

# BAB I

## PENDAHULUAN

### A. Latar Belakang Masalah

Hiperurisemia merupakan keadaan yang menunjukkan terjadinya peningkatan kadar asam urat di atas normal, dengan nilai normal darah kurang dari 7 mg/dL untuk pria dan 6 mg/dL untuk wanita. Asam urat merupakan hasil akhir dari katabolisme purin. Dalam proses katabolisme purin tersebut *xanthine oxidase* (XO) mengkatalisis *xanthine* dan *hypoxanthine* menjadi asam urat (Haidari *et al.*, 2009; Putra, 2007). Dua kelompok obat yang digunakan dalam pengobatan hiperurisemia yaitu obat dengan mekanisme kerja meningkatkan eliminasi asam urat (*urikosurik*) dan obat yang mengurangi pembentukan asam urat (*urikostatik*) (Mutschler, 1991). Allopurinol merupakan obat asam urat golongan *urikostatik* yang merupakan inhibitor kuat dari XO yang dapat menurunkan kadar asam urat, tetapi allopurinol memiliki efek samping seperti hepatitis, nefropati dan alergi sehingga perlu adanya pencarian inhibitor XO yang baru dari sumber alam sebagai pengganti alternatif dari allopurinol (Haidari *et al.*, 2009). Salah satu tanaman yang memiliki potensi sebagai pengganti alternatif dari allopurinol adalah meniran (*Phyllanthus niruri*).

Meniran (*Phyllanthus niruri*) telah digunakan secara empiris untuk pengobatan asam urat. Penelitian Muhtadi dkk (2010) menyatakan bahwa ekstrak air herba meniran dengan dosis 200 mg/kgBB mampu menurunkan kadar asam urat dalam darah sebesar 61,94%. Secara *in vitro* menunjukkan fraksi air meniran mampu menghambat XO sebesar 90,43% (Subarnas, 2004), sedangkan ekstrak air 45,86% (150 ppm) dan flavonoid 53,71% (150 ppm) (Wardani, 2008). Ekstrak metanol meniran secara *in vitro* memiliki efek penghambatan XO dengan nilai  $IC_{50}$  39,39  $\mu$ g/mL dan diduga senyawa yang bertanggung jawab adalah *lignan*, *phyllanthin*, *hypophyllanthin*, dan *phyltetralin* (Murugaiyah and Chan, 2009). Selain itu meniran mengandung senyawa flavonoid diantaranya *quercetin* dan *rutin* yang mampu memberikan penghambatan terhadap XO dengan nilai  $IC_{50}$  >100 $\mu$ M dan 52,2 $\mu$ M (Cos *et al* 1998).

Aktivitas penghambatan XO ekstrak meniran secara *in vitro* mungkin tidak mencerminkan aktivitas XO jika dilakukan secara *in vivo* hal ini dikarenakan secara *in vivo* dipengaruhi oleh bioaktivitas enzim yang terdistribusi dalam tubuh hewan uji (Mo, 2007). Berdasarkan efek penghambatan XO secara *in vitro* herba meniran, maka diperlukan penelitian lebih lanjut terhadap aktivitas XO secara *in vivo*. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai efek dan aktivitas penghambatan enzim XO oleh ekstrak air herba meniran (*Phyllanthus niruri*) secara *in vivo* yang bermanfaat terhadap pengobatan hiperurisemia.

## **B. Perumusan Masalah**

Berdasar latar belakang yang telah dikemukakan di atas, maka perumusan masalah dalam penelitian ini adalah “Apakah ekstrak herba meniran (*Phyllanthus niruri*) dosis 250 mg/kgBB dapat menghambat enzim *xanthine oxidase* pada mencit hiperurisemia?”

## **C. Tujuan Penelitian**

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh ekstrak herba meniran (*Phyllanthus niruri*) dosis 250 mg/kgBB terhadap penghambatan enzim *xanthine oxidase* pada mencit hiperurisemia.

## **D. Tinjauan Pustaka**

### **1. Hiperurisemia**

#### **a. Definisi hiperurisemia**

Hiperurisemia merupakan keadaan yang menunjukkan terjadinya peningkatan kadar asam urat darah diatas normal, dengan nilai normal asam urat dalam darah diatas 7 mg/dL untuk pria dan 6 mg/dL untuk wanita (Haidari *et al.*, 2009; Putra, 2007).

