

Antihyperuricemia Activity of the Ethyl Acetate Fraction of Bilimbi Leaves (*Averrhoa bilimbi*.L)

Fitra Fauziah¹, Ifora Ifora¹ dan Silvi Karlila Sari¹

¹ *Departement of Pharmacology and Clinical Pharmacy, School of Pharmaceutical Science (STIFARM) Padang, West Sumatera, Indonesia, 25136*

Reception date of the manuscript: 30 November 2020

Acceptance date of the manuscript: 4 Desember 2021

Publication date: 31 Desember 2021

Abstract— Hyperuricemia is a condition where there is an increase in uric acid levels above normal. An increase in the number of leukocytes is also a biological marker of hyperuricemia. The leaves of bilimbi (*Averrhoa bilimbi* L.) are one of the traditional medicinal plants which contain alkaloids, tannins, steroids, and flavonoid compounds. Flavonoid compounds are thought to inhibit the formation of uric acid in the body. This study investigates the antihyperuricemia activity of the ethyl acetate fraction of bilimbi leaves. The animals were male white mice grouped into six groups: the normal group, negative control, positive control (allopurinol), and the group was given the ethyl acetate fraction of bilimbi leaves at doses of 100, 200, and 400 mg/kg BW. Hyperuricemia induction is by giving high-purine diets and potassium oxonate. The results showed that the variation of the ethyl acetate fraction of bilimbi leaves significantly reduce uric acid levels and the number of leukocyte cells (sig <0.05). Giving ethyl acetate fraction at a dose of 400 mg/kg BW showed the best reduction in uric acid and leukocyte levels.

Keywords—*Averrhoa bilimbi*, ethyl acetate fraction, hyperuricemia, uric acid.

Abstrak— Hiperurisemia merupakan keadaan dimana terjadi peningkatan kadar asam urat di atas normal. Peningkatan jumlah sel leukosit juga merupakan penanda biologis pada hiperurisemia. Daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) merupakan salah satu tanaman obat tradisional yang mengandung senyawa alkaloid, tanin, steroid, dan flavonoid. Senyawa flavonoid diduga dapat menghambat terbentuknya asam urat dalam tubuh. Penelitian ini bertujuan untuk menelusuri pengaruh fraksi etil asetat daun belimbing wuluh terhadap kadar asam urat dan jumlah sel leukosit pada mencit hiperurisemia. Hewan uji adalah mencit putih jantan yang dikelompokkan atas 6 kelompok, yaitu kelompok normal, kontrol negatif, kontrol positif (allopurinol), dan kelompok yang diberi fraksi etil asetat daun belimbing wuluh dosis 100, 200, dan 400 mg/kgBB. Induksi hiperurisemia yaitu dengan pemberian makanan tinggi purin dan kalium oksonat. Hasil penelitian menunjukkan bahwa variasi dosis fraksi etil asetat daun belimbing wuluh dapat menurunkan kadar asam urat dan jumlah sel leukosit secara signifikan (sig <0,05). Pemberian fraksi etil asetat dosis 400 mg/kgBB menunjukkan penurunan kadar asam urat dan leukosit yang paling baik dibandingkan dosis lainnya.

Kata Kunci—asam urat, *Averrhoa bilimbi*, fraksi etil asetat, hiperurisemia

1. PENDAHULUAN

Hiperurisemia adalah suatu kelainan kadar asam urat yang tinggi dalam darah. Kadar asam urat normal adalah 2,4 – 6,0 mg/dL untuk wanita dan 3,4-7,0 mg/dL untuk pria (Neogi, 2011). Studi epidemiologi menunjukkan bahwa asam urat merupakan faktor risiko penyakit kardiovaskular, penyakit ginjal, dan penyakit lainnya, serta merupakan salah satu penanda proinflamasi (Prasad Qing, 2015; Susic Frohlich, 2015; Isaka et al., 2016; Sato et al., 2018). Penelitian menunjukkan bahwa terdapat hubungan yang signifikan antara kadar asam urat dalam darah dengan parameter hematologi seperti leukosit (Su et al., 2016). Dalam beberapa tahun

