring. Terhadap 5 ml filtrat ditambahkan serbuk magnesium, 1 ml asam klorida p kocok kuat. Adanya flavonoid ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah, kuning atau jingga. Ditimbang sebanyak 1 gram serbuk lalu tambahkan H_2SO_4 pekat berwarna kuning sampai jingga menunjukkan adanya flavonoid. Ditimbang sebanyak 1 gram serbuk lalu tambahkan $FeCl_3$ berwarna hijau coklat (Anonim,1995).

3.3.4.3 Pemeriksaan saponin

Masukkan 0,5 gram serbuk ke dalam tabung reaksi tambahkan 10 ml air panas, dinginkan dan kemudian kocok kuat-kuat selama 10 detik. Kemudian amati ada tidaknya buih, jika terbentuk buih setinggi ± 3 cm dan pada penambahan asam klorida buih tidak hilang menunjukkan adanya saponin (Anonim,1995).

3.3.4.4 Pemeriksaan steroid

Setengah gram serbuk kering dimasukkan ke dalam tabung reaksi ditambahkan 5 ml kloroform. Dipanaskan sebentar di atas penangas air sambil dikocok-kocok lalu didinginkan. Diambil 1 ml kloroform dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang lain. Ke dalam tabung ditetaskan pereaksi liebermann–bourchard yang terdiri dari 20 tetes anhidrida asetat

dan satu tetes H_2SO_4 pekat maka akan terbentuk warna hijau sampai biru untuk terpenoid dan warna merah untuk steroid (Anonim,1995).

3.3.4.5 Pemeriksaan tanin

Ditimbang sebanyak 200 mg serbuk simplisia tambahkan 50 ml air, didihkan 15 menit, dinginkan, saring dengan kertas saring, ambil filtratnya lalu tambahkan 1 - 2 tetes $FeCl_3$ 1 % akan terbentuk biru tua (tanin galat) atau hijau kehitaman (tanin katekuat) menunjukkan adanya golongan tanin (Anonim,1995).

3.3.5 Karakterisasi Ekstrak

3.3.5.1 Susut Pengeringan

Ekstrak ditimbang sebanyak 1 gram dimasukkan ke dalam botol timbang dangkal bertutup yang sebelumnya telah dipanaskan pada suhu $105\text{ }^{\circ}C$ selama 30 menit dan telah ditara. Ekstrak diratakan dalam botol timbang dengan menggoyangkan botol, hingga merupakan lapisan setebal lebih kurang 5 mm sampai 10 mm. Kemudian dimasukkan ke dalam ruang pengering, buka tutupnya, dikeringkan pada suhu $105\text{ }^{\circ}C$ hingga bobot tetap (Anonim,2000).

3.3.5.2 Penetapan kadar senyawa yang larut dalam air.

Sejumlah 5 g ekstrak dilarutkan selama 24 jam dengan 100 ml air-kloroform LP, menggunakan labu bersumbat sambil berkali-kali dikocok selama 6 jam pertama dan kemudian dibiarkan selama 18 jam, saring. Diuapkan 20 ml filtrat hingga kering dalam cawan penguap yang telah ditara terlebih dahulu, residu dipanaskan pada suhu $105^{\circ}C$ hingga

bobot tetap. Dihitung kadar senyawa yang larut dalam air terhadap ekstrak awal (Anonim,2000).

3.3.5.3 Penetapan kadar senyawa yang larut dalam etanol

Sejumlah 5 g ekstrak dilarutkan selama 24 jam dengan 100 ml etanol 95% menggunakan labu bersumbat sambil berkali kali dikocok selama 6 jam pertama dan kemudian dibiarkan selama 18 jam. Disaring cepat dengan menghindari penguapan etanol, kemudian diuapkan 20 ml filtrat hingga kering dalam cawan penguap yang telah ditara, residu dipanaskan pada suhu 105⁰C hingga bobot tetap. Dihitung kadar senyawa yang larut dalam etanol terhadap ekstrak awal (Anonim,2000).

3.3.5.4 Kadar Abu

Pengukuran kadar abu dilakukan dengan cara lebih kurang 2-3 gram ekstrak yang telah digerus dan ditimbang, dimasukkan ke dalam krus silikat yang telah dipijarkan dan ditara, kemudian diratakan. Zat dipijar di dalam tanur pada temperatur 800⁰C hingga arang abis, kemudian didinginkan (5 menit di udara, kemudian 10 menit di dalam desikator) dan ditimbang. Ulangi proses tersebut hingga bobot tetap (Anonim,2000).

3.3.5.5 Penentuan sisa Pelarut

Bertujuan untuk memberi jaminan bahwa selama proses tidak meninggalkan sisa pelarut yang memang seharusnya tidak boleh ada. Dapat dilakukan dengan pemanasan sampai berat konstan (Anonim,2000).

3.3.5.6 Penentuan cemaran logam

Untuk memberi jaminan bahwa ekstrak tidak mengandung logam berat tertentu (Pb) melebihi nilai yang ditetapkan karena berbahaya bagi

kesehatan. Penentuan dilakukan menentukan kadar logam berat secara spektroskopi serapan atom (Anonim,2000).

3.3.5.7 Cemaran mikroba

Untuk memberi jaminan agar ekstrak tidak mengandung mikroba patogen dan tidak mengandung mikroba non patogen melebihi nilai yang ditetapkan karena berbahaya bagi kesehatan. Dapat dilakukan dengan cara analisis mikrobiologi menggunakan medium pertumbuhan bakteri dan medium pertumbuhan kapang. ekstrak ditanamkan dalam kedua medium tersebut dan diinkubasi selama 24 jam untuk bakteri dan 2 kali 24 jam untuk kapang. Hitung jumlah koloni yang tumbuh (Anonim,2000).

3.3.6 Pembuatan hiperurisemia dan hiperglikemik

3.3.6.1 Uji pendahuluan

Uji pendahuluan dilakukan untuk memperoleh fraksi yang memiliki aktivitas paling besar dalam menurunkan kadar asam urat. Berdasarkan data penelitian sebelumnya, bahwa dosis 43mg/200 gBB atau 215 mg/kg BB ekstrak etanol daun kembang sunsang, memberikan penurunan kadar asam urat tertinggi dalam darah (Pudjiastuti, 2003). Karena pada penelitian ini digunakan fraksi, berdasarkan orientasi dosis yang digunakan adalah dosis uji pertama 50 mg/kg BB, dosis uji kedua 25 mg/kg BB dan dosis ketiga 12,5 mg/kg BB.

Hewan percobaan yang digunakan dalam uji pendahuluan ini sejumlah 60 ekor tikus, dibagi secara acak menjadi 12 kelompok, masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor, yaitu :

Kelompok I : kontrol normal, kelompok tanpa diberi kalium oksonat

Kelompok II : kelompok yang diberikan pembanding alopurinol dosis 13,5 mg/kgBB.

Kelompok III: kontrol positif, kelompok yang diberi kalium oxonat dosis 250 mg/kgBB.

Kelompok IV: kelompok yang diberikan fraksi etanol daun kembang sungsang dengan dosis uji 1 (50mg/kgBB).

Kelompok V : kelompok yang diberikan fraksi etanol daun kembang sungsang dengan dosis uji 2 (25mg/kgBB).

Kelompok VI: kelompok yang diberikan fraksi etanol daun kembang sungsang dengan dosis uji 3 (12.5mg/kgBB).

Kelompok VII: kelompok yang diberikan fraksi etil asetat daun kembang sungsang dengan dosis uji 1 (50mg/kgBB).

Kelompok VIII: kelompok yang diberikan fraksi etil asetat daun kembang sungsang dengan dosis uji 2 (25mg/kgBB).

Kelompok IX : kelompok yang diberikan fraksi etil asetat daun kembang sungsang dengan dosis uji 3 (12.5mg/kgBB).

Kelompok X : kelompok yang diberikan fraksi n-heksan daun kembang sungsang dengan dosis uji 1 (50mg/kgBB).

Kelompok XI : kelompok yang diberikan fraksi n-heksan daun kembang sungsang dengan dosis uji 2 (25mg/kgBB).

Kelompok XII : kelompok yang diberikan fraksi n-heksan daun kembang sungsang dengan dosis uji 3 (2.5mg/200gBB).

Sebelum memulai perlakuan, dilakukan pengambilan darah masing-masing tikus untuk mendapatkan kadar asam urat awal tikus.

Perlakuan dilakukan setiap hari selama 14 hari. Pengambilan serum darah dilakukan pada hari ke 1, 7, dan hari ke-14 (lampiran 14). Fraksi yang memiliki aktivitas paling besar dalam menurunkan kadar asam urat, selanjutnya akan dijadikan untuk uji lanjutan.

3.3.6.2 Uji Lanjutan

Uji lanjutan dilakukan terhadap fraksi yang memiliki aktivitas paling besar dalam menurunkan kadar asam urat. Berdasarkan hasil yang diperoleh dari uji pendahuluan, fraksi yang memiliki aktivitas paling besar dalam menurunkan kadar asam urat adalah fraksi etanol dengan dosis 25 mg/kg BB. Pada Uji lanjutan dibuat 3 variasi dosis sebagai berikut :

Dosis 1 : 40 mg/kgBB

Dosis 2 : 30 mg/kgBB

Dosis 3 : 20 mg/kgBB

Hewan percobaan yang digunakan dalam uji lanjutan sejumlah 50 ekor tikus, dibagi secara acak menjadi 10 kelompok, masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor, yaitu

Kelompok I : kelompok positif, yang diinduksi kalium oksonat.

Kelompok II : kelompok induksi kalium oksonat dan diberikan fraksi etanol daun kembang sunsang dosis 40 mg/kgBB.

Kelompok III : kelompok induksi kalium oksonat dan diberikan fraksi etanol daun kembang sunsang dosis 30 mg/kgBB

Kelompok IV : kelompok induksi kalium oksonat dan diberikan fraksi etanol daun kembang sunsang dosis 20 mg/kgBB

Kelompok V : kelompok pembanding, diinduksi kalium oksonat dan diberikan pembanding alopurinol dengan dosis 13,5 mg/kg BB

Kelompok VI : kelompok induksi kalium oksonat dan streptozotocin serta diberikan fraksi etanol daun kembang sunsang dosis 40 mg/kg BB.

Kelompok VII : kelompok induksi kalium oksonat dan streptozotocin serta diberikan fraksi etanol daun kembang sunsang dosis 30 mg/kg BB.

Kelompok VIII : kelompok induksi kalium oksonat dan streptozotocin serta diberikan fraksi etanol daun kembang sunsang dosis 20 mg/kg BB.

Kelompok IX : kelompok pembanding, induksi kalium oksonat dan induksi streptozotocin serta diberikan pembanding allopurinol dengan dosis 13,5 mg/200g BB

Kelompok X : kelompok positif, yang diinduksi kalium oksonat dan streptozotocin

Sebelum memulai perlakuan, dilakukan pengambilan darah masing-masing tikus untuk mendapatkan kadar asam urat darah awal tikus.

Kemudian untuk kelompok patologis diabetes (induksi kalium oksonat dan streptozotocin) berdasarkan orientasi dilakukan penginduksian streptozotocin terlebih dahulu. Perlakuan dilakukan selama 21 hari

Pengambilan serum darah tikus dilakukan pada hari ke 0, 7, 14 dan 21.

data kadar asam urat dianalisa secara spektrofotometris.

3.3.7 Perhitungan Dosis

3.3.7.1 Dosis Alopurinol

Dosis untuk gout sekunder 100-200 mg/hari (Tjaj Th,2002). Dosis untuk tikus harus dikalikan dengan faktor konfersinya, yaitu 0,018 (berdasarkan table *Paget dan Barners*). Sebagai pembanding positif digunakan dosis 150 mg, apabila dikonfersikan untuk pemakaian pada tikus, yaitu: $150 \text{ mg} \times 0,018 = 2,7 \text{ mg}/200 \text{ g BB}$ atau $13,5 \text{ mg}/\text{kg BB}$.