#### **b. Klasifikasi hiperurisemia**

Berdasarkan penyebabnya hiperurisemia dibagi menjadi dua yaitu :

##### **1) Hiperurisemia primer**

Hiperurisemia primer disebabkan karena kelainan enzim spesifik akibat peningkatan aktivitas varian dari enzim *phosphoribosyl phosphate (PRPP) synthetase* menyebabkan peningkatan pembentukan purin nukleotida melalui sintesis *de novo* sehingga terjadi hiperurisemia tipe *overproduction* (Putra, 2007).

## 2) Hiperurisemia sekunder

Hiperurisemia sekunder disebabkan oleh penyakit karena gangguan pengeluaran asam urat melalui ginjal (*under excretion*) dapat melalui gangguan dalam filtrasi, reabsorpsi, sekresi dan reabsorpsi pasca sekresi (Putra, 2007).

### c. Patofisiologi

Berdasarkan patofisiologinya hiperurisemia dapat disebabkan oleh :

#### 1) Produksi asam urat berlebih

Over produksi dapat terjadi karena peningkatan *phosphoribosyl phosphate (PRPP) synthetase* yang menyebabkan peningkatan sintesis purin dan peruraian asam nukleat jaringan yang pada akhirnya dapat menyebabkan peningkatan asam urat (Priyanto, 2008).

#### 2) Pembuangan asam urat berkurang

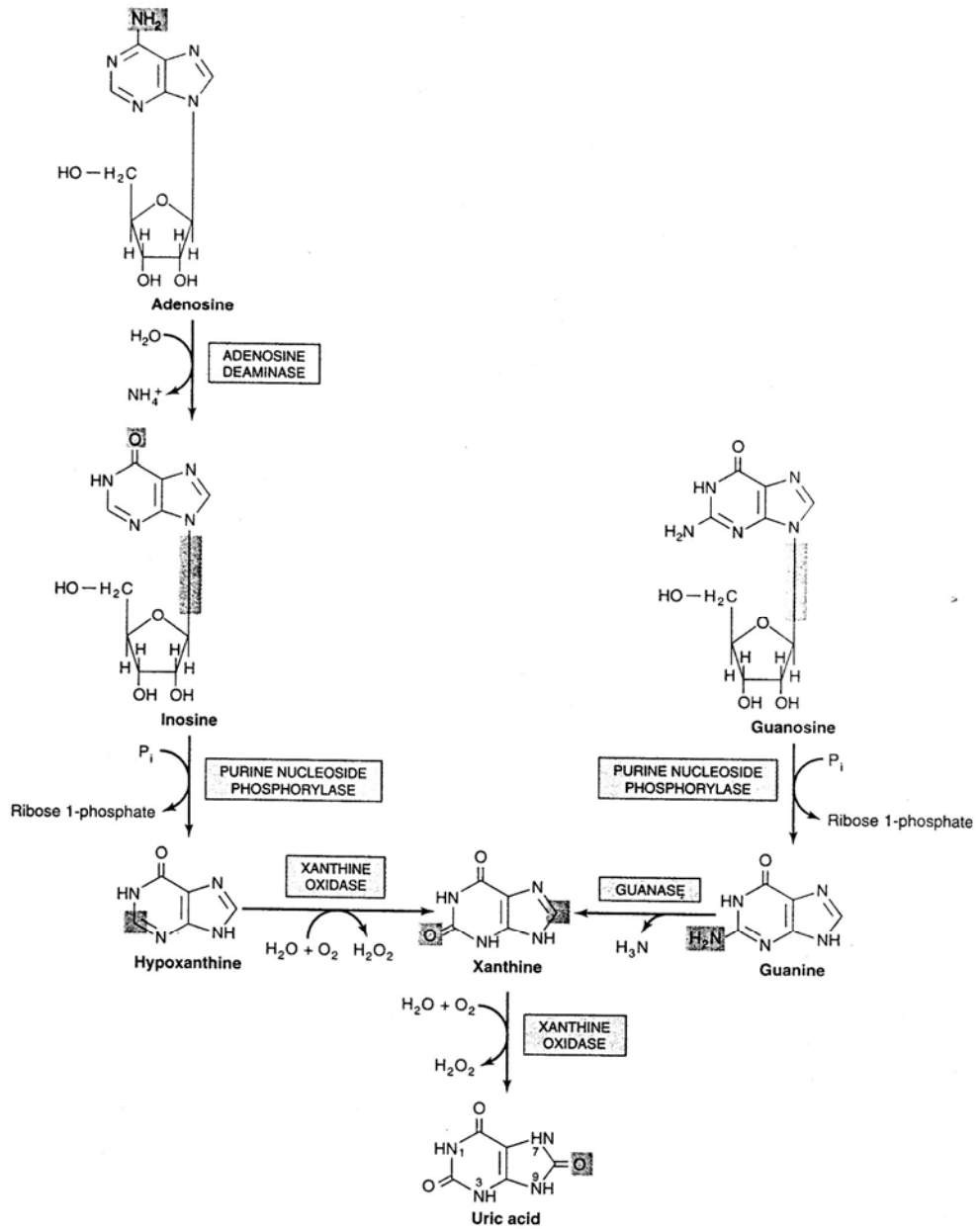
Dua pertiga asam urat yang diproduksi diekresi melalui urin dan sisanya melalui gastrointestinal (GI) setelah terdegradasi oleh bakteri kolon. Gangguan ekskresi ginjal pada tubuli distal atau karena ginjal yang rusak misalnya glomerulonefritis dapat meningkatkan kadar asam urat (Priyanto, 2008).