terakhir, prevalensi hiperurisemia telah meningkat. Saat ini sudah banyak obat yang digunakan dalam pengobatan klinis untuk menurunkan asam urat, namun terdapat banyak efek samping. Berbagai penelitian telah dilakukan untuk mengembangkan obat yang efektif menurunkan kadar asam urat dan minimal efek samping yang bersumber dari tumbuhan obat tradisional (Liang et al., 2018; Amir Purukan, 2018).

Salah satunya yaitu belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) dari keluarga Oxalidaceae. Beberapa penelitian menyatakan bahwa daun belimbing wuluh memiliki aktifitas anti-diabetes, antihiperkolesterolemia, antihipertensi, antimikroba, menurunkan demam, dan nyeri sendi (Ibrahim et al., 2014; Sovia Ratwita, 2015; Alhassam Ahmed, 2016; Abdillillah et al., 2018; Fauziah et al., 2018). Berdasarkan penelitian sebelumnya juga diketahui bahwa belimbing wuluh juga memiliki aktifitas antihiperurisemia. Fraksi etil asetat dari

Penulis koresponden: Fitra Fauziah, fitrafauziah@stifarm-padang.ac.id

TABEL 1: KADAR ASAM URAT DAN JUMLAH SEL LEUKOSIT SETELAH PEMBERIAN FRAKSI ETIL ASETAT DAUN BELIMBING WULUH (*Averrhoa bilimbi* L.)

Kelompok	Kadar Asam urat (mg/dL)	Jumlah Sel Leukosit
Normal	1,967 ± 0,0577 ^{ab}	5433,33 ± 500,833 ^a
Kontrol negatif	4,000 ± 0,4359 ^{ad}	17083,33 ± 689,807 ^{ae}
Kontrol Positif	1,033 ± 0,2082 ^a	6900,00 ± 589,491 ^b
Fraksi Etil Asetat Dosis 100 mg/kg BB	2,900 ± 0,2646 ^{ac}	13233,33 ± 652,559 ^{ad}
Fraksi Etil Asetat Dosis 200 mg/kg BB	1,333 ± 0,5132 ^a	10483,33 ± 1239,287 ^{ac}
Fraksi Etil Asetat Dosis 400 mg/kg BB	1,300 ± 0,1732 ^a	7600,00 ± 522,015 ^{ab}

ekstrak etanol daun belimbing wuluh menunjukkan aktifitas antihiperurisemia yang paling baik dibandingkan fraksi air dan fraksi n-heksan (Fauziah et al., 2020). Oleh karena itu, penelitian ini dilanjutkan untuk menelusuri aktifitas antihiperurisemia fraksi etil asetat daun belimbing wuluh dengan beberapa variasi dosis dengan parameter pengamatan kadar asam urat darah dan jumlah sel leukosit.

2. BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan adalah daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.), etanol 70% (Brataco), allopurinol 100 mg (PT Infarmind Farmasi Industri), makanan diet purin tinggi (MDPT) yaitu hati ayam, kalsium oksonat (Sigma Aldrich), natrium karboksil metil selulosa (Merck), etil asetat (Brataco), reagen asam urat (Diasys), asam etilendiamintetraasetat (PT Segara Husada Mandiri), dan larutan Turk (PT. Segara Husada Mandiri).

Alat yang digunakan adalah *rotary evaporator* (IKA), sentrifus (DKC 1008T), fotometer klinik *photometer* 5010 V5+ (Riele), dan hemocytometer (Asisstent).

Metode

Persiapan Sampel

Sampel yaitu daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) segar sebanyak 3 kg diambil di daerah Kurao Siteba, Kota Padang, Propinsi Sumatera Barat.

Identifikasi Tanaman

Identifikasi tanaman dilakukan di Herbarium ANDA, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Andalas.

