

BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1. Penyiapan Bahan Uji

Pada penelitian ini tanaman uji yang digunakan adalah buah pare (*Momordica charantia* L). Buah pare didapat dari Perkebunan Kota Cianjur. Selanjutnya dilakukan determinasi untuk mengetahui kebenaran identitas dan karakteristik yang menunjukkan bahwa tanaman yang akan diuji khasiatnya adalah benar spesies *Momordica charantia* L. Determinasi buah pare dilakukan di Herbarium Bandungense, Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati ITB, Bandung. Hasil determinasi menyatakan bahwa tanaman yang digunakan adalah benar *Momordica charantia* L. Hasil determinasi dapat dilihat pada **Lampiran 1**.

Setelah itu dilakukan pengolahan buah pare melalui sortasi yang bertujuan untuk memisahkan buah dari kotoran-kotoran atau bahan-bahan asing lainnya sehingga tidak ikut terbawa dan tidak mempengaruhi kandungan kimia yang terdapat dalam simplisia. Selanjutnya buah pare dicuci dan dirajang kemudian dikeringkan dengan menggunakan lemari pengering tanpa terkena oleh sinar matahari langsung. Tujuan dari pengeringan ini adalah untuk mendapatkan buah pare yang kering sehingga tidak mudah ditumbuhi oleh mikroba. Setelah dikeringkan buah pare diblender untuk memperkecil ukuran simplisia dan memperbesar luas permukaannya untuk kontak dengan pelarut pada saat proses ekstraksi.

5.2. Penapisan Fitokimia

Penapisan fitokimia pada simplisia buah pare ini dimaksudkan untuk mengetahui senyawa-senyawa yang terkandung pada buah pare dan memastikan adanya kandungan senyawa yang diindikasikan sebagai senyawa yang berefek sebagai antihiperurisemia. Hasil penapisan fitokimia dapat dilihat pada **Tabel V.1**.

Tabel V.1. Hasil penapisan fitokimia simplisia dan ekstrak buah pare

Golongan Senyawa Kimia	Simplisia	Ekstrak
Alkaloid	+	+
Polifenolat	+	+
Flavonoid	+	+
Saponin	+	+
Kuinon	+	+
Tanin	-	-
Monoterpen dan Seskuitерpen	+	+
Triterpen dan Steroid	-	-

Keterangan : (+) terdeteksi

(-) tidak terdeteksi

Dari hasil penapisan fitokimia tersebut diketahui bahwa simplisia buah pare memiliki kandungan alkaloid, polifenol, flavonoid, saponin, kuinon, monoterpen, dan seskuitерpen. Hasil positif pada golongan senyawa alkaloid ditandai dengan timbulnya endapan merah bata pada simplisia dan ekstrak. Hasil positif pada polifenol ditandai dengan timbulnya endapan coklat. Hasil positif pada flavonoid ditandai dengan adanya pemisahan. Flavonoid yang terdapat di dalam buah pare diduga merupakan senyawa yang berkhasiat dalam pengobatan antihiperurisemia. Seperti menurut Mudrikah (2006), senyawa golongan flavonoid ini bekerja dengan cara menghambat enzim xantin oksidase sehingga pembentukan asam urat akan terhambat. Hasil positif pada saponin ditandai dengan terbentuknya busa setinggi 1 cm. Hasil positif pada kuinon ditandai dengan

timbulnya warna kuning. Sedangkan hasil positif pada monoterpen dan seskuiterpen ditandai dengan timbulnya warna-warna.

5.3. Pengukuran Kadar Air

Dari hasil pengukuran kadar air diketahui bahwa simplisia buah pare memiliki kadar air sebesar 8,5% (b/v). Nilai tersebut menunjukkan bahwa kadar air dalam simplisia buah pare memenuhi persyaratan yaitu dibawah 10%. Parameter kadar air simplisia ini merupakan hal yang penting karena air merupakan media yang baik untuk pertumbuhan mikroba sehingga kadar air dalam simplisia diusahakan serendah mungkin.