Asam urat merupakan produk akhir degradasi purin. Pada manusia asam urat diekskresikan di dalam urin karena manusia tidak memiliki enzim urikase, tetapi untuk mamalia asam urat dioksidasi lagi menjadi allantoin sebelum diekskresi (Putra, 2007).

Manusia mengubah nukleosida purin utama yaitu adenosin dan guanin menjadi produk akhir asam urat yang diekskresikan keluar. Adenosin akan mengalami deaminasi menjadi inosin oleh enzim adenosin deaminase. Fosforilase ikatan N-glikosida inosin dan guanosin, yang dikatalisis oleh enzim nukleosida purin fosforilase, akan melepaskan senyawa ribose 1-fosfat dan basa purin. Hipoksantin dan guanin selanjutnya membentuk *xanthine* dalam reaksi yang dikatalisasi masing-masing oleh enzim XO dan guanase, kemudian *xanthine*

teroksidasi menjadi asam urat dalam reaksi kedua yang dikatalisis oleh enzim *xanthin*. Dengan demikian, XO merupakan tempat yang essential untuk intervensi farmakologis pada penderita penyakit hiperurisemia (Rodwell *et al.*, 2003).

Mekanisme pembentukan asam urat dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 1. Mekanisme pembentukan asam urat (Rodwell *et al.*, 2003)

## 2. Tanaman meniran (*Phyllanthus niruri* L.)

### a. Taksonomi tanaman

Herba meniran termasuk dalam famili Euphorbiaceae, genus *Phyllanthus* dan spesies *Phyllanthus niruri* Linn. (Sulaksono dan Jayusman, 2004).

### b. Morfologi

Merupakan tumbuhan terna semusim, tegak, tinggi hingga 1 m. Batang bulat, liat, masif, tidak berbulu, licin, hijau keunguan, diameter  $\pm$  3 mm, sering sangat bercabang, dengan tangkai dan cabang hijau keunguan. Daun majemuk berseling, warna hijau, anak daun 15-24 helai, bulat telur, tepi rata, pangkal membulat, ujung tumpul, di bawah ibu tulang daun sering terdapat butiran kecil-kecil, menggantung. Bunga tunggal, daun kelopak berbentuk bintang, mahkota putih kecil. Buah kotak, bulat, hijau keunguan. Biji kecil, keras, bentuk ginjal, coklat tua (Sudarsono dan Gunawan, 1998).

### c. Kandungan kimia

#### 1) Flavonoid

*Quercetin, quercitrin, isoquercitrin, astragalin, rutin, kaemperol-4'-rhamnopyranoside, eriodictyol-7-rhamnopyranoside, fisetin-4'-O-glicoside, 5,6,7,4'-tetrahydroxy-8-(3-methylbut-2-enyl)-flavonone-5-O-runoside (nirurin)* (Sudarsono dan Gunawan, 1998).

#### 2) Lignan

*Norsecurinine, Nirphyllin (3,3',5,9,9'-pentamethoxy-4-hydroxy,4',5-methylendioxy lignan), phyllnirurin (3,4-methylendioxy-5'-methoxy-9-hidroxy-4'-7-epoxy- 8,3'- neolignan), isolintetrain, nirtetralin, niranthin, hinikinin, ligtetralin, phyllanthostatin A. (Sudarsono dan Gunawan, 1998), Phyllanthin, hypophyllanthin, dan phyltetralin* (Murugaiyah and Chan, 2009)

## 3. Xanthine oxidase

*Xanthine oxidase* (XO) merupakan enzim yang mengandung molybdenum dan merupakan enzim kunci dalam proses katabolisme purin yang mengkatalisis hipoksantin menjadi *xanthine* dan selanjutnya menjadi asam urat. Selama proses oksidasi oksigen bertindak sebagai akseptor elektron menghasilkan radikal

superoksida dan hydrogen peroksida. *Xanthine oxidoreductase* (XOR) dapat bereaksi dengan sumber *reactive oxygen spesies* (ROS). ROS sendiri terlibat dalam proses patofisiologis dari beberapa jenis kerusakan degeneratif dengan merusak makromolekul biologi seperti protein, lemak, DNA. Dengan menghambat XOR dapat menurunkan kadar asam urat dan produksi ROS sehingga menghasilkan efek antihiperurisemia (Haidari *et al.*, 2009).