Pembuatan sediaan pembanding alopurinol dengan cara membuat konsentrasi alopurinol. Alopurinol 50 mg disuspensikan dalam 50 ml suspensi Na-CMC 0,5% gerus perlahan-lahan sampai homogen. Perhitungan pemberian alopurinol untuk berat tikus 200 gr BB. Konsentrasi alopurinol = $50 \text{ mg} / 50 \text{ ml} = 1 \text{ mg} / 1 \text{ ml}$. Maka volume yang diberikan alopurinol secara oral menggunakan sonde adalah :

$$\begin{aligned} \text{VAO alopurinol} &= \frac{2,7 \text{ mg} / 200 \text{ g BB}}{1 \text{ mg} / \text{ml}} \times 200 \text{ g BB} \\ &= 2,7 \text{ ml} \end{aligned}$$

3.3.7.2 Dosis induksi kalium oksonat

Kalium oksonat dosis untuk membuat hewan uji hiperurisemia adalah $250 \text{ mg}/\text{kg BB}$ (Than Mai ,2005), maka didapatkan dosis untuk satu ekor tikus $50 \text{ mg}/200 \text{ g BB}$. Sejumlah 2,083 g kalium oksonat ditimbang dan disuspensikan dengan Na-CMC 0,5 % sampai volume 25 ml, sehingga didapatkan konsentrasi $83,33 \text{ mg}/\text{ml}$. Untuk dosis $50 \text{ mg}/200 \text{ g BB}$, maka yang diinjeksikan sejumlah :

$$\begin{aligned} \text{Injeksi kalium oksonat} &= \frac{50 \text{ mg} / 200 \text{ g BB}}{83,33 \text{ mg}/\text{ml}} \\ &= 0,6 \text{ ml} / 200 \text{ g BB} \end{aligned}$$

3.3.7.3 Pembuatan sediaan suspensi

Pembuatan larutan Na-CMC menggunakan kadar yang dianjurkan, yaitu 0,5%. Timbang 0,5 gram Na-CMC, kemudian taburkan di atas air panas 100 ml, aduk kuat - kuat dalam lumpang sampai terbentuk masa suspensi yang homogen, hingga didapatkan konsentrasi suspensi Na-CMC 0,5 %

3.3.7.4 Dosis streptozotocin

Tikus putih yang akan digunakan dalam penelitian ini ditimbang berat badannya untuk menentukan besarnya dosis yang akan digunakan kemudian diinjeksi intraperitoneal dengan streptozotocin dosis 55 mg/kgbb (M.Ferko,2009)

3.3.8 Cara Pengambilan Plasma Darah

Dilakukan melalui sinus orbital mata tikus. Tikus dibius terlebih dahulu dengan eter. Setelah itu ujung tabung hematokrit yang telah diberi heparin dimasukkan ke dalam kantung medial mata tikus dengan diputar perlahan. Darah ditampung dalam tabung sentrifugasi yang telah diberi heparin sebelumnya, selanjutnya di sentrifuge selama 5 menit dengan kecepatan 7000 rpm (Anonim, 2002)

3.3.9 Pengukuran parameter kadar Asam urat

Penetapan kadar asam urat dalam darah diukur dengan menggunakan metode *enzimatik photometrik* menggunakan pereaksi asam urat FS TBHBA (2,4,6-Tribromo-3-hydroxybenzoic acid). Pada pengukuran metode ini, asam urat diubah secara enzimatik menjadi allantoin, hydrogen peroksida, serta karbon dioksida. Hidrogen peroksida

yang terbentuk akan bereaksi dengan 4-aminoantipirin dan TBHBA menjadi Quinoneimine berwarna merah sebagai indikator (Anonim,2007)

3.3.9.1 Pereaksi asam urat

Reagen 1:

Dapar posfat pH 7.0 100 mmol/L

TBHBA 1 mmol/L

Reagen 2 :

Dapar posfat pH 7.0 100 mmol/L

4-aminoantipirin 0,3 mmol/L

$K_4[Fe(CN)_6]$ 10 μ mol/L

Peroksidase (POD) > 2 KU/L

Urikase > 30 unit/L

3.3.9.2 Prosedur pengukuran kadar asam urat

- 1) atur alat ke nol dengan reagen blanko
- 2) masukkan ke dalam kuvet dengan jumlah seperti pada tabel berikut :

Tabel 1. Pengukuran kadar asam urat

	Blangko	Sampel atau standar
Sampel atau standar	-	20 μ L
Aquabidest	20 μ L	
Reagen 1	1000 μ L	1000 μ L
Reagen 2	250 μ L	250 μ L

Pengukuran serapan blanko dilakukan dengan cara mencampurkan Aquadest 20 μ L dan 1000 μ L reagen 1, homogenkan dengan vortex,

inkubasi selama 5 menit, lalu tambahkan 250 μL reagen 2, homogenkan dan inkubasi selama 30 menit pada suhu 20 – 25 $^{\circ}\text{C}$ dan 10 menit pada suhu 37 $^{\circ}\text{C}$, ukur serapan pada panjang gelombang 546 nm.

Pada pengukuran serapan sampel atau standar dilakukan dengan mencampurkan 20 μL sampel atau standar dan 1000 μL reagen 1 dengan vortex, inkubasi selama 5 menit. Lalu tambahkan 250 μL reagen 2 homogenkan dan inkubasi selama 30 menit pada suhu 20 – 25 $^{\circ}\text{C}$ dan 10 menit pada suhu 37 $^{\circ}\text{C}$, ukur serapan pada panjang gelombang 546 nm.

3.4 Analisis Data

Data yang diperoleh dari kadar asam urat tikus berbagai kelompok pada uji pendahuluan dan data yang diperoleh dari kadar asam urat uji lanjutan dianalisa dengan analisis varian dua arah.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Aklimatisasi dan Rancangan Penelitian

Tikus yang digunakan dalam percobaan sebanyak 60 ekor untuk uji pendahuluan yang dibagi menjadi 12 kelompok yang masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor tikus. Tikus yang digunakan untuk uji sebenarnya sejumlah 50 ekor tikus yang dibagi menjadi 10 kelompok masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor tikus

4.2 Determinasi Tumbuhan

Tanaman yang diperoleh dari Kawasan Wisata Ilmiah, Bogor dan dideterminasi di Herbarium Bogoriense, LIPI Cibinong menunjukkan bahwa tanaman yang diteliti adalah daun kembang sunsang (*Gloriosa superba* L.) termasuk dalam suku Colchicaceae.

4.3 Ekstraksi Daun Kembang Sunsang

Ekstraksi dilakukan terhadap daun kembang sunsang segar 7 kg, yang selanjutnya dikeringkan dengan cara diangin-anginkan terlindung dari sinar matahari sehingga didapat daun kembang sunsang kering sebanyak 1,40 kg. Daun kering diserbukkan dan diayak, diperoleh berat 700 gr serbuk daun kembang sunsang. Serbuk daun kembang sunsang di maserasi dengan 6 liter etanol menghasilkan maserat yang dipekatkan dengan *rotary evaporator* sebanyak 440 ml.

Tabel 2. Data simplisia dan hasil ekstraksi

No	Jenis	Hasil
1	Daun segar	7 kg
2	Daun kering	1.40 kg
3	Serbuk	700 gr
4	Ekstrak kental etanol	440 ml

4.4 Fraksinasi

Ekstrak kental etanol 70% difraksinasi dengan *n*-heksan sampai terbentuk 2 lapisan yaitu fraksi *n*-heksan dan residu *n*-heksan. kemudian residu difraksinasi dengan etil asetat dan air sampai terbentuk 2 lapisan yaitu fraksi etil asetat dan residu etil asetat. Residu etil asetat dipekatkan sehingga diperoleh fraksi etanol.

Tabel 3. Hasil Fraksinasi

No	Jenis	Etanol	Etil Asetat	<i>n</i> -Heksan
1	Fraksi Kental	83 ml	31 ml	9 ml
2	Fraksi Kering	65.1 gr	10.15 gr	4.2 gr

4.5 Hasil Uji Penapisan Fitokimia

Pada serbuk dan ekstrak daun kembang sunsang dilakukan penapisan fitokimia, yang meliputi alkaloid, flavonoid, saponin, tannin, terpen dan steroid.

Tabel 4. Hasil Penapisan Fitokimia Ekstrak Daun Kembang Sunsang

No.	Penapisan	Pereaksi	Hasil
1.	Alkaloid	Mayer	+
2.	Flavonoid	Mg / HCl	+
3.	Saponin	Busa	+
4.	Tanin	FeCl ₃	+
5.	Terpenoid / Steroid	LB	-

Tabel 5. Hasil Penapisan Fitokimia Fraksi Daun Kembang Sungsang

No	Penapisan	Pereaksi	Fraksi Etanol	Fraksi Etil Asetat	Fraksi n-Heksan
1.	Alkaloid	Mayer	+	+	-
2.	Flavonoid	Mg / HCl	+	+	-
3.	Saponin	Busa	+	+	-
4.	Tanin	FeCl ₃	+	+	-
5.	Terpenoid / Steroid	LB	-	-	+

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

4.6 Karakteristik Ekstrak dan Fraksi

Untuk mengetahui karakteristik ekstrak dan fraksi dilakukan uji organoleptis dan karakteristik fraksi.

Tabel 6. Uji Organoleptis Ekstrak Daun Kembang Sungsang

No.	Jenis	Hasil
1	Bentuk	Kental
2	Bau	Khas
3	Rasa	Pahit
4	Warna	Coklat

Tabel 7. Karakteristik Fraksi Etanol Daun kembang sungsang

No.	Parameter	Hasil
1.	Organoleptis	Bentuk : kental Warna : coklat Bau : Khas Rasa : Pahit
2.	Kadar senyawa terlarut dalam : ▪ Air ▪ Etanol	22.4 % 13.9 %
3.	Kadar abu	4.08 %
4.	Kadar abu yang tidak larut asam	1.31 %
5.	Total cemaran bakteri :	31×10^{-1}
6.	Total cemaran kapang :	-
7.	Uji cemaran logam timbal {Pb}	0.10 µg/g

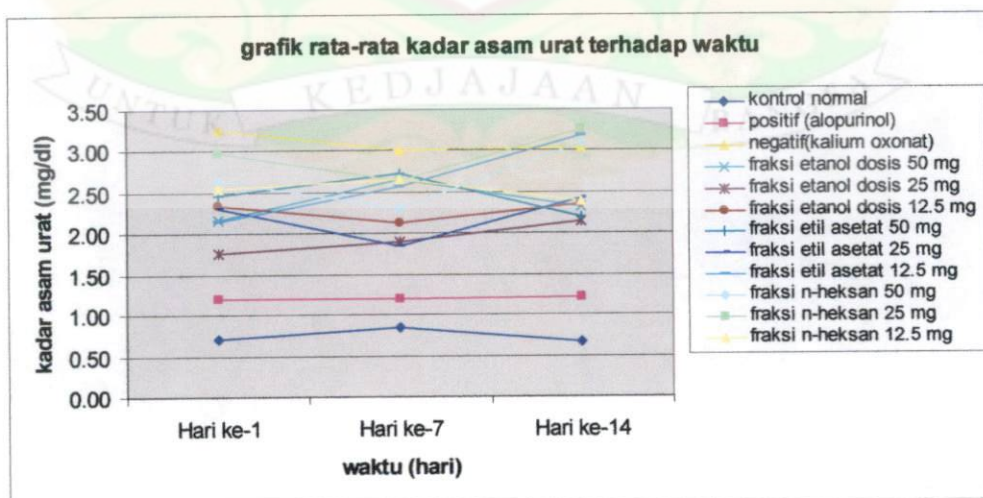
Uji organoleptis dan karakteristik ini merupakan persyaratan mutu agar dapat menjamin bahwa produk mempunyai nilai parameter tertentu yang konstan.

4.7 Hasil Pengukuran Kadar Asam Urat Uji Pendahuluan

Hasil pengukuran kadar asam urat darah dari seluruh kelompok perlakuan seperti tertera pada tabel di bawah ini:

Tabel 8. Penurunan rata-rata kadar asam urat darah tikus pada hari ke-1, 7 dan 14 (uji pendahuluan)

Kelompok perlakuan	Rata-rata kadar asam urat darah (mg/dl) ± SE		
	Hari ke-1	Hari ke-7	Hari ke-14
I (kontrol normal)	0.70 ± 0.094	0.84 ± 0.094	0.68 ± 0.094
II (pembanding)	1.19 ± 0.094	1.20 ± 0.094	1.21 ± 0.094
III (positif)	3.25 ± 0.094	3.01 ± 0.094	3.04 ± 0.094
IV (fraksi etanol 50 mg/kg BB)	2.16 ± 0.094	2.65 ± 0.094	2.32 ± 0.094
V (fraksi etanol 25 mg/kg BB)	1.76 ± 0.094	1.89 ± 0.094	2.15 ± 0.094
VI (fraksi etanol 12.5 mg/kg BB)	2.35 ± 0.094	2.13 ± 0.094	2.38 ± 0.094
VII (fraksi etil asetat 50 mg/kg BB)	2.46 ± 0.094	2.72 ± 0.094	2.20 ± 0.094
VIII (fraksi etil asetat 25 mg/kg BB)	2.30 ± 0.094	1.85 ± 0.094	2.42 ± 0.094
IX (fraksi etil asetat 12.5 mg/kgBB)	2.15 ± 0.094	2.57 ± 0.094	3.18 ± 0.094
X (fraksi n-heksan 50 mg/kg BB)	2.63 ± 0.094	2.31 ± 0.094	3.10 ± 0.094
XI (fraksi n-heksan 25 mg/kg BB)	2.98 ± 0.094	2.64 ± 0.094	3.25 ± 0.094
XII (fraksi n-heksan 12.5 mg/kg BB)	2.56 ± 0.094	2.65 ± 0.094	2.40 ± 0.094



Gambar 8. Grafik penurunan rata-rata kadar asam urat darah uji pendahuluan

Asam urat dipengaruhi secara signifikan ($P < 0,05$) oleh dosis fraksi daun kembang sunsang. Pemberian fraksi etanol, etil asetat dan n-heksan mampu menurunkan kadar asam urat darah. Pemberian fraksi etanol dosis 25 mg/kg BB menurunkan asam urat paling besar dibandingkan fraksi etil asetat dan n-heksan. Kelompok fraksi etanol 25 mg/kg BB menurunkan asam urat lebih besar dibandingkan dosis 50 mg/kg BB dan 12,5 mg/kg BB. Penurunan asam urat pada kelompok fraksi n-heksan dosis 12,5 mg/kg BB, 25 mg/kg BB, dan 50 mg/kg BB tidak berbeda nyata dengan kelompok positif (yang hanya di induksi kalium oxonat). Interaksi kelompok perlakuan dengan pengulangan dosis tidak berpengaruh secara signifikan terhadap hasil penurunan kadar asam urat. Pengukuran kadar asam urat pada tikus dapat dilihat pada tabel 8.