5.4. Pengukuran Kadar Abu

Pada pengukuran kadar abu, kadar abu total yang diperoleh tidak boleh memiliki nilai yang lebih dari 10%. Apabila kadar abu total tinggi, maka ekstrak yang dibuat dapat berbahaya karena kadar abu total menunjukkan jumlah logam-logam alkali dan logam-logam tanah serta silikat yang terkandung dalam simplisia. Dari hasil pengukuran kadar abu total diketahui bahwa simplisia buah pare memiliki kadar abu total sebesar 8,1%, nilai tersebut masih memenuhi persyaratan standar simplisia yang baik.

5.5. Pembuatan Ekstrak Buah Pare

Ekstrak buah pare dibuat dengan metode ekstraksi dingin yaitu maserasi. Simplisia buah pare sebanyak 800 g dimaserasi dengan etanol 70% v/v. Pemilihan

pelarut etanol 70% v/v karena flavonoid bersifat polar sehingga diharapkan akan lebih banyak tertarik oleh pelarut ini. Setelah didapat maserat, hasil maserat tersebut diuapkan dengan menggunakan *vacum rotary evaporator* kemudian diuapkan kembali diatas penangas air. Suhu penguapan yang digunakan tidak boleh lebih dari 50°C untuk mencegah rusaknya kandungan ekstrak karena flavonoid tidak terlalu tahan terhadap pemanasan yang tinggi. Tujuan dari proses penguapan ini adalah untuk menghilangkan pelarut yang tersisa pada saat proses ekstraksi. Hasil ekstrak yang didapat merupakan ekstrak kental sebanyak 123,625 g dengan rendemen ekstrak sebesar 15,45%.

5.6. Uji Aktivitas Antihiperurisemia Ekstrak Buah Pare Terhadap Mencit Jantan Galur Swiss Webster

Uji aktivitas antihiperurisemia dilakukan untuk mengetahui adanya efek dari ekstrak buah pare dalam menurunkan kadar hiperurisemia pada darah mencit jantan galur Swiss Webster. Pada penelitian ini hewan uji yang digunakan adalah mencit jantan galur Swiss Webster yang berumur lebih kurang 3 bulan dengan bobot antara 25-40 g sebanyak 30 ekor. Pemilihan hewan uji mencit jantan didasarkan pada keberadaan hormon estrogen pada mencit betina yang dapat mengganggu proses pengukuran kadar asam urat karena fungsi estrogen yang juga dapat membantu proses ekskresi asam urat dari dalam tubuh. Sehingga yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit jantan. Sebelum digunakan, hewan uji ini sudah diaklimatisasi selama 14 hari. Tujuannya adalah untuk menyesuaikan mencit dengan lingkungan baru dan untuk mengurangi stress. Selama proses

aklimatisasi, dilakukan pengamatan keadaan umum dan penimbangan berat badan untuk memilih mencit yang sehat yang selanjutnya akan digunakan dalam penelitian.

Penurunan kadar asam urat oleh ekstrak buah pare dibandingkan terhadap kontrol pembanding allopurinol. Allopurinol dipilih sebagai pembanding karena merupakan obat sintetik yang umum digunakan oleh penderita hiperurisemia untuk menurunkan kadar asam uratnya. Allopurinol dapat menurunkan kadar asam urat di dalam darah melalui mekanisme kerja urikostatik yaitu menghambat pembentukan asam urat, sehingga asam urat yang dihasilkan dapat berkurang.