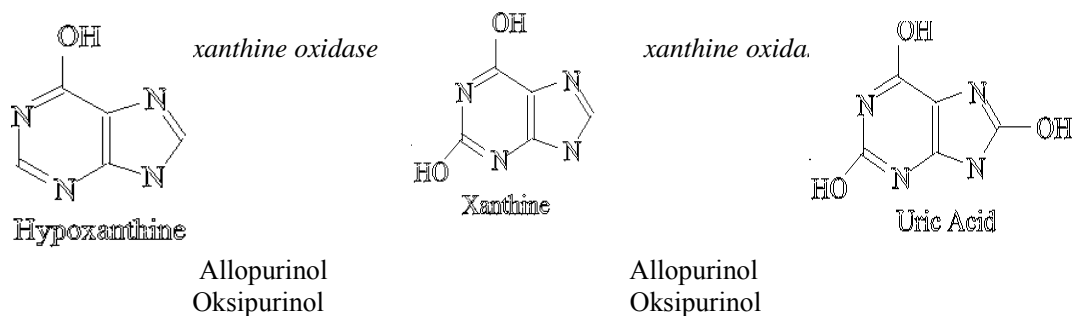
XOR secara luas didistribusikan ke seluruh organ seperti hati, usus, paru-paru, ginjal, jantung, dan otak. XO dan XDH berpartisipasi dalam berbagai reaksi biokimia termasuk hidroksilasi dari purin, pterins, dan *heterocycles* aromatik, sebagai aldehida alifatik dan aromatik (Pacher *et al.*, 2006). XO dapat ditentukan dengan menggunakan beberapa metode misalnya secara manometrik, spektrofotometri, ultraviolet (penurunan *xanthine* dan hipoksantin), fluorometrik dan kolorimetrik (Fried and Fried, 1974).

#### **4. Allopurinol**

Allopurinol adalah obat asam urat bekerja dengan cara menurunkan kadar asam urat melalui mekanisme penghambat XO, enzim XO ini bekerja dengan menghambat hipoksantin menjadi *xanthine* dan selanjutnya menjadi asam urat (Alegantina, 2000). Metabolit allopurinol-1-ribonukleotida bertanggung jawab terhadap inhibisi tambahan dari sintesis *de novo* purin (schunack *et al.*, 1990). Allopurinol memiliki waktu paruh dalam plasma sekitar 40 menit, allopurinol dapat dihidroksilasi menjadi metabolit utamanya yaitu oksipurinol dengan waktu paruh sekitar 14 jam. Oksipurinol bekerja dengan cara menghambat enzim XO, maka hipoksantin dan *xanthine* diekskresikan lebih banyak dalam urin sehingga kadar asam urat dalam darah dan urin menurun (Mutschler, 1991).

Allopurinol merupakan antihiperurisemia pilihan pada pasien yang mengalami gangguan ginjal dan mempunyai riwayat batu ginjal, serta pasien yang over produksi asam urat. Efek samping dari allopurinol adalah rasa sakit, leukopenia, gangguan gastrointestinal dan dapat memberikan serangan akut pada awal terapi (Priyanto, 2008).

Mekanisme kerja allopurinol dapat dilihat pada gambar 2.

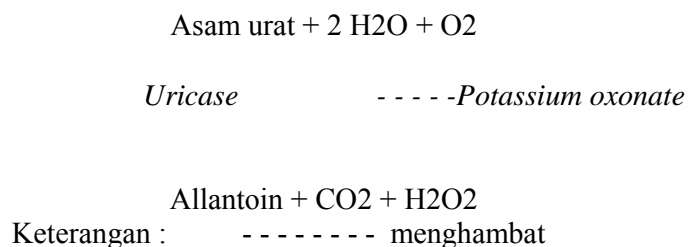


**Gambar 2. Mekanisme penghambatan allopurinol (Mutschler, 1991)**

### 5. Potassium oxonat

*Potassium oxonate* merupakan inhibitor enzim urikase yang dapat meningkatkan kadar asam urat, karena terjadi penghambatan pada konversi asam urat menjadi allantoin pada mencit. Inhibitor enzim urikase yang mampu menghambat konversi asam urat menjadi allantoin idealnya bersifat ireversibel non kompetitif dan relatif tidak toksik. *Potassium oxonate* digunakan sebagai inhibitor enzim urikase yang efektif pada penelitian-penelitian secara in vivo (Starvic and Nera, 1978).