4.8 Hasil Pengukuran Kadar Asam Urat Uji Lanjutan

Hasil pengukuran kadar asam urat darah dari seluruh kelompok perlakuan seperti tertera pada tabel di bawah ini:

Tabel 9. Penurunan rata-rata kadar asam urat (uji lanjutan)

Kelompok perlakuan	Rata-rata kadar asam urat darah (mg/dl)				± SE
	Hari ke-0	Hari ke-7	Hari ke-14	Hari ke-21	
I positif induksi asam urat	2.68	2.57	2.41	2.18	0.093
II asam urat + fraksi etanol 40 mg/kg	2.28	2.01	1.92	1.46	0.093
III asam urat + fraksi etanol 30 mg/kg	2.46	2.04	2.00	1.68	0.093
IV asam urat + fraksi etanol 20 mg/kg	2.64	2.15	1.75	1.44	0.093
V asam urat +alopurinol 13,5 mg/kg	2.22	1.59	1.50	1.44	0.093
VI patologis diabetes + fraksi etanol 40 mg/kg	2.17	1.90	1.60	1.42	0.093
VII patologis diabetes + fraksi etanol 30mg/kg	2.00	1.77	1.40	1.22	0.093
VIII patologis diabetes + fraksi etanol 20mg/kg	2.56	2.44	1.40	1.08	0.093
IX patologis diabetes + alopurinol 13,5 mg/kg	2.09	1.85	1.28	1.05	0.093
X positif patologis diabetes (asam urat + DM)	2.54	2.46	1.69	1.36	0.093

Hasil anova dua arah dari pengukuran rata-rata kadar asam urat (tabel 9) dipengaruhi secara signifikan ($P < 0,05$) oleh dosis fraksi daun kembang sunghang (lampiran 16). Pemberian fraksi etanol, dan pembanding alopurinol mampu menurunkan kadar asam urat darah baik pada kelompok asam urat tinggi maupun kelompok patologis diabetes. Pemberian fraksi etanol dosis 8mg/200 g BB, 6 mg/200 g BB dan 4 mg/200 g BB pada kelompok patologis diabetes dapat menurunkan asam urat lebih besar dibandingkan kelompok asam urat tinggi. Terdapat hubungan antara kelompok perlakuan dengan lamanya pemberian fraksi. Penurunan asam urat terjadi pada hari ke-0 kemudian menurun pada hari ke-7,14 dan 21. kadar asam urat pada hari ke-21 merupakan kadar asam urat paling rendah dibandingkan pengukuran pada hari ke -7 dan 14. kadar asam urat semua kelompok perlakuan dipengaruhi oleh interval pemberian fraksi etanol ($p < 0.05$). Hubungan kelompok perlakuan dengan pengulangan dosis tidak berpengaruh secara signifikan terhadap hasil penurunan kadar asam urat ($p > 0.05$)

Tabel 10. Persentase penurunan rata-rata kadar asam urat uji lanjutan

Perlakuan	Waktu Pengamatan	Dosis (mg/kg) BB	Persentase Penurunan Rata-rata kadar asam urat (%)	
			Kelompok Kadar urat tinggi	Kelompok asam urat dalam patologis diabetes
I	0	20	2.7	1.3
		30	13.2	36.9
		40	25.5	22.3
	7	20	30.6	1.4
		30	33.9	44.2
		40	38.4	35.4
	14	20	54.5	45
		30	29.3	47.5
		40	37.7	11.1
	21	20	75.5	90
		30	42.7	50
		40	67.3	12.5

Persentase penurunan kadar asam urat dosis 20 mg/kg BB pada kelompok asam urat tinggi hari ke-0 sampai hari ke-21 mengalami penurunan hingga 75 %, sedangkan pada kelompok asam urat dalam patologi diabetes dengan dosis yang sama terjadi penurunan hingga 90 %. Penurunan kadar asam urat dosis 30 mg/kg BB pada kelompok asam urat tinggi sebesar 42,7 %, sedangkan pada kelompok asam urat dalam patologi diabetes diperoleh penurunan kadar asam urat 50 %. Penurunan kadar asam urat dosis 40 mg/kg BB sebesar 67,3 % dan dalam keadaan patologi diabetes diperoleh penurunan kadar asam urat sebesar 12,5 %. Dari ketiga dosis yang berbeda, terlihat adanya penurunan kadar asam urat baik pada keadaan asam urat tinggi maupun pada keadaan patologi diabetes. Peningkatan persentase penurunan asam urat lebih besar pada keadaan patologi diabetes.

4.10 Pembahasan

Pada penelitian ini digunakan sampel berupa daun *Gloriosa Superba* Linn. Sampel yang telah diserbukkan kemudian di maserasi. Maserasi sampel dilakukan dengan menggunakan pelarut etanol karena sifatnya yang mampu melarutkan hampir semua zat, baik yang bersifat polar, semi polar dan non polar serta kemampuannya untuk mengendapkan protein dan menghambat kerja enzim sehingga dapat terhindar proses hidrolisis dan oksidasi. Setelah melalui proses maserasi, ekstrak etanol dipekatkan agar dapat mengurangi tekanan udara pada permukaan sehingga akan menurunkan titik didihnya. Kemudian ekstrak di rotary evaporator untuk menguapkan pelarut dan air yang masih tersisa sehingga didapatkan ekstrak kental dengan berat konstan.

Setelah didapatkan ekstrak kental dilakukan penetapan standar mutu dan kandungan kimia ekstrak. Persyaratan mutu ekstrak meliputi parameter standar

umum dan parameter standar spesifik. Dari pengamatan didapatkan hasil pemeriksaan organoleptik : ekstrak berkosistensi kental, berwarna coklat, berbau khas dan berasa pahit. Penentuan organoleptik ini termasuk salah satu parameter spesifik yang ditentukan dengan menggunakan panca indera dan bertujuan untuk pengenalan awal secara sederhana dan subjektif. Uji penapisan golongan kimia ekstrak menunjukkan bahwa ekstrak mengandung alkaloid, flavonoid, saponin dan tanin. Selanjutnya ekstrak kental etanol di fraksinasi lebih lanjut untuk mendapatkan senyawa aktif yang bersifat polar, semi polar dan non polar. Tujuan dilakukannya fraksinasi adalah memisahkan senyawa-senyawa berdasarkan tingkat kepolarannya. Pada prinsipnya senyawa polar diekstraksi dengan pelarut polar sedangkan senyawa non polar diekstraksi dengan pelarut non polar.

Hewan coba yang digunakan pada penelitian ini adalah tikus putih dengan galur, jenis kelamin dan umur yang sama serta lingkungan dan makanan yang relatif sama untuk mengurangi variasi biologi atau faktor lain yang mempengaruhi hasil penelitian. Hewan coba yang digunakan adalah tikus jantan galur *Sprague Dawley*, berumur 3 – 4 bulan dengan berat badan berkisar 200-350 gr. Pemilihan penggunaan tikus jantan sebagai hewan coba bertujuan untuk mengurangi ketidakstabilan aktivitas hormonal dibandingkan tikus betina (Harmita & radji, 2004)

Induksi asam urat dilakukan dengan pemberian kalium oksonat secara intraperitoneal. Kalium oksonat bekerja dengan cara menghambat enzim urikase yang mengubah asam urat menjadi allantoin. Dibandingkan dengan asam urat, allantoin lebih mudah diekskresikan. Dengan dihambatnya enzim urikase, maka kadar asam urat pada tikus akan meningkat dan dapat digunakan sebagai model

keadaan hiperurisemia. Berdasarkan orientasi dan penelitian terdahulu, kadar asam urat pada tikus yang diinduksi oleh kalium oksonat secara intraperitoneal, setelah dua jam maka kadar asam urat mulai menurun hingga mendekati kadar normal setelah 24 jam. Dengan dasar itu maka pengambilan darah dilakukan dua jam setelah injeksi kalium oksonat (Mai Thanh, 2005).

Pada penelitian pendahuluan, digunakan 60 ekor tikus yang dibagi dalam 12 kelompok. Penggunaan variasi dosis ditujukan untuk melihat pengaruh perbedaan dosis dengan efek penurunan kadar asam uratnya. Percobaan dilakukan selama 14 hari. Pada hari ke-1 sampai hari ke-14 diberikan sediaan uji secara oral, sehari satu kali pada kelompok VI sampai XII, dan alopurinol pada kelompok III (kelompok pembanding).

Alopurinol dipilih sebagai obat pembanding karena alopurinol merupakan salah satu obat yang digunakan sebagai anti-asam urat. Mekanisme kerja alopurinol yaitu mengurangi sintesa urat atas dasar persaingan substrat dengan zat-zat purin berlandaskan enzim *xanthin oksidase*. Enzim yang mengubah *hipoxantin* menjadi *xantin* dan selanjutnya menjadi asam urat (Ganiswara, 2007).

Dua jam setelah induksi kalium oxonat, semua kelompok diambil darahnya melalui sinus orbital mata. Cara ini dipilih karena volume darah cukup besar, tidak membuat hewan uji menjadi stress, sehingga mengurangi resiko terjadinya lisis. Pengukuran kadar asam urat dalam darah diukur dengan menggunakan metode *enzimatik photometrik* menggunakan pereaksi asam urat FS TBHBA (*2,4,6-Tribromo-3-hydroxybenzoic acid*). Pada pengukuran metode ini, asam urat diubah secara enzimatik menjadi allantoin, hydrogen peroksida, serta karbon dioksida. Hidrogen peroksida yang terbentuk akan bereaksi dengan 4-

aminoantipirin dan TBHBA menjadi *quinoneimine* berwarna merah sebagai indikator. Sampel plasma yang mengandung asam urat direaksikan dengan pereaksi asam urat dan diinkubasikan selama 5 menit pada suhu 37°C . Inkubasi ini bertujuan untuk memperoleh serapan yang optimum dan stabil dari *quinoneimine* yang telah terbentuk sempurna. Pengukuran dilakukan pada panjang gelombang 520 nm.

Semua kelompok perlakuan setelah di induksi kalium oxonat menunjukkan adanya kenaikan kadar asam urat darah dibandingkan dengan kelompok normal. Hasil pengukuran kadar asam urat menunjukkan bahwa pemberian kalium oksonat dapat meningkatkan kadar asam urat, karena kalium oksonat dapat menghambat enzim urikase tikus yang berfungsi untuk mengubah asam urat menjadi allantoin yang lebih mudah larut dalam air dan dieksresi tubuh. Hal ini dapat dilihat pada peningkatan yang signifikan yang terjadi pada kontrol positif (kelompok yang di induksi kalium oxonat).

Data yang dihasilkan pada uji pendahuluan menunjukkan bahwa terdapat pengaruh langsung antar kelompok perlakuan terhadap kadar asam urat, artinya ada perbedaan rata-rata kadar asam urat antar kelompok perlakuan terhadap penurunan kadar asam urat. Hal tersebut terlihat dari nilai signifikan $0.00 < 0.05$ (lampiran 14). Sedangkan untuk variabel waktu terhadap rata-rata kadar asam urat darah tidak berpengaruh nyata, hal ini dapat diartikan bahwa tidak ada pengaruh rata-rata kadar asam urat darah dengan waktu pengamatan. Hal tersebut terlihat dari nilai signifikan $0,334 > 0,05$.

Data kemudian dilanjutkan dengan uji Tukey HSD (lampiran 14) untuk mengetahui perbedaan tiap kelompok. Berdasarkan uji tersebut, maka dapat

disimpulkan bahwa fraksi etanol daun kembang sungsang (*Gloriosa superba* L.) dengan dosis 30 mg/kg BB dapat menurunkan kadar asam urat darah tikus jantan yang diinduksi kalium oksonat.

Setelah didapatkan fraksi terbaik yaitu fraksi etanol yang dapat menurunkan kadar asam urat, maka dilakukan penelitian lanjutan untuk melihat efek anti-asam urat fraksi etanol dari ekstrak daun kembang sungsang terhadap tikus putih jantan diabetes. Sebelumnya, dilakukan penetapan standar mutu dan kandungan kimia fraksi. Persyaratan mutu fraksi meliputi parameter standar umum dan parameter standar spesifik. Standarisasi ini dimaksudkan agar dapat menjamin bahwa produk mempunyai nilai parameter tertentu yang konstan (Anonim, 2000). Pada pemeriksaan organoleptik fraksi meliputi bentuk, warna, bau dan rasa. Dari pengamatan didapatkan hasil : fraksi kental, berwarna coklat , berbau khas dan berasa pahit.

Kadar senyawa yang terlarut dalam air dan dalam etanol dari fraksi adalah 22,4% untuk senyawa yang larut dalam air, dan 13,9% untuk senyawa yang larut dalam etanol. Ini berarti fraksi lebih banyak terlarut dalam air dibandingkan dalam etanol. Kadar zat terlarut ini merupakan uji kemurnian fraksi yang dilakukan untuk mengetahui jumlah terendah bahan kimia kandungan fraksi yang terlarut dalam pelarut tertentu. Untuk syarat kemurnian dari simplisia maupun ekstrak minimum harus dilakukan uji penetapan kadar zat terekstraksi dalam air dan etanol (Soetarno dan Soediro, 1997).

Penentuan kadar abu bertujuan untuk memberikan gambaran kandungan mineral internal dan eksternal, pada penentuan kadar abu fraksi dipanaskan hingga senyawa organik dan turunannya terdestruksi dan menguap sampai tinggal

unsur mineral dan anorganik saja. Kadar abu fraksi didapat sebesar 4,08 % dan kadar abu yang tidak larut dalam asam sebesar 1,31%. Hal ini menunjukkan bahwa sisa anorganik yang terdapat dalam fraksi sebesar 4,08% dan kadar unsur anorganik yang tidak larut dalam asam sebesar 1,31%.

Pengujian cemaran bakteri termasuk salah satu uji untuk syarat kemurnian fraksi. Uji ini mencakup penentuan jumlah mikroorganisme yang diperbolehkan dan untuk menunjukkan tidak adanya bakteri tertentu dalam fraksi. Pada fraksi terdapat cemaran bakteri 31×10^{-1} koloni/g. Ini berada dibawah batas maksimum yaitu 10^6 koloni/g menurut SK Dirjen Pom No : 03726/B/SK/VII/89 tentang batasan maksimum mikroba dalam makanan.(Anonim,2009) Rendahnya pertumbuhan bakteri ini juga bisa disebabkan karena fraksi yang digunakan adalah fraksi etanol, dimana etanol juga dapat menghambat pertumbuhan bakteri atau mikroba dalam fraksi (Helmi A,2006). Pada pengujian pencemaran kapang pada fraksi tidak ditemukan adanya pencemaran kapang, hal ini diperjelas dengan tidak ditemukan ciri mikroskopis biakan *Aspergillus flavus*, koloni yang tumbuh berwarna kuning muda dan hifa tidak bersekat.