Pembuatan Simplisia, Ekstraksi dan Fraksinasi

Daun belimbing wuluh segar yang telah dikumpulkan, disortasi basah, dicuci, dirajang, dikeringanginkan, disortasi kering, dan dibuat serbuk simplisia. Simplisia dimaserasi dengan pelarut etanol 70%. Simplisia direndam selama 6 jam pertama sambil sekali-kali diaduk, kemudian diamkan selama 18 jam dan disaring. Maserat diuapkan dengan *rotary evaporator* sehingga diperoleh ekstrak kental. Ekstrak kental difraksinasi dengan n-heksan dan air (1:1). Lapisan air difraksinasi kembali dengan ditambahkan etil asetat (1:1). Fraksi etil asetat diuapkan pelarutnya dengan *rotary evaporator* dan didapatkan fraksi etil asetat kental.

Uji Kandungan Fitokimia Fraksi

Uji kandungan fitokimia dilakukan pada fraksi etil asetat yang meliputi uji flavonoid, alkaloid, tanin, saponin, fenol,

triterpenoid, dan steroid (Harborne, 1987; Evans, 2009; Hanani, 2017).

Persiapan Hewan Uji

Hewan uji berupa mencit putih jantan berusia 2-3 bulan dengan berat 20-30 gram sebanyak 24 ekor. Sebelum digunakan, hewan diaklimatisasi selama 7 hari. Keseluruhan prosedur penelitian yang dilakukan dengan melibatkan hewan uji sudah lolos kajian etika berdasarkan Surat Keputusan Komite Etika Penelitian Fakultas Kedokteran Universitas Andalas No. 462/KEP/FK/2018. Pengelompokan hewan secara acak menjadi 6 kelompok yaitu kelompok hewan normal (suspensi Na CMC 0,5%), kontrol negatif, kontrol positif (Allopurinol 13 mg/kg BB), fraksi dosis 100, 200, dan 400 mg/kg BB.

Uji Aktifitas Antihiperurisemia

Hewan diinduksi dengan pemberian MDPT selama 14 hari. Kemudian hewan diberi sediaan fraksi selama 14 hari. Setelah 14 hari dilakukan pengukuran kadar asam urat. Dua jam sebelum pengambilan darah, hewan disuntik dengan kalsium oksonat 250 mg/kgBB secara intraperitoneal. Pada proses pengambilan darah, hewan dianestesi dengan eter dan darah diambil melalui sinus orbital mata. Darah disentrifus dengan kecepatan 3000 rpm selama 15 menit. Kadar asam urat dalam darah diukur dengan fotometer klinik. Jumlah sel leukosit dihitung dengan *haemocytometer*.

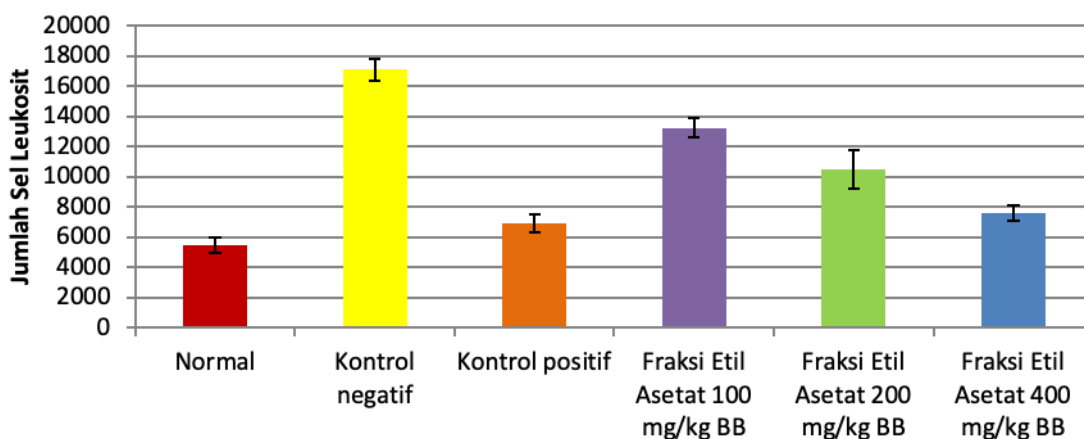
Analisis Statistika

Data yang diperoleh ditampilkan dalam bentuk rata-rata ± SD (n=4). Analisis statistika dengan metode Analisis variansi satu arah yang dilanjutkan dengan uji lanjut Duncan dilakukan dengan menggunakan program aplikasi komputer SPSS 22.