Mekanisme *potassium oxonate* dalam meningkatkan kadar asam urat adalah seperti pada Gambar 3.



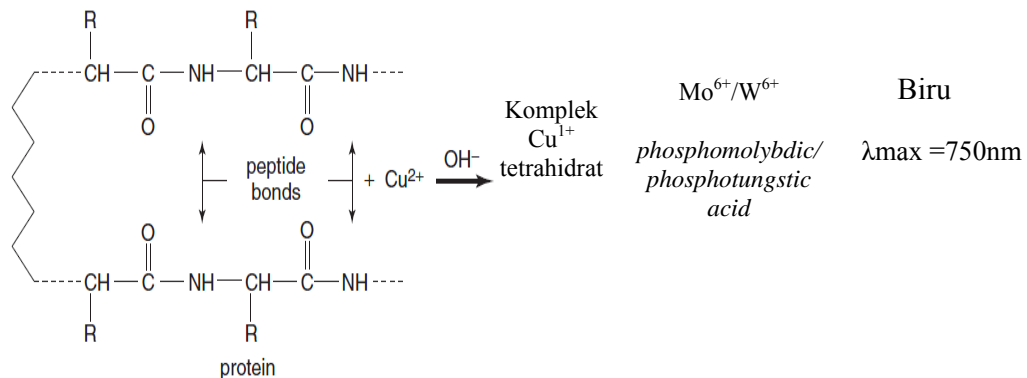
**Gambar 3. Mekanisme Aksi dari *Potassium Oxonate* dalam Meningkatkan Kadar Asam Urat (Mazzali et al., 2006)**

### 6. Metode Lowry

Metode Lowry merupakan pengembangan dari metode Biuret. Metode Lowry lebih sensitif dibandingkan dengan metode Biuret. Pada metode Lowry diberikan pereaksi tambahan yaitu asam fosfomolibdad dan asam fosfotungstat. Dengan adanya inti aromatis pada asam amino tritopan, tirosin dan fenilalanin

sebagai penyusun protein dapat mereduksi fosfomolibdat menjadi molibdenum yang berwarna biru sehingga dapat diukur absorbansinya (Sudjadi dan Abdul rahman, 2004).

Metode Lowry digunakan untuk mengukur kadar total protein dalam sampel yang rendah yaitu berkisar antara 1-1200 $\mu$ L. Pada metode Lowry digunakan bovine serum albumin (BSA) sebagai standar protein. BSA dipilih karena memiliki kemurnian yang tinggi sehingga dapat mengurangi kesalahan saat uji protein (John wiley and Sons, 2001). Mekanisme reaksi protein Lowry dapat dilihat dalam Gambar 4.



**Gambar 4. Mekanisme Reaksi Protein Lowry (John wiley and Sons, 2001)**

### E. Landasan Teori

Penelitian Muhtadi dkk (2010) menyatakan bahwa ekstrak air herba meniran dengan dosis 200 mg/kgBB mampu menurunkan kadar asam urat dalam darah sebesar 61,94%, dari penelitian tersebut maka perlu dilakukan penelitian mengenai mekanisme penurunan kadar asam urat. Ekstrak etanol meniran mengandung senyawa flavonoid dan polifenol. Berdasarkan penelitian yang dilakukan secara *in vitro* menunjukkan fraksi air meniran mampu menghambat XO sebesar 90,43% (Subarnas, 2004), sedangkan ekstrak air 45,86% dan flavonoid 53,71% (Wardani, 2008). Pada penelitian ekstrak metanol meniran secara *in vitro* memiliki efek penghambatan *xanthine oxidase* dengan nilai  $\text{IC}_{50}$  39,39  $\mu\text{g/mL}$  dan diduga senyawa yang bertanggung jawab adalah *lignan*, *phyllanthin*, *hypophyllanthin*, dan *phyltetralin* (Murugaiyah and Chan, 2009).



Selain itu meniran mengandung senyawa flavonoid diantaranya *quercetin* dan *rutin* yang mampu memberikan penghambatan terhadap XO dengan nilai  $IC_{50}$   $>100\mu M$  dan  $52,2\mu M$  (Cos *et al* 1998).

#### **F. Hipotesis**

Ekstrak herba meniran (*Phyllanthus niruri* L.) memiliki aktivitas penghambatan enzim *xanthine oxidase* yang signifikan.