Penentuan kandungan logam timbal (Pb) pada fraksi berguna untuk dapat menjamin bahwa fraksi tidak mengandung timbal melebihi batas yang ditetapkan karena bersifat toksik terhadap tubuh. Agar didapatkan data yang valid maka dianalisa dengan menggunakan metoda spektrofotometri serapan atom. SK Dirjen POM No 03725/B/SK/VII/89 tentang batas maksimum cemaran logam dalam makanan menyatakan bahwa batas maksimum cemaran logam timbal pada rempah – rempah sebesar 10 mg/kg (Anonim,2009). setelah dilakukan pengujian

diketahui bahwa fraksi tidak mengandung logam timbal sehingga memenuhi persyaratan yang ditetapkan.

Setelah persyaratan mutu fraksi yang meliputi parameter standar umum dan parameter standar spesifik sudah dilakukan, dilanjutkan dengan penelitian lanjutan. Pada penelitian ini digunakan 50 ekor tikus yang dibagi dalam 10 kelompok. Hasil penelitian uji pendahuluan diperoleh fraksi etanol dosis 30 mg/kgBB yang paling besar menurunkan kadar asam urat darah tikus. Kemudian dosis divariasikan, penggunaan variasi dosis ditujukan untuk melihat pengaruh perbedaan dosis dengan efek menurunkan kadar asam urat darah.

Kelompok perlakuan dibagi menjadi dua, kelompok perlakuan dengan keadaan asam urat tinggi (induksi kalium oxonat) yaitu kelompok I sampai V, dan kelompok perlakuan asam urat dalam patologi diabetes (induksi kalium oxonat dan streptozotocin) yaitu kelompok VI sampai X. Berdasarkan orientasi pemberian streptozotocin secara intraperitoneal dilakukan terlebih dahulu. Hal ini disebabkan tikus yang di induksi streptozotocin mengalami peningkatan kadar glukosa darah. Pemberian streptozotocin dapat merusak sel β pankreas, dimana dalam pengaturan kadar gula darah sel β merupakan unsur terpenting, mengingat fungsinya sebagai penghasil insulin. Kemungkinan lain disebabkan karena terjadinya hambatan metabolisme glukosa di dalam sel sehingga perangsangan sekresi insulin oleh glukosa juga terhambat atau disebabkan streptozotocin bersifat anti insulin dalam darah atau menghambat efek insulin pada reseptor sehingga terjadi hiperglikemia (nurdiana, 1998).

Percobaan dilakukan 21 hari, pada hari ke -7 sampai dengan hari ke-21 diberikan sediaan uji secara oral, sehari satu kali pada kelompok II,III,IV,VI,VII,

dan VIII sesuai dengan kelompok dosis. Pembanding alopurinol diberikan secara oral pada kelompok V dan IX . Dari analisa statistik, berdasarkan pengukuran waktu, penurunan kadar asam urat terjadi pada hari ke-0 kemudian menurun terus sampai hari ke-21. Penurunan kadar asam urat juga dapat terlihat pada keadaan asam urat maupun patologis diabetes. Kadar asam urat pada hari ke-21 merupakan kadar asam urat paling rendah dibandingkan pengukuran pada hari ke-14 dan 7. Hal tersebut disebabkan metabolisme asam urat dari tikus putih yang mengeliminasi asam urat ke luar tubuh melalui urin. Selain itu, efek akumulasi bahan aktif fraksi etanol daun kembang sunsang yang mulai berpengaruh terhadap penurunan kadar asam urat dalam serum, menyebabkan peningkatan penurunan kadar asam urat darah dari hari ke-7 hingga hari ke-21. kemungkinan lain dari asam urat setelah 21 hari adalah akibat berkurangnya efek penghambatan urikase oleh kalium oxonat. Hal tersebut terlihat dari adanya penurunan kadar asam urat serum kelompok positif (induksi kalium oxonat).

Selanjutnya, jika dilihat dari grafik (lampiran 16). Rata-rata penurunan kadar asam urat, kelompok perlakuan dengan kondisi asam urat dan patologis diabetes dosis 40 mg/kg BB tidak memiliki perbedaan secara nyata antara penurunan kadar asam urat dengan lamanya pemberian fraksi ($0,867 \geq 0,01$). Penurunan rata-rata kadar asam urat dosis 30 mg/kg BB pada kelompok asam urat tinggi memiliki perbedaan nyata terhadap kelompok patologis diabetes pada hari ke 21 ($0,046 \geq 0,01$), sedangkan untuk dosis 20 mg/kgBB juga terlihat adanya perbedaan secara nyata penurunan kadar asam urat kelompok asam urat tinggi dengan kelompok patologis diabetes pada hari ke-21 ($0,002 \geq 0,01$). Maka dapat dikatakan bahwa ada perbedaan penurunan kadar asam urat darah tikus pada

kelompok asam urat tinggi dengan kelompok asam urat dalam patologis diabetes. Peningkatan penurunan kadar asam urat lebih besar pada keadaan asam urat dalam patologis diabetes, hal ini berarti dalam keadaan patologis diabetes zat uji memiliki aktivitas yang semakin meningkat.

Dari hasil analisis yang diperoleh, terlihat adanya hubungan asam urat dengan diabetes melitus. Hal ini terbukti pada keadaan patologis diabetes, bahan uji mampu menurunkan kadar asam urat. Dari beberapa studi menunjukkan peningkatan konsentrasi asam urat memegang peranan pada terjadinya morbiditas diabetes melitus. Studi-studi epidemiologis dan bukti-bukti eksperimental juga mendapatkan asam urat serum sebagai faktor risiko khususnya pada pasien hipertensi, gagal jantung dan diabetes (Zoccali,dkk, 2006) . hiperurisemia sering dikaitkan dengan obesitas, gangguan toleransi glukosa, dislipidemia, dan penyakit arteri koroner (Johnson,dkk, 2003). Karena itu di duga bahwa peningkatan konsentrasi asam urat mungkin merupakan gambaran dari sindrom resistensi insulin.

Pada penelitian ini, didapatkan korelasi atau hubungan antara kelompok perlakuan asam urat dengan kelompok perlakuan asam urat dalam patologis diabetes, hal ini terbukti bahwa bahan uji mampu menurunkan kadar asam urat darah walaupun pada keadaan patologis diabetes. Diabetes adalah suatu keadaan yang ditandai oleh kekurangan insulin atau resistensi insulin. Hubungan tersebut dapat dijelaskan bahwa asam urat diketahui berfungsi sebagai antioksidan dan mungkin antioksidan yang paling penting dalam plasma dengan kontribusi 60% dari seluruh aktivitas pembersihan radikal bebas dalam serum manusia (waring,2000;johnson RJ,2003):

Asam urat merangsang produksi sitokin dari leukosit dan kemokin dari otot polos pembuluh darah, merangsang perlekatan granulosit pada endotelium, adesi platelet dan pelepasan radikal bebas peroksida dan superoksida serta memicu stres oksidatif (Leyva F,2006;Culleton BF,2006). Dari sini diduga terdapat peranan potensi asam urat atau xantin oksidase bagi terjadinya disfungsi endotel dan dalam memediasi respon inflamasi sistemik yang akhirnya bermuara pada terjadinya resistensi insulin(waring,2000;johnson RJ,2003). Efek enzimatik xantin oksidase adalah produksi reactive oxygen species (ROS) dan asam urat. hal ini akan menimbulkan stres oksidatif dan memicu terjadinya resistensi insulin baik secara langsung maupun akibat peningkatan aktivitas protein kinase C (PKC) (Culleton BF,2006). Studi pada tikus percobaan yang diberi makanan fruktosa, memperlihatkan perbaikan hiperinsulinemia, hipertensi dan berat badan setelah konsentrasi asam urat diturunkan (Nakagawa,2005).

Studi pada manusia juga mendapatkan asam urat sebagai predictor poten adanya hiperinsulinemia, hal ini di duga akibat kemampuan asam urat dalam menghambat fungsi endotel melalui gangguan dalam produksi *nitric oxide*(Nakagawa,2005) . hubungan yang positif antar asam urat dengan resistensi insulin sebagian disebabkan karena hiperinsulinemia meningkatkan reabsorpsi sodium di tubulus ginjal, sebagai akibatnya kemampuan ginjal mengeksresikan sodium dan asam urat menurun dan hasil akhirnya konsentrasi asam urat serum meningkat (Facchini,1999).

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

5.1.1 Pada uji pendahuluan, pemberian fraksi etanol, etil asetat dan n-heksan daun kembang sungsang dosis tinggi (50 mg/kg BB), dosis sedang (25 mg/kg BB), dan dosis rendah (12,5 mg/kg BB) dapat menurunkan kadar asam urat darah. Penurunan kadar asam urat paling besar terjadi pada fraksi etanol dosis 25 mg/kg BB.

5.1.2 Pada penapisan golongan kimia dari fraksi etanol menunjukkan adanya senyawa alkaloid, flavonoid, saponin dan tanin.

5.1.3 Kadar abu ekstrak 4,08% dan kadar abu yang tidak larut asam 1,31%. Total cemaran bakteri 31×10^1 dan tidak ditemukan cemaran kapang, serta tidak mengandung logam timbal.

5.1.4 Pada uji lanjutan, peningkatan penurunan kadar asam urat pada keadaan patologis diabetes lebih besar dibandingkan pada keadaan asam urat tinggi. Hal ini dapat diartikan bahwa zat uji memiliki aktivitas semakin tinggi pada keadaan patologis diabetes.

5.2 Saran

Perlu dilakukan penyesuaian dosis dengan menurunkan dosis zat uji pada keadaan patologis diabetes, Perlu dilakukan uji LD₅₀ untuk mengetahui toksisitas dari fraksi etanol ekstrak daun kembang sungsang (*Gloriosa superba* L.) dan dilihat kerusakan dari organnya, serta perlu dilakukan penelitian isolasi senyawa aktif yang dapat berkhasiat sebagai penurun kadar asam urat dan glukosa darah.