Bahan penginduksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah kalium oksonat, karena kalium oksonat ini merupakan penghambat urikase yang poten dan memiliki waktu bersihan yang singkat. Urikase merupakan enzim yang berperan dalam konversi asam urat menjadi allantoin yang mudah larut dalam air sehingga lebih mudah diekskresikan. Penghambatan enzim urikase ini dapat menyebabkan akumulasi asam urat di dalam darah dan membuat kondisi hiperurisemia pada hewan uji. Selain itu dilakukan juga orientasi penginduksi kalium oksonat dalam penelitian ini untuk mengetahui pada dosis berapa kalium oksonat dapat menyebabkan hiperurisemia pada hewan uji mencit. Dosis yang digunakan pada orientasi penginduksi adalah 10,5 mg/20 g bb mencit, setengah kali lebih tinggi dari hasilnya literatur (Osada *et al.*, 1993:183-188) yang menyebutkan bahwa pada dosis 250 mg/kg bb tikus kalium oksonat dapat menaikkan kadar asam urat di dalam darah tikus.

Pengukuran kadar asam urat hewan uji mencit dalam penelitian ini menggunakan alat pengukur asam urat yang bernama *Blood Uric Acid Meter*. Darah mencit diambil dengan cara melukai bagian ujung ekor mencit dengan *cutter* dan darahnya diteteskan pada test strip asam urat kemudian dalam waktu 6 detik kadar asam urat akan terlihat pada layar. Nilai yang tercantum dilayar menunjukkan kadar asam urat darah dalam satuan mg/dl. Pemilihan metode pengukuran kadar asam urat dengan test strip ini yaitu karena hasil dari pengukuran dapat diketahui dengan segera. Selain itu sampel darah yang dibutuhkan juga tidak banyak.

Dalam penelitian ini mencit dikelompokkan menjadi 6 kelompok yaitu kelompok kontrol negatif, kelompok kontrol positif, kelompok pembanding dan 3 kelompok variasi dosis, dimana setiap kelompok terdiri dari 5 ekor mencit. Pada hari pertama perlakuan sebelum diberi sediaan, semua kelompok hewan uji dilakukan pengukuran kadar asam urat awal (t_0) dengan tujuan untuk mengetahui kadar asam urat mencit sebelum diberikan perlakuan apapun. Setiap pengukuran darah t_0 mencit dipuasakan terlebih dahulu selama lebih kurang 18 jam, tujuannya agar pengukuran tidak terganggu oleh adanya pengaruh pakan.

Pada kelompok kontrol positif dan kontrol negatif pada hari ke-1 sampai hari ke-7 mencit hanya diberi suspensi CMC Na 0,5%. Pemberian CMC Na 0,5% ini bertujuan agar perlakuan yang diberikan kepada semua kelompok sama. Sedangkan pada kelompok kontrol pembanding selama 7 hari itu diberikan obat pembanding allopurinol. Pada kelompok variasi dosis I, II dan III diberikan sediaan ekstrak buah pare sesuai dosis yang telah ditentukan untuk masing-masing

kelompok yaitu dosis I sebesar 6 mg/20 g bb, dosis II sebesar 12mg/20 g bb dan dosis III sebesar 24 mg/20 g bb. Pemakaian dosis tersebut didasarkan pada dosis buah pare yang berkhasiat sebagai antihiperurisemia secara empiris (Dalimartha, 2013) yang telah dikonversikan sehingga didapat dosis ekstrak buah pare. Data rata-rata kadar asam urat untuk setiap kelompok setelah pengujian dapat dilihat pada **Tabel V.2.**

Tabel V.2. Rata-rata kadar asam urat mencit

Kelompok	Rata-rata Kadar Asam Urat (mg/dl) ± SD			
	t0	t1	t2	t3
Kontrol Negatif	2,62 ± 0,19	2,45 ± 0,10	2,32 ± 0,21	2,47 ± 0,39*
Kontrol Positif	3,33 ± 1,47	2,60 ± 0,08	5,22 ± 0,71*	4,47 ± 1,18
Pembanding	3,07 ± 0,39	2,05 ± 0,06	3,27 ± 0,33	2,40 ± 0,45*
Uji I	2,70 ± 0,23	2,05 ± 0,06	4,47 ± 1,07*	3,72 ± 0,95
Uji II	2,72 ± 0,39	2,10 ± 0,14	3,77 ± 1,52	3,22 ± 1,41*
Uji III	2,95 ± 0,41	2,15 ± 0,23	3,70 ± 0,96	2,77 ± 0,45*