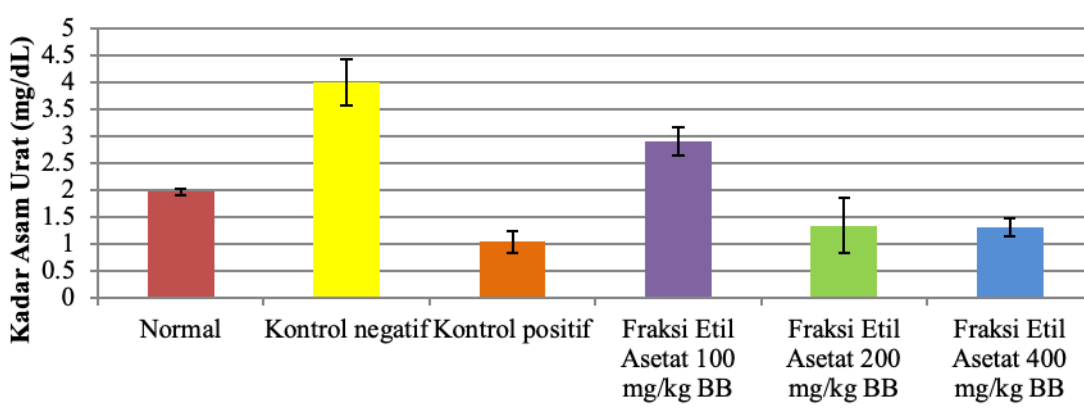
3. HASIL

Belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) merupakan salah satu obat tradisional yang memiliki banyak aktifitas farmakologi. Ekstraksi dilakukan dengan cara maserasi. Daun belimbing wuluh segar sebanyak 3 kg disortasi basah, dicuci, dirajang, dikeringanginkan, disortasi kering, dan dibuat serbuk simplisia (350 g). Simplisia sebanyak 300 g dimaserasi dengan etanol 70%. Maserat yang diperoleh diuapkan dengan *rotary evaporator* sehingga didapatkan ekstrak kental sebanyak 95,2 g. Ekstrak sebanyak 60 g difraksinasi dengan pelarut n-heksan, air, dan etil asetat. Fraksi etil asetat diperoleh sebanyak 4,873 g. Uji fitokimia dari fraksi etil asetat menunjukkan kandungan flavonoid, alkaloid, tanin, fenolik, dan steroid.

Uji aktifitas antihiperurisemia dilakukan setelah 14 hari pemberian fraksi etil asetat. Pemeriksaan kadar asam urat di-



Gambar. 1: Kadar Asam Urat Setelah Pemberian Fraksi Etil Asetat Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.)



Gambar. 2: Kadar Asam Urat Setelah Pemberian Fraksi Etil Asetat Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.)

lakukan dengan metode enzimatis dimana pengukuran dilakukan dengan fotometer klinik. Jumlah sel leukosit dihitung dengan *haemocytometer*. Hasil pemeriksaan kadar asam urat dalam darah dan jumlah sel leukosit setelah pemberian fraksi etil asetat daun belimbing wuluh pada mencit putih jantan yang diberikan tersebut dapat dilihat pada tabel 1.

4. PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil tersebut, pemberian variasi dosis fraksi etil asetat daun belimbing wuluh mempengaruhi penurunan kadar asam urat dalam darah mencit putih jantan (sig <0,05). Fraksi dosis 200 dan 400 mg/kg BB menunjukkan penurunan kadar asam urat yang sebanding dengan pemberian allopurinol seperti terlihat pada gambar 1. Allopurinol merupakan obat yang umum digunakan untuk terapi hiperurisemia. Allopurinol bekerja menghambat enzim xantin oksidase sehingga dapat menurunkan kadar asam urat dalam darah. Penurunan kadar asam urat yang ditunjukkan oleh fraksi ini diasumsikan berkaitan dengan adanya kandungan senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam fraksi etil asetat daun belimbing wuluh ini. Senyawa golongan flavonoid yang juga terkandung pada fraksi ini memiliki sifat antioksidan yang berperan dalam menghambat enzim xantin oksidase (Andrina et al., 2019).

Parameter lain yang diamati yaitu jumlah sel leukosit. Berdasarkan penelitian diketahui bahwa peningkatan sintesis

asam nukleat yang terjadi sebagai respon eritropoietik terhadap hemolisis juga merupakan salah satu penyebab hiperurisemia (Kumkhaek et al., 2014). Berdasarkan studi lebih lanjut diketahui bahwa terdapat hubungan yang signifikan antara kadar asam urat dengan jumlah sel leukosit. Kondisi hiperurisemia disertai dengan peningkatan jumlah sel leukosit, sehingga jumlah sel leukosit juga bisa menjadi salah satu penanda biologis kondisi hiperurisemia (Su et al., 2016).

Berdasarkan hasil pemeriksaan jumlah sel leukosit diperoleh bahwa pemberian variasi dosis fraksi etil asetat daun belimbing wuluh yang diberikan pada mencit putih jantan mempengaruhi penurunan jumlah sel leukosit (sig <0,05). Fraksi dosis 400 mg/kg BB menunjukkan penurunan jumlah sel leukosit yang mendekati penurunan jumlah sel leukosit oleh allopurinol seperti yang terlihat pada gambar 2. Penurunan jumlah sel leukosit ini diasumsikan juga berkaitan dengan kandungan senyawa flavonoid pada fraksi etil asetat daun belimbing wuluh ini. Senyawa flavonoid diketahui dapat menurunkan jumlah sel leukosit (Nijveldt et al., 2001).

5. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa fraksi etil asetat daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) memiliki aktifitas antihiperurisemia. Fraksi ini dapat menurunkan kadar asam urat dalam darah dan jumlah sel leukosit pada mencit putih jantan. Pemberian fraksi etil asetat do-

sis 400 mg/kgBB menunjukkan penurunan kadar asam urat dan jumlah sel leukosit yang paling baik dibandingkan dosis lainnya.

6. UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terimakasih disampaikan kepada Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Padang yang telah mendukung pelaksanaan penelitian dan publikasi hasil penelitian ini.