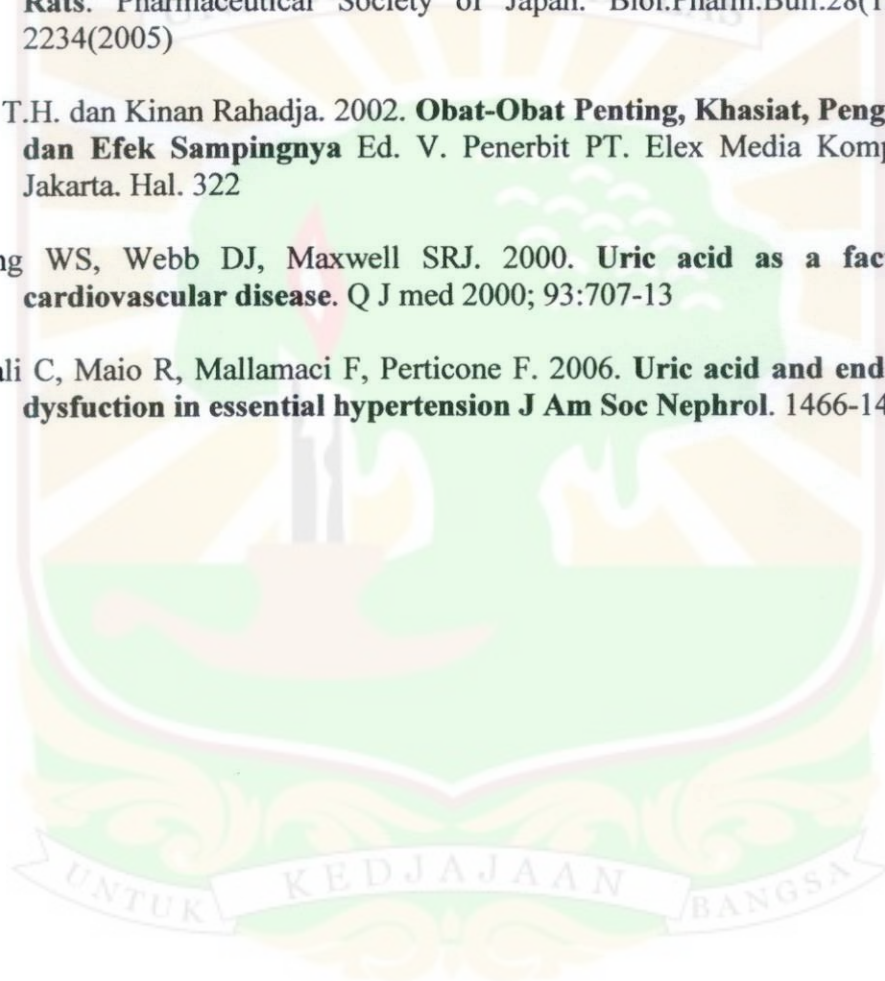
DAFTAR PUSTAKA

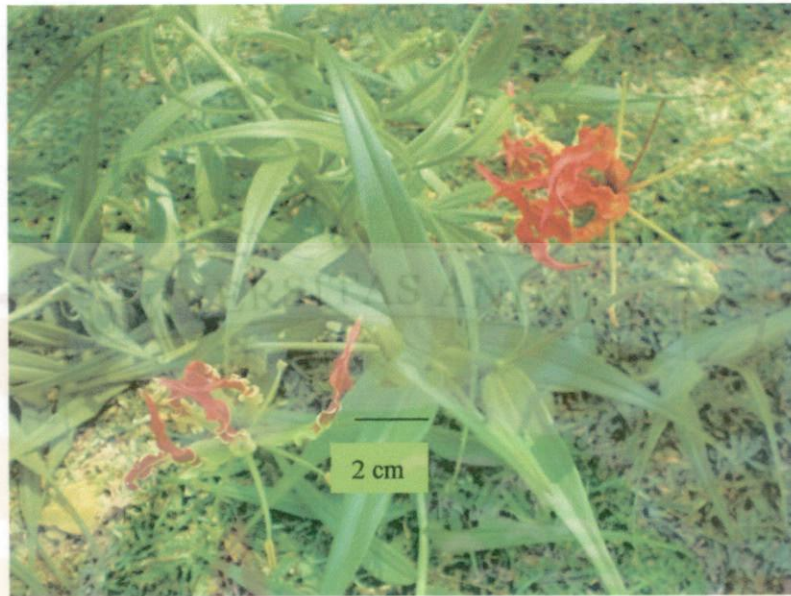
- Annika Vinnersten and Gail Reeves.2003. **Phylogenetic Relationships within Colchicaceae.***American Journal of Botany*, Vol. 90, No. 10, pp. 1455-1462
- Anonim. 2000. **Buku Panduan Teknologi Ekstrak.** Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan, Departemen Kesehatan RI, Jakarta. Hal. 3, 6, 13-14, 22-34
- Anonim. 2007. **Diagnostic System GmbH Alte Strasse.** Holzheim, Jerman.
- Anonim.1995. **Materia Medika, Jilid VI.** Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta. Hal. 333-337
- Anonim, 2002. **Blood collection and administration of fluids and drugs: the university of Iowa** 2002.
- Anonim. 2009. **Batas maksimum cemaran mikroba dalam pangan.** Badan standardisasi nasional.2009.
- Anonim. 2009. **Batas maksimum cemaran logam berat dalam pangan.** Badan standardisasi nasional.2009.
- Brunner & Suddarth. 1997. **Keperawatan Medikal Bedah**, alih bahasa Hartono, A., Kuncara, M., Ester, M., Edisi 8, Vol. 2, Jakarta: EGC
- Charles R.Craig. 2004. **Modern Pharmacology with Clinical Applications.** Lippincott, William & wilkas, Philadelphia. Hal. 445-446
- Choi,HK, 2009. **A prescription for lifestyle change in patients with hyperuricemia and gout.** Section of Rheumatology and the Clinical Epidemiology Unit, Boston, Massachusetts, USA.
- Culleton BF, Larson MG, Kannel WB, Levy D. **Serum uric acid and risk for cardiovascular disease and death: The Framingham Heart Study.** Ann Intern Med 2006; 131:7-13.
- Dalimartha, Setiawan. 2003. **Atlas tumbuhan Obat Indonesia Jilid 3.** Penerbit Trubus Agriwidya, Ungaran. Hal. 54 – 57
- David W.Hawkins and Daniel W. Rahn. 1997. **A Pathofisiological Approach 3th ed.** Black Well Scientific Publication, London. Hal. 1755 -1756
- Dipiro. 2002. **Pharmacotherapy: A Pathophysiologic Approach, Sixth Edition.** The McGraw-Hill Companies. Hal. 1335

- Facchini FS, Carlos DoNascimento, Gerald MR, Jeannie W. Yip Xi.1999. **Blood Pressure, sodium intake, insulin resistance, and urinary nitrate excretion.** *Hypertension* 1999; 33: 1008-12
- Ganiswara, G.,Sulistia. 1995. **Farmakologi dan Terapi.** Fakultas Kedokteran UI, Jakarta. Hal. 221-222
- Ganiswara, G.,Sulistia. 2007. **Farmakologi dan Terapi, edisi V.** Fakultas Kedokteran UI, Jakarta Hal 242-244.
- Gary J. Arnold, MD, FACS, **Handbook of Pathophysiology. January 15, 2001.** by Springhouse Corporation, Springhouse. Philadelphia. 331
- Harmita & Radji m. 2004. **Buku ajar analisis hayati.** Depok : Departemen farmasi fmipa UI. Hal. 67-69
- Harry Isbagio,dkk., 2007. **Gelar Hasil Penelitian Surveilens Beberapa Penyakit Perkotaan.** *Majalah Farmacia*, Vol.6 No.7
- Helmi Arifin, Nelvi Anggraini, Dian Handayani, Henny Lucida. 2005. **Standarisasi ekstrak etanol daun Eugenia cumini Merr.** *Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi*, Vol. 10, No.1, 2006, 11-17
- Johnson RJ, kang DH, Feig D, Kivlighn, kannelis J, Watanabe S, Tuttle KR. 2003 **Is there a pathogenetic role for uric acid in hypertension and cardiovascular and renal disease.** *Hypertension* 2003 ; 1183-90
- Katzung, Trevors. 2008. **Pharmacology eight ed.** Mc Graw Hill Companies. Hal. 307
- Katzung. 2007. **Pancreatic Hormone and Antidiabetic Drugs, Basic &Clinical Pharmacology 10th ed.** Mc Graw Hill Companies.
- Khan H, Khan MA, Mahmood T, Choudhary MI. 2008. **Antimicrobial activities of Gloriosa superba Linn (Colchicaceae) extracts.** Department of Pharmacy, University of Peshawar, Pakistan. Dec;23(6):855-9
- Leyva F, Anker A, Goldsland I.F, Hellewell PG, Coats AJ. 2006. **Uric acid in chronic heart failure: a marker of chronic inflammation.** *Eur Heart J* 2006; 19:1814-22.
- M Ferko, D Habodászová, I Waczulíková, J Mujkosová, 2009.**Endogenous Protective Mechanisms in Remodeling of Rat Heart Mitochondrial Membranes in the Acute Phase of Streptozotocin-Induced Diabetes.** *Physiological Research.* Praha: Vol. 57 pg. 67

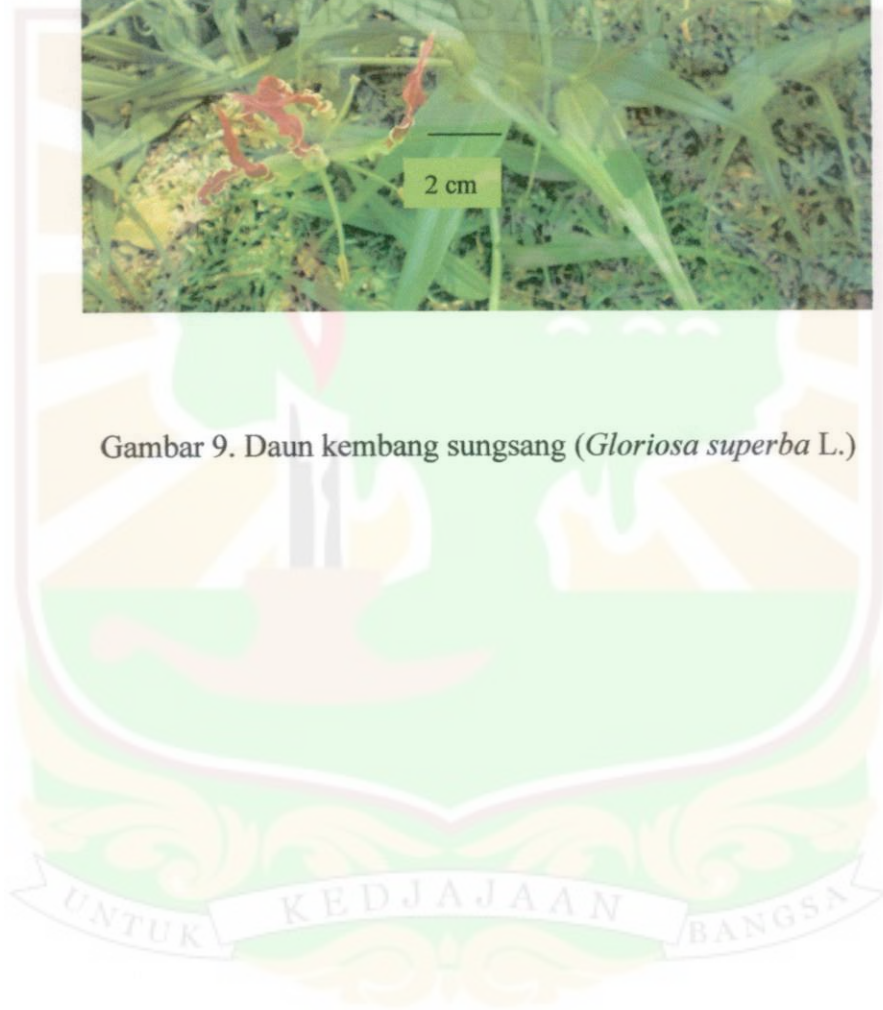
- Mansjoer, Arif. 2001. **Kapita Selekta kedokteran Jilid 1**. Media Aesculapis, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta. Hal. 585-587
- Marya, R.K. 2006. **Pathophysiology**. CBS Publisher, New Delhi, Bangalore, India. Hal. 279-283
- Nakagawa T, Zharikov S, Tuttle KR, Short R, Glushakova O, Ouyang X, Feig D, Block ER, Acosta J, Patel JM, Johnson RJ. 2005. **A causal role for uric acid in fructose-induced metabolic syndrome**. *Am J physiol Renal Physiol* 2005; 10:1152-9.
- Nurdiana, Permatasari N, Setyawati, Ali M. 1998. **Efek streptozotocin sebagai bahan diabetogenik pada tikus wistar dengan cara pemberian Intra peritoneal dan intra vena**. *Majalah kedokteran Unibraw*. 1998; XIV(2): 70-76
- Price, A. sylvia 2005. **Patofisiologi konsep klinis proses-proses penyakit**. Edisi 6. Penerbit Buku kedokteran, EGC, Jakarta. Hal.1262,1405
- Priyanto. 2008. **Farmakologi Dasar Untuk Mahasiswa Keperawatan dan Farmasi**. Penerbit Leskonfi, Depok. Hal. 109 – 110
- Priyanto. 2009. **Farmakoterapi dan Terminologi Medis**. Penerbit Leskonfi, Depok. Hal. 117,123
- Priyanto. 2009. **Toksikologi, Mekanisme, Terapi Antidotum, dan Penilaian Resiko**. Penerbit Leskonfi, Depok. Hal. 151 – 152
- Pudjiastuti, Ani Isnawati. 2003. **Penelitian Pengembangan Daun Kembang Sungsang (*Gloriosa superba* Linn.) sebagai Fitofarmaka Gout (Hiperurisemia)**. Departemen Kesehatan RI, Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. Jakarta
- Rodwell, V. W., 1995. **Metabolisme Nukleotida Purin dan Pirimidin, Biokimia Harper, edisi 24**. Diterjemahkan oleh Andry Hartono, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta. Hal. 378-393
- Rudy Hidayat. 2009. **Gout dan Hiperurisemia**. *Majalah Medicinus* Vol. 22, No.2, Edisi Juni – Agustus 2009. Hal. 47
- Sandi Gunawan, Arista D.K, Rahadian Y.H, Yoga P. 2008. **Potensi Ekstrak Etanol Daun Kembang Sungsang (*Gloriosa superba* Linn.) Sebagai Antidiabetes**. Penelitian Dikti, Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta
- Setyohadi, Bambang, 2007. **Peran Hiperurisemia pada Penyakit Lain**. *Majalah Semijurnal Farmasi & kedokteran (Ethical Digest)* Tahun V No. 43. September. Jakarta. Hal. 25 – 29

- Stryer, Lubert. 2000. **Biokimia vol.2 Ed 4**. penerbit buku kedokteran EGC, Jakarta. Hal. 756
- Soetarno, S., dan I.S., Soediro. 1997. **Standardisasi Mutu Simplisia dan Ekstrak Bahan Obat Tradisional**, Presidium Temu Ilmiah Nasional Bidang Farmasi.
- Thanh Mai,Suresh A,Yasuhiro T,Liying S, et al.2005. **Hypouricemic Effect of Acacetin on serum Uric Acid levels in Potassium Oxonate-Pretreated Rats**. Pharmaceutical Society of Japan. Biol.Pharm.Bull.28(12)2231-2234(2005)
- Tjay, T.H. dan Kinan Rahadja. 2002. **Obat-Obat Penting, Khasiat, Penggunaan dan Efek Sampingnya** Ed. V. Penerbit PT. Elex Media Komputindo, Jakarta. Hal. 322
- Waring WS, Webb DJ, Maxwell SRJ. 2000. **Uric acid as a factor for cardiovascular disease**. Q J med 2000; 93:707-13
- Zoccali C, Maio R, Mallamaci F, Perticone F. 2006. **Uric acid and endothelial dysfunction in essential hypertension J Am Soc Nephrol**. 1466-1471