Keterangan :

- t0 = kadar asam urat awal hari ke-1 sebelum diberi sediaan
- t1 = kadar asam urat awal hari ke-8 sebelum diberi induksi
- t2 = kadar asam urat setelah diinduksi
- t3 = kadar asam urat setelah diberi sediaan
- t2* = berbeda secara signifikansi terhadap kontrol negatif.
- t3* = berbeda secara signifikansi terhadap kontrol positif.

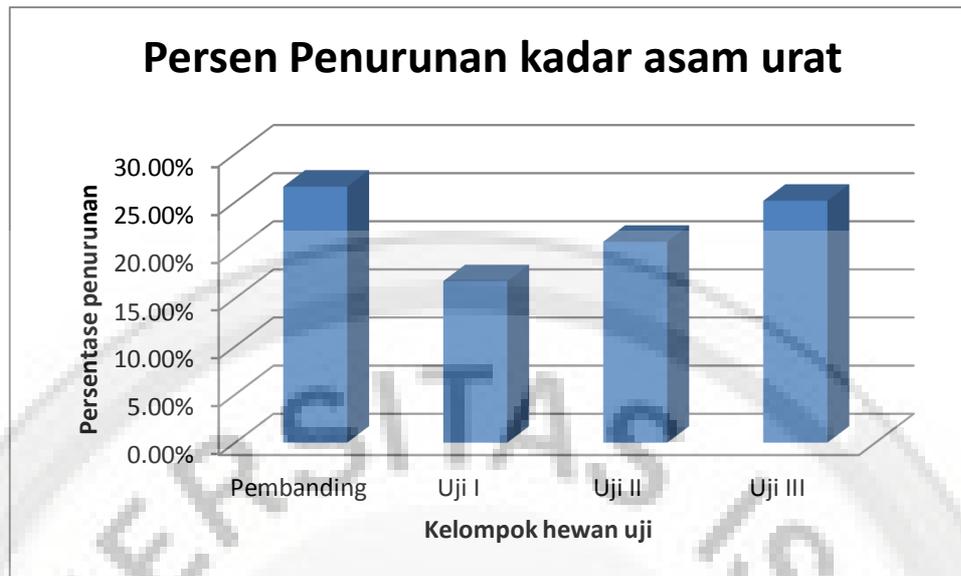
Tabel diatas menunjukkan rata-rata hasil pengukuran kadar asam urat pada saat sebelum perlakuan (t0), sebelum induksi (t1), setelah induksi (t2) dan setelah diberi sediaan (t3). Hasil pengukuran t0 pada semua kelompok perlakuan tidak mengalami hiperurisemia karena rata-rata kadar asam uratnya masih berada dalam rentang batas normal.

Pada pengukuran sebelum induksi (t1) terlihat adanya penurunan kadar asam urat pada kelompok uji I, II, III dan pembanding. Pada kelompok tersebut diberikan ekstrak buahpare untuk kelompok uji dan allopurinol untuk kelompok pembanding selama 7 hari. Oleh karena itu, pada pengukuran t1 yang dilakukan pada hari ke-8 kadar asam urat mencit kelompok uji dan pembanding mengalami

penurunan akibat efek dari pemberian ekstrak buah pare dan allopurinol sebelumnya. Pada kelompok kontrol negatif dan kelompok kontrol positif terlihat ada sedikit penurunan walaupun seharusnya tidak ada penurunan, karena pada kelompok ini tidak diberi sediaan uji hanya diberi CMC Na 0,5%. Penurunan ini bisa dipengaruhi oleh kondisi fisiologis mencit itu sendiri.