7. DAFTAR PUSTAKA

- Abdillah, R., Fauziah, F., Sari, A.T. (2018). Aktivitas Fraksi Air Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) Terhadap Kadar Glukosa Darah Mencit Putih Jantan. Prosiding Kongres XX Pertemuan Ilmiah Tahunan Ikatan Apoteker Indonesia, 18-21 April 2018, 550-554.
- Alhassan, A. M., Ahmed, Q. U. (2016). *Averrhoa bilimbi* Linn: A Review of its Ethnomedicinal Uses, Phytochemistry, and Pharmacology. *Journal of Pharmacy Bioallied Sciences*, 8(4), 265–271.
- Amir, M., Purukan, J. I. A. (2018). Uji Efektifitas Ekstrak Etanol Buah Naga Putih (*Hylocereus undatus*) terhadap Penurunan Kadar Asam Urat Darah pada Mencit (*Mus musculus*). *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 16(2), 166-171.
- Andriana, Y., Xuan, T. D., Quy, T. N., Minh, T. N., Van, T. M., Viet, T. D. (2019). Antihyperuricemia, Antioxidant, and Antibacterial Activities of *Tridax procumbens* L. *Foods* (Basel, Switzerland), 8(1), 21.
- Evans, W.C. (2009). *Trease and Evans Pharmacognosy*. Harcourt Brace and Company, London.
- Fauziah, F., Uthia, R., Musdar, M. (2018). Pengaruh Ekstrak Etanol Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) Terhadap Kadar Kolesterol Total dan LDL pada Mencit Putih Jantan Hiperkolesterolemia. *Jurnal Farmasi Higea*, 10(2), 116-125.
- Fauziah, F., Witari, D., Kardela, W. (2020). Aktivitas Antihiperurisemia Fraksi Ekstrak Etanol Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) Pada Mencit Hiperurisemia. *Journal of Pharmacy and Science*, 4(2), 27-32.
- Hanani, E. (2017). Analisis Fitokimia. Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta.
- Harborne, J.B. (1987). *Metode Fitokimia : Penuntun Cara Menganalisis Tumbuhan*. Edisi 2. Diterjemahkan oleh K. Padmawinata dan I. Soediro. Penerbit Institut Teknologi Bandung, Bandung.
- Ibrahim, N., Yusriadi, Ihwan. (2014). Uji Efek Antipiretik Kombinasi Ekstrak Etanol Herba Sambiloto (*Andrographis paniculata* Burm.f Nees) dan Ekstrak Etanol Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) pada tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*). *Nature Science: Journal of Science and Technology*, 3(3), 257-268.
- Isaka, Y., Takabatake, Y., Takahashi, A., Saitoh, T., Yoshimori, T. (2016). Hyperuricemia-Induced Inflammation and Kidney Diseases. *Nephrology, Dialysis, Transplantation: Official Publication of The European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association*, 31(6), 890–896.
- Kumkhaek, C., Shriner, D., Doumatey, A. P., Rotimi, C. N., Rodgers, G. P. (2014). An Intergenic SNP in the γ -globin Gene Cluster Is Associated with Hyperuricemia and Influences Gene Transcription in Vitro. *Blood*, 124 (21), 1362.
- Liang, D., Yong, T., Chen, S., Xie, Y., Chen, D., Zhou, X., Li, D., Li, M., Su, L., Zuo, D. (2018). Hypouricemic Effect of 2,5-Dihydroxyacetophenone, a Computational Screened Bioactive Compound from *Ganoderma applanatum*, on Hyperuricemic Mice. *International journal of molecular sciences*, 19(5), 1394.
- Neogi, T. (2011). *Clinical Practice Gout*. *The New England Journal of Medicine*, 364(5), 443–452.
- Nijveldt, R. J., Nood, E. V., Hoorn, D. E. V., Boelens, P. G., Norren, K. V., Leeuwen, P. A. V. (2001). Flavonoids: a Review of Probable Mechanism of Action and Potential Application. *American Society for Clinical Nutrition*, 74, 418-425.
- Prasad Sah, O. S., Qing, Y. X. (2015). Associations Between Hyperuricemia and Chronic Kidney Disease: A Review. *Nephro-urology Monthly*, 7(3), e27233.
- Sato, V. H., Sunthong, B., Rinthong, P. O., Nuamnaichati, N., Mangmool, S., Chewchida, S., Sato, H. (2018). Pharmacological Effects of *Chatuphalatika* in Hyperuricemia of Gout. *Pharmaceutical Biology*, 56(1), 76–85.
- Sovia, E., Ratwita, W. (2015). Aktivitas Antidiabetes Ekstrak Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.). *Jurnal Farmasi Galenika*, 2(1), 15-21.
- Su, P., Hong, L., Zhao, Y., Sun, H., Li, L. (2016). The Association Between Hyperuricemia and Hematological Indicators in a Chinese Adult Population. *Medicine*, 95(7), e2822.
- Susic, D., Frohlich, E. D. (2015). Hyperuricemia: A Biomarker of Renal Hemodynamic Impairment. *Cardiorenal Medicine*, 5(3), 175–182.