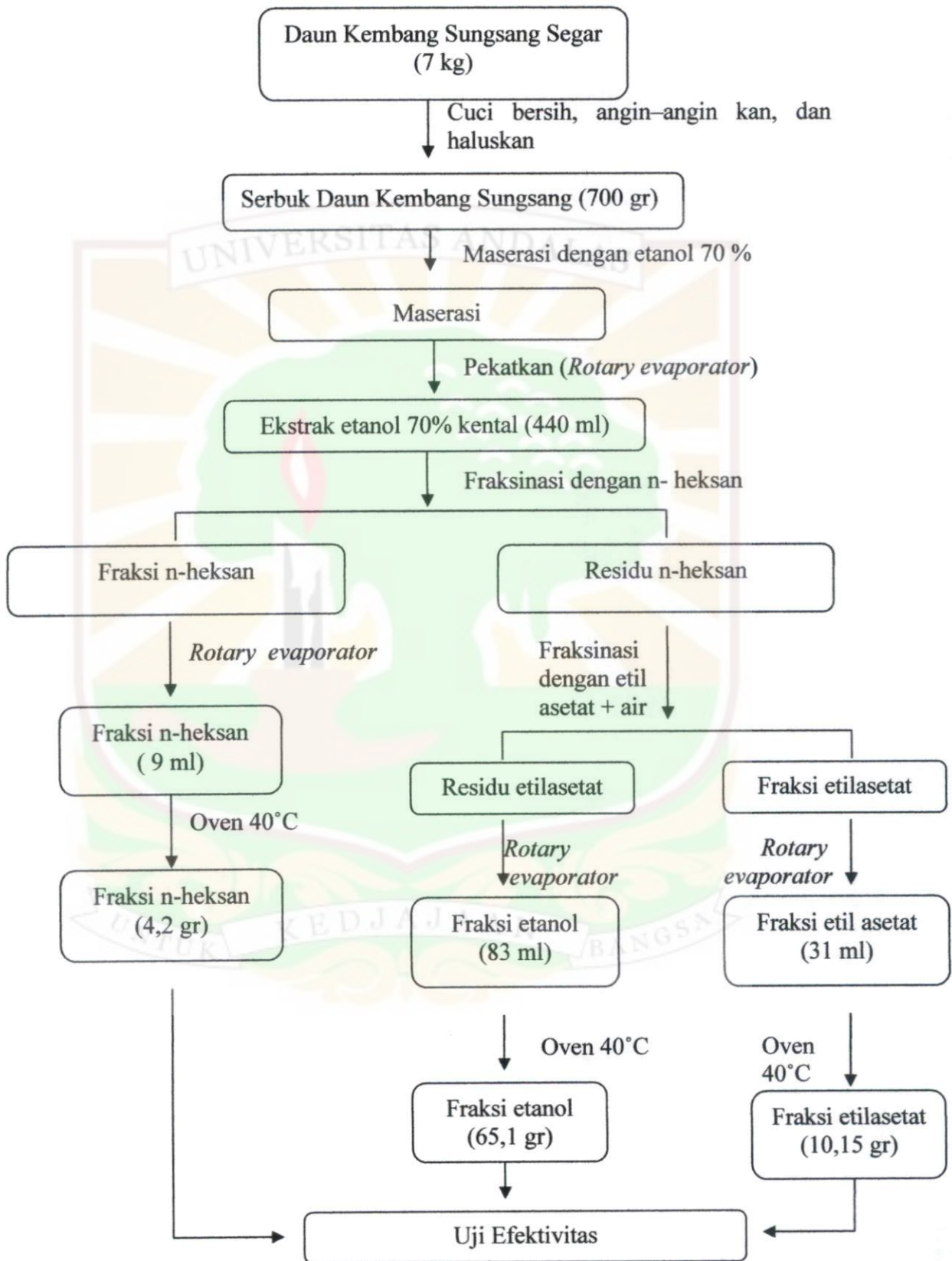


Lampiran 1. Bahan Uji

Gambar 9. Daun kembang sungsang (*Gloriosa superba* L.)



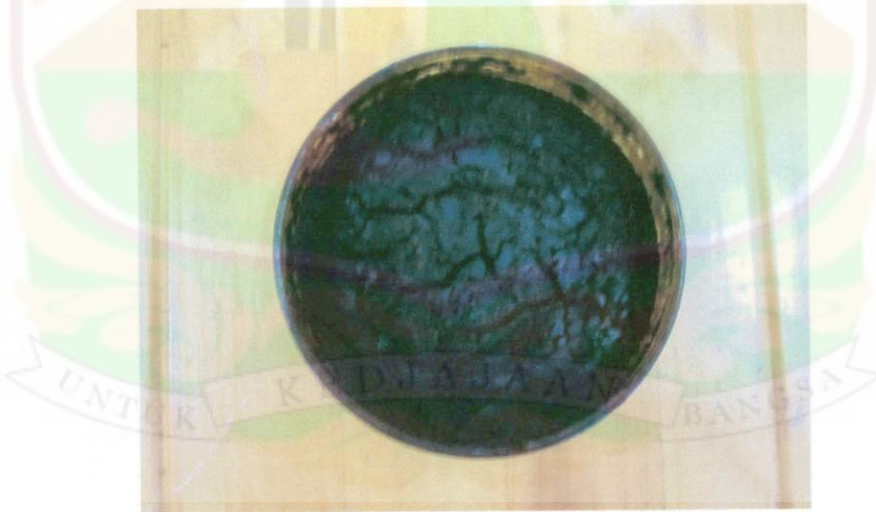
Lampiran 2. Skema Alur Fraksinasi



Lampiran 3. Ekstrak dan fraksi Daun Kembang Sungsang



Gambar 10. Ekstrak etanol daun kembang sungsang



Gambar 11. Fraksi etanol daun kembang sungsang

Lampiran 3. Lanjutan

Gambar 12. Fraksi etil asetat daun kembang sungsang



Gambar 13. Fraksi n-heksan daun kembang sungsang

Lampiran 4. Perlakuan Hewan (Uji pendahuluan)

Tabel 10. Perlakuan tikus putih jantan (uji pendahuluan)

No.	Kelompok	Akli Mati Sasi	Hari ke-0	Hari ke-1,7 dan hari ke-14			Hari ke-1 sampai ke-14
				Menit ke-0	Menit ke-60	Menit ke-120	
1.	KI (normal)				Makanan standar		Makanan standar
2.	KII (pemanding)				alopurinol dosis 13,5 mg/kg BB		alopurinol dosis 13,5 mg/kg BB
3.	KIII (positif)				Makanan standar		Makanan standar
4.	KIV	2	P E M	Induksi kalium oksonat secara I.P 250 mg/kg BB	sediaan uji (fraksi etanol dosis 1)	P E M	sediaan uji (fraksi etanol dosis 1)
5.	KV	M	E		sediaan uji (fraksi etanol dosis 2)	E	sediaan uji (fraksi etanol dosis 2)
6.	KVI	N	R		sediaan uji (fraksi etanol dosis 3)	R	sediaan uji (fraksi etanol dosis 3)
7.	K VII	G	I		sediaan uji (fraksi etil asetat dosis 1)	I	sediaan uji (fraksi etil asetat dosis 1)
8.	KVIII	U	K		sediaan uji (fraksi etil asetat dosis 2)	K	sediaan uji (fraksi etil asetat dosis 2)
9.	K IX		S		sediaan uji (fraksi etil asetat dosis 3)	S	sediaan uji (fraksi etil asetat dosis 3)
10.	K X		A		sediaan uji (fraksi n- heksan dosis 1)	A	sediaan uji (fraksi n- heksan dosis 1)
11.	K XI		N		sediaan uji (fraksi n- heksan dosis 2)	N	sediaan uji (fraksi n- heksan dosis 2)
12.	K XII		D		sediaan uji (fraksi n- heksan dosis 3)	D	sediaan uji (fraksi n- heksan dosis 3)
			A			A	
			R			R	
			A			A	
			H		H		

Lampiran 5. Perlakuan hewan (uji lanjutan)

Tabel 11. Perlakuan tikus putih jantan (uji lanjutan)

No.	Kelompok	Akli Mati Sasi	Induksi	Hari ke-1,7,14 dan hari ke-21			Hari ke-1 sampai ke-21
				Menit ke-0	Menit ke-60	Menit ke-120	
1.	KI (normal 1)	2 M I N G G U	STZ	Induksi kalium oksonat secara I.P 250 mg/ kg BB	Makanan standar	P E M E R I K S A N D A R A H	Makanan standar
2.	KII				sediaan uji (fraksi etanol dosis 1)		sediaan uji (fraksi etanol dosis 1)
3.	KIII				sediaan uji (fraksi etanol dosis 2)		sediaan uji (fraksi etanol dosis 2)
4.	KIV				sediaan uji (fraksi etanol dosis 3)		sediaan uji (fraksi etanol dosis 3)
5.	KV (positif)				Alopurinol dosis 13,5 mg/kg BB		Alopurinol dosis 13,5 mg/kg BB
6.	KVI				sediaan uji (fraksi etanol dosis 1)		sediaan uji (fraksi etanol dosis 1)
7.	K VII				sediaan uji (fraksi etanol dosis 2)		sediaan uji (fraksi etanol dosis 2)
8.	KVIII				sediaan uji (fraksi etanol dosis 3)		sediaan uji (fraksi etanol dosis 3)
9.	K IX (positif)				Alopurinol dosis 13,5 mg/kg BB		Alopurinol dosis 13,5 mg/kg BB
10.	K X (normal)				Makanan standar		Makanan standar

Lampiran 6. Peralatan Penelitian



Gambar 14. Rotary evaporator



Gambar 15. Spektrofotometer Klinikal

Lampiran 7. Hewan Percobaan



Gambar 16. hewan percobaan



Gambar 17. Pemberian obat melalui oral

Lampiran 8. Pengambilan Darah Tikus



Gambar 18. Proses Pengambilan Darah Tikus Melalui Sinus Orbital



Lampiran 9. Perhitungan Penetapan Kadar Senyawa Terlarut dalam Pelarut tertentu dan Perhitungan Kadar Abu.

- a. Penetapan kadar senyawa terlarut dalam pelarut air

$$\% \text{ kadar sari larut dalam air} = \frac{\text{berat sari}}{\text{berat simplisia}} \times \frac{100}{20} \times 100\%$$

$$\text{Berat sari} = 0.224 \text{ gr}$$

$$\text{Berat simplisia} = 5.007 \text{ gr}$$

$$\% \text{ kadar} = \frac{0.224}{5.007} \times \frac{100}{20} \times 100\% = 22.4\%$$

- b. Penetapan kadar senyawa terlarut dalam pelarut etanol

$$\% \text{ kadar sari larut dalam air} = \frac{\text{berat sari}}{\text{berat simplisia}} \times \frac{100}{20} \times 100\%$$

$$\text{Berat sari} = 0.139 \text{ gr}$$

$$\text{Berat simplisia} = 5.009 \text{ gr}$$

$$\% \text{ kadar} = \frac{0.139}{5.07} \times \frac{100}{20} \times 100\% = 13.9\%$$

- c. Penetapan kadar Abu

$$\% \text{ kadar Abu} = \frac{\text{berat abu}}{\text{berat simplisia}} \times 100\%$$

$$\text{Berat abu} = 0.0816 \text{ gr}$$

$$\text{Berat simplisia} = 2.0013 \text{ gr}$$

$$\% \text{ kadar} = \frac{0.0816}{2.0013} \times 100\% = 4.08\%$$

- d. Penetapan kadar Abu yang tidak larut dalam asam

$$\% \text{ kadar Abu} = \frac{\text{berat abu}}{\text{berat simplisia}} \times 100\%$$

$$\text{Berat abu} = 0.0263 \text{ gr}$$

$$\text{Berat simplisia} = 2.0010 \text{ gr}$$

$$\% \text{ kadar} = \frac{0.0263}{2.0010} \times 100\% = 1.31\%$$

Lampiran 10. Hasil Determinasi Tumbuhan



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, 13 November 2009

Nomor : 405/IPH.1.02/If.8/XI/2009
 Lampiran : -
 Perihal : Hasil identifikasi/determinasi Tumbuhan

Kepada Yth.
 Bpk./Ibu/Sdr(i). Dwitiyanti
 Jl. Amd XII No. 33 Rt.04/02
 Kel. Makasar Jakarta Timur

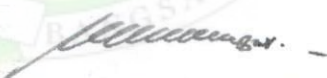
Dengan hormat,

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	Kembang sungsang	<i>Gloriosa superba</i> L.	Colchicaceae

Demikian, semoga berguna bagi Saudara.

Kepala Bidang Botani
 Pusat Penelitian Biologi-LIPI,


 Prof. Dr. Eko Baroto Walujo
 NIP. 195111041975011001

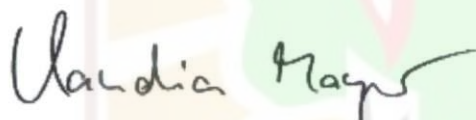
Lampiran 11. Sertifikat Analisa Kalium Oksonat

Certificate of Analysis

SIGMA-ALDRICH

Product Name	Oxonic acid potassium salt, 97%
Product Number	156124
Product Brand	ALDRICHa
CAS Number	2207-75-2
Molecular Formula	$C_4H_2KN_2O_4$
Molecular Weight	195.17

TEST	LOT S47216 RESULTS
QC Acceptance date	6-MAR-2008
APPEARANCE - COLOUR	WHITE
APPEARANCE - STATE	POWDER
ELEMENTAL ANALYSIS - CARBON	24.2%
ELEMENTAL ANALYSIS - NITROGEN	21.5%
IR SPECTROSCOPY - FTIR SPECTRUM	CONFORMS TO STRUCTURE



Claudia Mayer, Manager
Quality Control
Steinheim Germany



Lampiran 12. Setifikat Analisa Allopurinol

NANJING PHARMA CHEMICAL PLANT

CERTIFICATE OF ANALYSIS

NAME OF THE MATERIAL:ALLOPURINOL USP29/BP2005

Batch Number:20071103

Date of Mfg :25.NOV.,2007

Batch Quantity:1.5kgs

Date of Exp. :25.NOV.,2011

No	TESTS	SPECIFICATION	RESULTS
3.0	DESCRIPTION	A White or almost white powder	A white powder
4.0	SOLUBILITY	Very slightly soluble in water and alcohol Practically insoluble in Ether.It dissolves in dilute solutions of the alkali hydroxide.	Complies
3.0	IDENTIFICATION	As per USP	Complies
4.0	APPEARANCE OF SOLUTION	The solution is clear and not more intense Colored than reference solution Y6 or GY6	<Y6 and GY6
5.0	LOSS ON DRYING	Not more than 0.5%	0.11%
6.0	HEAVY METALS	Not more than 10ppm	Less than 10ppm
7.0	SULPHATED ASH	Not more than 0.1%	0.05%
8.0	RELATED SUBSTANCES BY TLC	As per USP	<0.3%
9.0	RELATED SUBSTANCES BY HPLC	Impurity A not more than 0.2%	0.05%
		Impurity B&C not more than 0.2%	0.12%
		Impurity D or E not more than 0.1%	Not detected
		Individual unknown impurity not more than 0.1%	0.05%
		Total unknown impurities not more than 0.3%	0.22%
10.0	Assay	98.0%-101.0%On dried basis	99.85%
11.0	PARTICLE SIZE	95% < 50 um	Complies
12.0	DENSITY OF SLOP	0.3 +/- 0.05 g/ml	Complies
13.0	DENSITY OF STAMPED	0.40 +/- 0.05 g/ml	Complies
14.0	Residual solvents	Ethanol NMT 1000ppm	Complies
		Other solvent NMT200ppm	Complies
	Organic volatile impurite	Conform with USP26	Complies
	Total bacteria	NMT 1000cfu/g	Complies