Hasil pengukuran t₂ yang dilakukan setelah induksi dapat terlihat adanya peningkatan kadar asam urat pada kelompok kontrol positif, pembanding dan kelompok uji akibat dari pemberian kalium oksonat. Kenaikkan kadar asam urat tertinggi terjadi pada kelompok kontrol positif dengan persentase kenaikan kadar asam uratnya sebesar 100%. Selanjutnya kenaikan tertinggi setelah kelompok kontrol positif berturut-turut adalah kelompok uji I sebesar 98,67%, kelompok uji II sebesar 79,52%, kelompok uji III sebesar 72,09% dan kontrol pembanding sebesar 59,51%.

Selanjutnya dilakukan juga pengukuran t₃ setelah pemberian sediaan yang bertujuan untuk melihat adanya penurunan kadar asam urat setelah induksi pada setiap kelompok. Berdasarkan Tabel V.2. dapat terlihat bahwa kadar asam urat untuk setiap kelompok mengalami penurunan tetapi kelompok kontrol positifnya mengalami sedikit penurunan. Hal tersebut dapat disebabkan oleh kondisi fisiologis tubuh mencit dalam mensekresi kalium oksonat. Grafik persentase penurunan kadar asam urat dapat dilihat pada **Gambar V.1.**



Gambar V.1. Grafik Persentase Penurunan Kadar Asam Urat

Persentase penurunan kadar asam urat tertinggi terjadi pada kelompok uji III yaitu sebesar 25,13% yang menunjukkan bahwa kelompok ini memiliki efek paling baik dalam menurunkan kadar asam urat. Sedangkan kelompok uji II dan uji I penurunannya sebesar 20,88% dan 16,78%. Namun apabila dibandingkan dengan kelompok pembanding yang diberi allopurinol, kelompok uji III belum melebihi rata-rata penurunan kadar asam urat menciit yang diberi allopurinol yaitu sebesar 26,60%. Sedangkan pada kelompok kontrol negatif dan kelompok kontrol positifnya mengalami sedikit penurunan karena pada kedua kelompok tersebut hanya diberi CMC Na 0,5%.

Untuk menganalisis secara statistik, data diolah dengan menggunakan semua data tiap kelompok dan tiap waktu. Semua data kadar asam urat dapat dilihat pada **Lampiran 2**. Semua data tersebut sebelumnya diuji dengan metode *Shapiro-Wilk* untuk melihat apakah data setiap kelompok terdistribusi normal atau tidak

dan juga dilakukan uji homogenitas. Hasil dari uji normalitas ini menunjukkan bahwa data kadar asam urat pada setiap kelompok terdistribusi normal dan hasil uji homogenitaspun menunjukkan bahwa data kadar asam urat berdistribusi secara homogen. Hasil uji normalitas dan homogenitas dapat dilihat pada **Lampiran 5 dan 6**. Karena menurut statistik data tersebut terdistribusi secara normal dan homogen maka dapat dilakukan uji analisis varian satu arah atau ANOVA. Uji ANOVA bertujuan untuk mengetahui adanya perbedaan kadar asam urat antar kelompok perlakuan. Kemudian dilanjutkan dengan Uji LSD untuk melihat adanya perbedaan kelompok uji bermakna. Hasil dari uji ANOVA serta LSD dapat dilihat pada **Lampiran 7 dan 8**.

Hasil uji ANOVA menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan pada t sebelum induksi (t1), t setelah induksi (t2), dan t setelah pemberian sediaan (t3) dengan nilai signifikansinya adalah $p < 0,05$. Hal ini menunjukkan bahwa adanya perbedaan yang bermakna antar kelompok. Kemudian data yang menunjukkan perbedaan signifikansi tersebut dilakukan uji lanjut dengan statistik analisis *post hoc* tipe LSD. Untuk t setelah induksi dari hasil uji ANOVA diketahui bahwa penurunan kadar asam urat antar kelompok signifikan dengan nilai $p = 0,008$. Hasil LSDnya dapat dilihat pada **Tabel V.3**.