REMARKS:The Product confirms to USP29/BP2005 Specification with respect to above tests

Supervisor: xiu la

Checker: lin wen wen

Analyst:li



Lampiran 13. Sertifikat analisa Streptozotocin

Certificate Of Analysis

<http://www.sigmaaldrich.com/catalog/CertOfAnalysisPage.do?symbol=S...>

Certificate of Analysis

SIGMA-ALDRICH

Product Name Streptozotocin,
 ≥75% α-anomer basis, ≥98% (HPLC), powder
Product Number S0130
Product Brand SIGMA
CAS Number 18883-66-4
Molecular Formula C₈H₁₅N₃O₇
Molecular Weight 265.22

TEST	SPECIFICATION	LOT 119k1591 RESULTS
Appearance (Color)	White to Light Yellow	Off-White
Appearance (Form)	Powder	Powder
Solubility (Color)	Yellow	Yellow
Solubility (Turbidity)	Clear	Clear
Proton NMR spectrum	at 50 mg/mL of H ₂ O Conforms to Structure	Conforms
¹³C NMR Spectrum	Conforms to Structure	Conforms
Water (by Karl Fischer)	≤3.0 %	0.6 %
Carbon (anhydrous)	35.9 - 36.6 %	36.6 %
Nitrogen (anhydrous)	15.6 - 16.2 %	15.7 %
% Purity (HPLC)	≥98	99
Purity (HPLC)	≥75 % Alpha Anomer by HPLC	91 %

Recommended Retest Period

2 YEARS

Specification Date:

NOV 2009

Date of QC Release:

NOV 2009

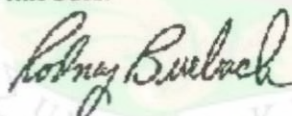
Recommended Retest Date:

NOV 2011

Date:

DEC 01 2009

Print Date:



Rodney Burdach, Manager
 Quality Control
 St. Louis, Missouri USA

Lampiran 14. Hasil statistik asam urat uji pendahuluan

a. Uji distribusi Normal

		Asam urat
N		180
Normal Parameters ^a	Mean	2.2574
	Std. Deviation	.90415
Most Extreme Differences	Absolute	.059
	Positive	.050
	Negative	-.059
Kolmogorov-Smirnov Z		.787
Asymp. Sig. (2-tailed)		.566

Kesimpulan : data rata-rata asam urat selama 14 hari terdistribusi normal ($P > 0.01$)

b. Anova

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: asam urat

Source	Type III Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	86.138 ^a	35	2.461	5.888	.000
Intercept	917.245	1	917.245	2.194E3	.000
Perlakuan	77.756	11	7.069	16.911	.000
Waktu	.923	2	.462	1.104	.334
Perlakuan * waktu	7.459	22	.339	.811	.708
Error	60.191	144	.418		
Total	1063.574	180			
Corrected Total	146.329	179			

a. R Squared = .589 (Adjusted R Squared = .489)

c. Tukey

Asam Urat

Tukey HSD

Perlakuan	N	Subset				
		1	2	3	4	5
kontrol normal	15	.7393				
pembanding (alopurinol)	15	1.2020	1.2020			
etanol dosis 5 mg	15		1.9327	1.9327		
etil asetat dosis 5 mg	15			2.1933	2.1933	
etanol dosis 2.5 mg	15			2.2753	2.2753	2.2753
etanol dosis 10 mg	15			2.3767	2.3767	2.3767
etil asetat dosis 10 mg	15			2.4607	2.4607	2.4607
n-heksan dosis 2.5	15			2.5347	2.5347	2.5347
etil asetat dosis 2.5 mg	15			2.6327	2.6327	2.6327
n-heksan dosis 10 mg	15			2.6833	2.6833	2.6833
n-heksan dosis 5 mg	15				2.9580	2.9580
negatif (kalium oxonat)	15					3.1000
Sig.		.719	.094	.075	.063	.030



Lampiran 15. Hasil statistik asam urat uji lanjutan

a. Uji distribusi normal

		Asam_Urat
N		200
Normal Parameters ^a	Mean	1.8939
	Std. Deviation	.59525
Most Extreme Differences	Absolute	.061
	Positive	.061
	Negative	-.047
Kolmogorov-Smirnov Z		.862
Asymp. Sig. (2-tailed)		.447

b. Anova

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Asam_Urat

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	42.567 ^a	39	1.091	6.250	.000
Intercept	717.406	1	717.406	4.108E3	.000
Perlakuan	3.352	1	3.352	19.192	.000
Dosis	7.757	4	1.939	11.104	.000
Waktu	25.467	3	8.489	48.608	.000
Perlakuan * Dosis	1.179	4	.295	1.687	.155
Perlakuan * Waktu	1.620	3	.540	3.093	.029
Dosis * Waktu	2.354	12	.196	1.123	.345
Perlakuan * Dosis * Waktu	.838	12	.070	.400	.962
Error	27.943	160	.175		
Total	787.916	200			
Corrected Total	70.510	199			

a. R Squared = .604 (Adjusted R Squared = .507)

c. Tukey (perlakuan)

Asam_Urat

Tukey HSD

Dosis	N	Subset		
		1	2	3
Pembanding	40	1.6332		
Dosis 2	40	1.8225	1.8225	
Dosis 1	40	1.8463	1.8463	
Dosis 3	40		1.9315	
Kontrol Positif	40			2.2363
Sig.		.157	.770	1.000

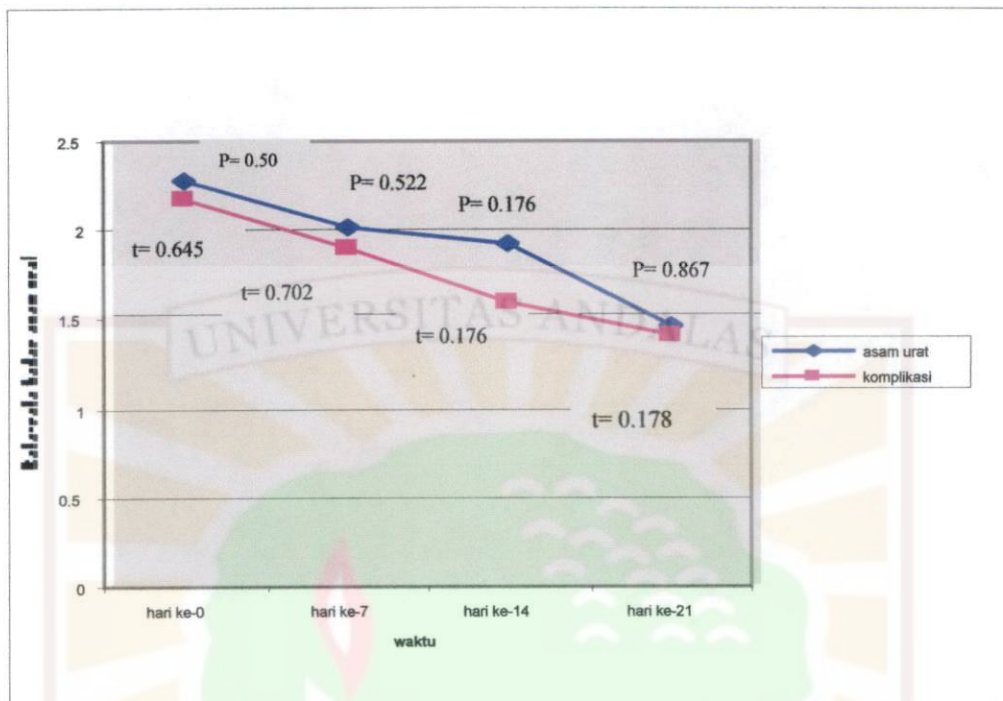
d. Tukey (waktu)

Asam_Urat

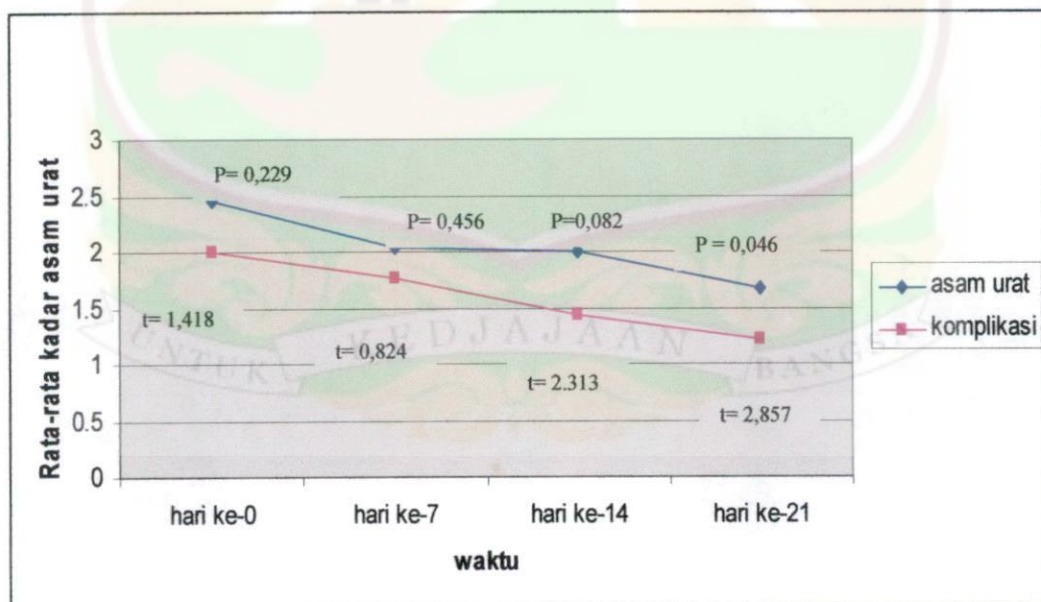
Tukey HSD

Waktu	N	Subset			
		1	2	3	4
Hari ke-21	50	1.4336			
Hari ke-14	50		1.6952		
Hari ke-7	50			2.0808	
Hari ke-0	50				2.3662
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000

Lampiran 16. Grafik penurunan rata-rata kadar asam urat uji lanjutan dengan uji T test.

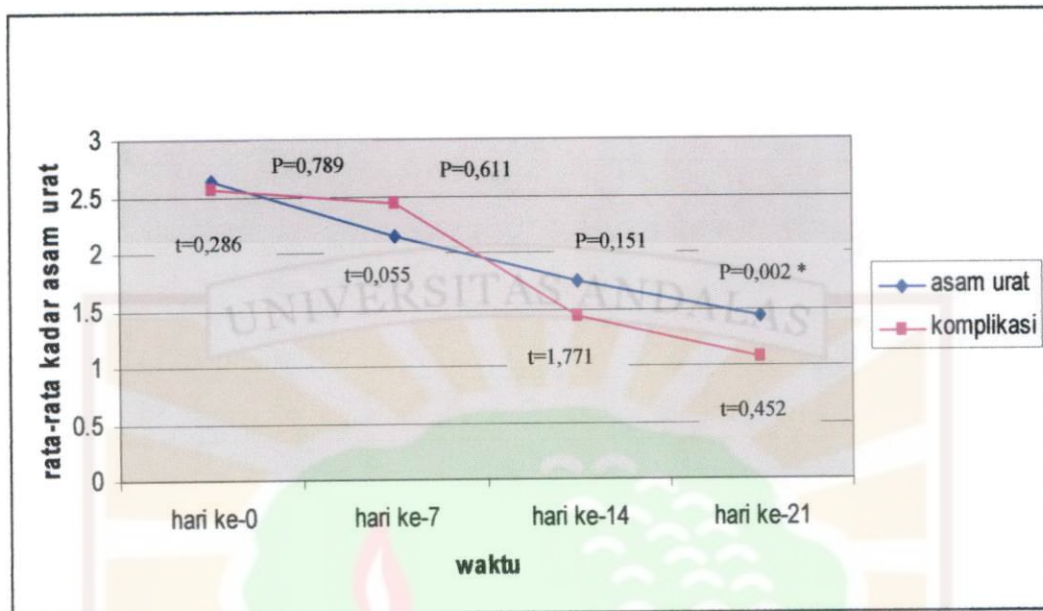


Gambar 19. Grafik penurunan rata-rata kadar asam urat darah akibat pemberian fraksi ekstrak etanol daun kembang sungeang dosis 40 mg/kg BB dalam keadaan hiperurisemia dan hiperurisemia diabetes.

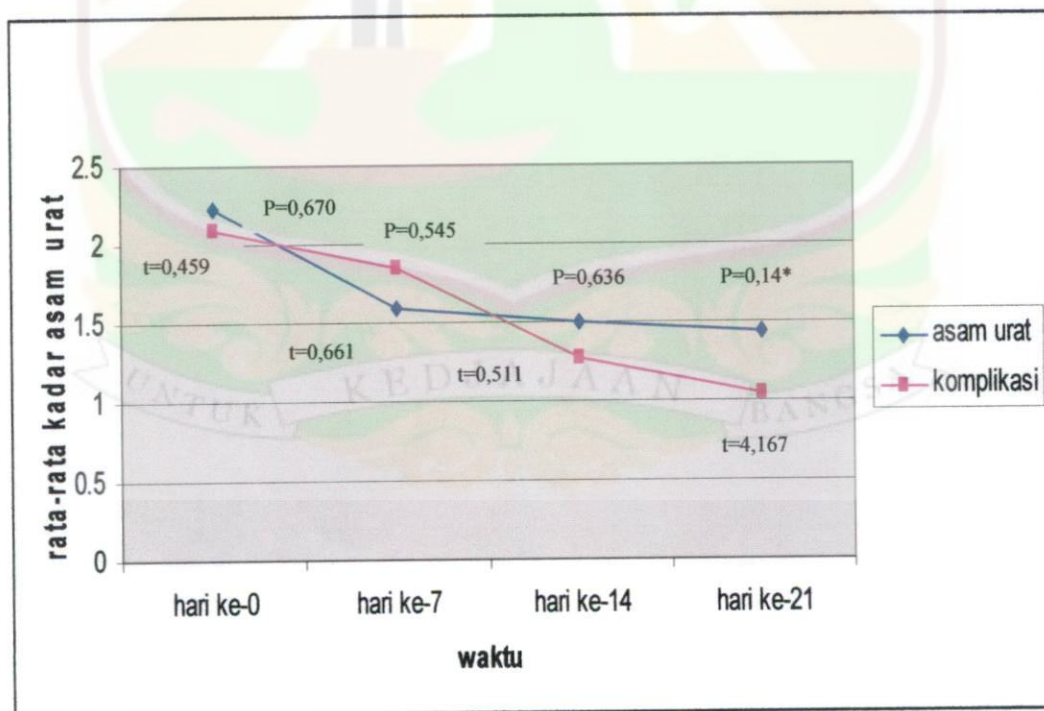


Gambar 20. Grafik penurunan rata-rata kadar asam urat darah akibat pemberian fraksi ekstrak etanol daun kembang sungeang dosis 30 mg/kg BB dalam keadaan hiperurisemia dan hiperurisemia diabetes.

Lampiran 16. Lanjutan

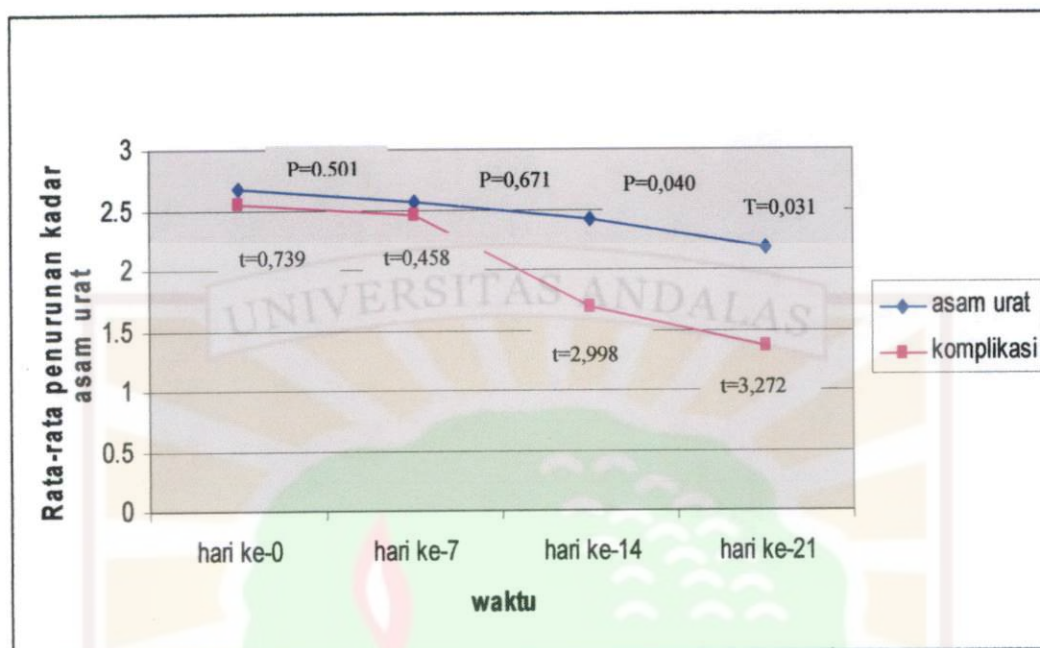


Gambar 21. Grafik penurunan rata-rata kadar asam urat darah akibat pemberian fraksi ekstrak etanol daun kembang sungeang dosis 20 mg/kg BB dalam keadaan hiperurisemia dan hiperurisemia diabetes.



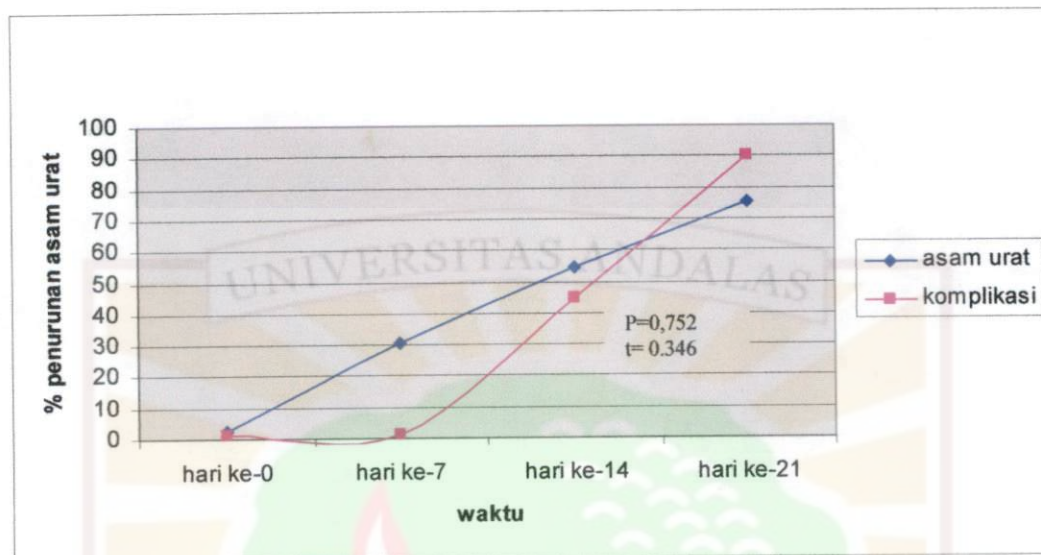
Gambar 22. Grafik penurunan rata-rata kadar asam urat darah tikus oleh alopurinol dalam keadaan hiperurisemia dan hiperurisemia diabetes.

Lampiran 16. Lanjutan

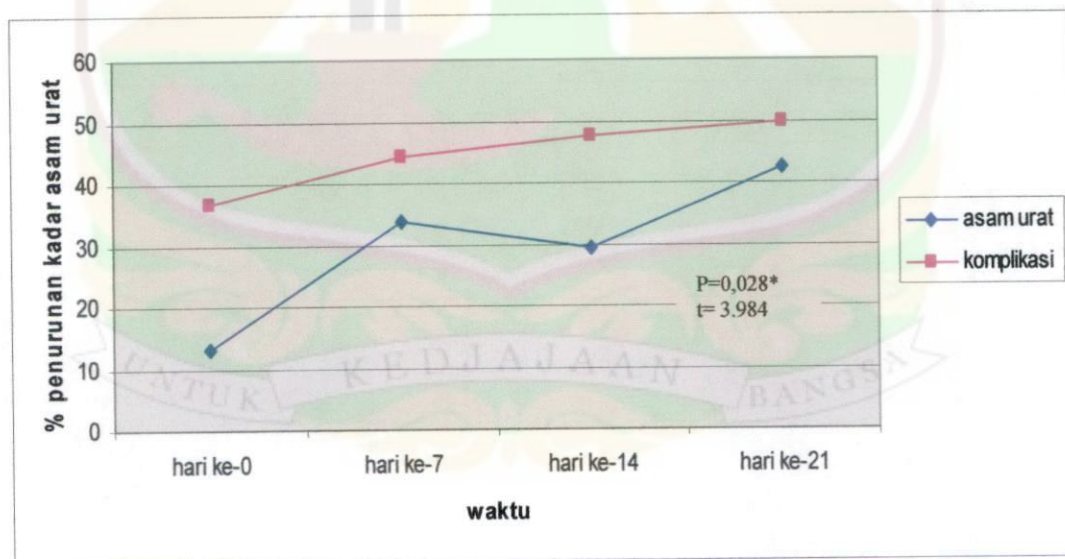


Gambar 23. Grafik penurunan rata-rata kadar asam urat darah tikus kelompok positif dalam keadaan hiperurisemia dan hiperurisemia diabetes.

Lampiran 17. Persentase penurunan kadar asam urat uji lanjutan dengan uji T test.

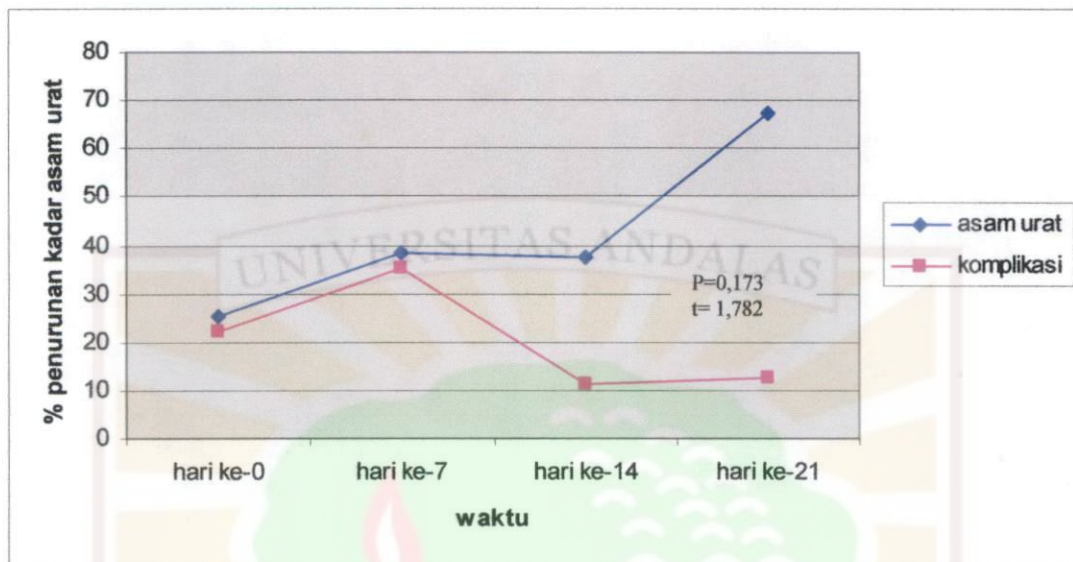


Gambar 24. Grafik persentase penurunan rata-rata kadar asam urat darah akibat pemberian fraksi ekstrak etanol daun kembang sungeang dosis 20 mg/kg BB dalam keadaan hiperurisemia dan hiperurisemia diabetes.

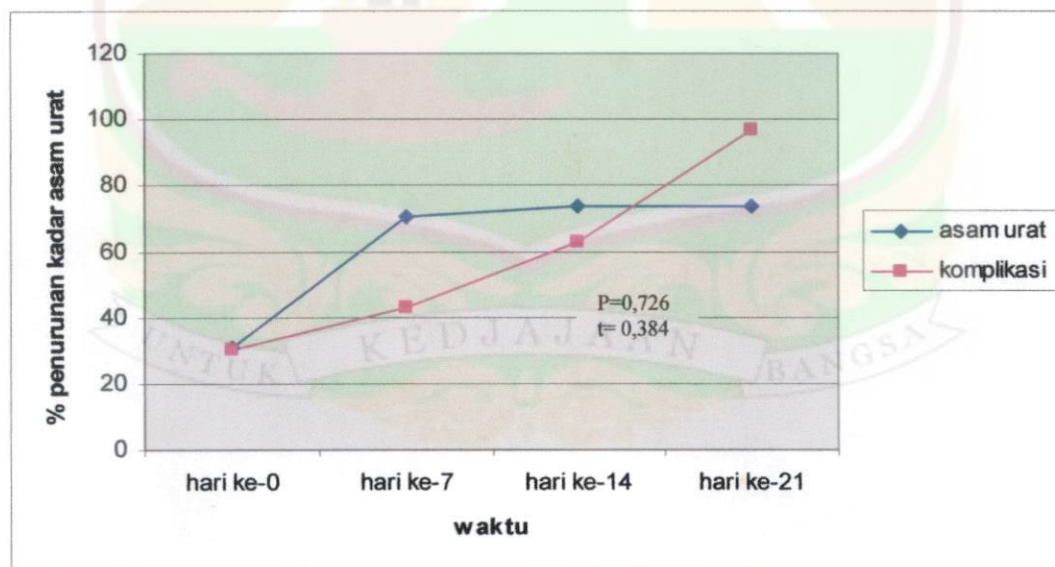


Gambar 25. Grafik persentase penurunan rata-rata kadar asam urat darah akibat pemberian fraksi ekstrak etanol daun kembang sungeang dosis 30 mg/kg BB dalam keadaan hiperurisemia dan hiperurisemia diabetes.

Lampiran 17. lanjutan



Gambar 26. Grafik persentase penurunan rata-rata kadar asam urat darah akibat pemberian fraksi ekstrak etanol daun kembang sunsang dosis 40 mg/kg BB dalam keadaan hiperurisemia dan hiperurisemia diabetes.



Gambar 27. Grafik persentase penurunan rata-rata kadar asam urat darah tikus oleh alopurinol dalam keadaan hiperurisemia dan hiperurisemia diabetes