Tabel V.3. Hasil statistik kenaikan kadar asam urat terhadap kontrol negatif

Dependent Variable	(i) kelompok	(j) kelompok	Sig.
t setelah induksi (t2)	Kontrol negatif	Kontrol positif	.000*
		Pembanding	.207
		Uji I	.005*
		Uji II	.052
		Uji III	.065

Keterangan : * = nilai signifikansi $< 0,05$

Pada uji LSD terlihat adanya perbedaan bermakna antara kelompok kontrol positif, dan kelompok uji I terhadap kelompok kontrol negatif. Artinya kelompok yang hanya diinduksi dengan kalium oksonat memiliki kadar asam urat yang berbeda jauh dengan kadar asam urat kelompok yang tidak diinduksi dengan kalium oksonat. Pada kelompok uji I terlihat pula adanya perbedaan yang signifikan, hal tersebut dikarenakan dosis sediaan yang rendah sehingga tidak dapat bekerja untuk menghambat induksi yang diberikan. Sedangkan pada kelompok pembanding, uji II dan uji III tidak ada nilai yang signifikan. Hal tersebut dapat terjadi karena adanya efek kerja obat yang sebelumnya telah diberikan sehingga hasil induksi tidak begitu tinggi.

Dari hasil uji ANOVA diketahui pula bahwa penurunan kadar asam urat antar kelompok yaitu pada t setelah pemberian sediaan (t3) adalah signifikan dengan nilai $p=0,004$. Hasil LSDnya dapat dilihat pada **Tabel V.4**.

Tabel V.4. Hasil statistik penurunan kadar asam urat terhadap kontrol positif

Dependent Variable	(i) kelompok	(j) kelompok	Sig.
t setelah pemberian sediaan (t3)	Kontrol positif	Kontrol negatif	.001*
		Pembanding	.001*
		Uji I	.072
		Uji II	.013*
		Uji III	.003*

Keterangan :

* = nilai signifikansi $<0,05$

Hasil uji LSD pada t setelah pemberian sediaan terlihat adanya perbedaan yang signifikan antara kelompok kontrol negatif, kelompok pembanding, kelompok uji II, dan kelompok uji III terhadap kelompok kontrol positif dengan nilai signifikansi $<0,05$ yang menunjukkan bahwa hasil ini sesuai dengan yang

seharusnya yaitu harus berbeda bermakna. Karena kontrol positif merupakan kontrol normal yang berbeda perlakuannya dengan kontrol pembanding maupun kontrol negatif yaitu pada kelompok kontrol positif hanya diberi induksi dan tidak diberi sediaan. Oleh karena itu, pada kelompok kontrol positif tidak akan terjadi penurunan.

Pada data Tabel V.3. dapat terlihat bahwa kelompok yang memiliki rata-rata penurunan kadar asam urat tertinggi adalah kelompok uji III. Sedangkan dapat terlihat pada Tabel V.5. penurunan kelompok uji yang dibandingkan terhadap kelompok pembanding hasilnya dapat dilihat pada **Tabel V.5.**

Tabel V.5. Hasil statistik penurunan kadar asam urat terhadap pembanding

Dependent Variable	(i) kelompok	(j) kelompok	Sig.
t setelah pemberian sediaan (t3)	Pembanding	Kontrol negatif	.001*
		Kontrol positif	.935
		Uji I	.041*
		Uji II	.187
		Uji III	.541

Keterangan :

* = nilai signifikansi <0,05

Pada t setelah pemberian sediaan (t3) kelompok pembanding dibandingkan dengan kelompok uji I, uji II, dan uji III menunjukkan hasil yang tidak signifikansi pada kelompok uji II dan uji III. Artinya pada kelompok uji II dan uji III memberikan efek menurunkan kadar asam urat yang sama dengan pembanding allopurinol karena senyawa flavonoid yang dimiliki oleh buah pare secara statistik.