

**UJI AKTIVITAS PENGHAMBATAN XANTIN OKSIDASE EKSTRAK
ETANOL 80% DARI TANAMAN FAMILI COMBRETACEAE,
LAURACEAE, LYTHRACEAE, OXALIDACEAE, PIPERACEAE,
PLUMBAGINACEAE, DAN SMILACACEAE**

Tri wahyuni, Anggita Widuri, Abdul Mun'im, Katrin
Fakultas Farmasi, Universitas Indonesia, Depok 164
Email : wahyuni.tri@ui.ac.id

ABSTRAK

Hiperurisemia dapat disebabkan oleh produksi berlebih dan kurangnya ekskresi asam urat dalam tubuh. Xantin oksidase adalah enzim yang memiliki peran mengkatalisis oksidasi hipoxantin dan xantin menjadi asam urat. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui tanaman obat yang memiliki aktivitas penghambatan xantin oksidase dan mengidentifikasi golongan senyawa kimianya. Metode yang digunakan adalah *Continous Spectrophotometric Rate Determination*. Serbuk simplisia diekstrak dengan cara refluks menggunakan pelarut etanol 80%. Dengan uji aktivitas penghambatan xantin oksidase didapatkan ekstrak yang memiliki aktivitas penghambatan, yaitu ekstrak herba suruhan (*Peperomia pellucida* (L.) Kunth), ekstrak daun blimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.), ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.), dan ekstrak kulit kayu manis (*Cinnamomum burmannii* Nees ex Blume) yang memiliki nilai IC₅₀ berturut-turut 2621,07 ppm, 1149,113 ppm, 245,30 ppm, dan 1294,58 ppm. Identifikasi kimia pada ekstrak herba suruhan menunjukkan adanya alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, dan glikosida. Pada ekstrak daun belimbing wuluh mengandung senyawa flavonoid, tanin, dan saponin. Pada ekstrak daun sirih hijau mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, dan antrakuinon. Pada ekstrak kulit kayu manis mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, saponin

Kata kunci: suruhan, blimbing wuluh, sirih, kayu manis, hiperurisemia, aktivitas inhibitor, xantin oksidase

ABSTRACT

Hyperuricemia could happen because of overproduction and/or underexcretion of uric acid in the body. Xanthine oxidase is an enzyme that plays a role in catalyzing the oxidation hypoxanthine and xanthine into uric acid. The purpose of this study is to find medicinal plants which have inhibited the xanthine oxidase activity and identification the chemical contain. The method used to test the inhibitory activity of the xanthine oxidase is a *Continous Spectrophotometric Rate Determination*. The simplisia powder was extracted by reflux using 80% ethanol solvent. The result of this study showed that suruhan (*Peperomia pellucida* (L.) Kunth) herb extract, blimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) leave extract, sirih (*Piper betle* L.) leave extract, and kayu manis (*Cinnamomum burmannii* Nees ex Blume) bark extract has IC₅₀ value 2621.07

ppm, 1149.113 ppm, 245.30 ppm, dan 1294.58 ppm respectively. Chemical identification in suruhan herb extract is alkaloids, flavonoids, tannins, saponins, and glycosides. *Averrhoa bilimbi* L. leave extract contain flavonoids, tannins, and saponins. *Piper betle* L. leave extract contain alkaloids, flavonoids, tannins, saponins, and anthraquinones, while kayu manis bark extract showed alkaloids, flavonoids, tannins, saponins..

Keywords : *Peperomia pellucida* (L.) Kunth), *Averrhoa bilimbi* L., *Piper betle* L., *Cinnamomum burmannii* Nees ex Blume, hyperuricemia, inhibitory activity, xanthine oxidase

PENDAHULUAN

Hiperurisemia, yang berkaitan dengan *gout*, dihasilkan dari produksi asam urat yang berlebihan atau berkurangnya ekskresi asam tersebut dan sangat dipengaruhi oleh pola konsumsi makanan yang banyak mengandung asam nukleat (Owen & Johns, 1999). Penelitian terkini menunjukkan bahwa kasus *gout* meningkat secara luas dimungkinkan karena adanya perubahan dalam pola makan, seperti mengonsumsi makanan yang banyak mengandung asam nukleat, contohnya daging dan makanan laut (Umamaheswari *et al.*, 2009).

Gout adalah salah satu kelainan metabolik yang umum menyerang manusia. Penyakit ini ditandai dengan hiperurisemia yang memicu endapan kristal urat monohidrat di sendi dan ginjal sehingga menyebabkan arthritis *gout* dan nefrolitiasis yang disebabkan asam urat (Umamaheswari *et al.*, 2007). Salah satu cara pengobatan yang digunakan untuk mengobati penyakit *gout* adalah menggunakan inhibitor xantin oksidase yang menghambat pembentukan asam urat (Kong, *et al.*, 2000).

Alopurinol merupakan satu-satunya senyawa penghambat xantin oksidase yang sering digunakan. Dalam penggunaannya, obat ini tidak lepas dari

adanya efek samping seperti hipersensitivitas, sindrom Stevens-Johnson, dan toksisitas ginjal (Umamaheswari *et al.*, 2007). Obat ini juga dapat menyebabkan hepatitis, nefropati, dan reaksi alergi (Kong *et al.*, 2000). Oleh karena itu, dibutuhkan penelitian dan pencarian senyawa yang memiliki potensi aktivitas penghambatan xantin oksidase, tetapi sedikit efek sampingnya (Murata *et al.*, 2009). Salah satu sumber yang berpotensi adalah berasal dari tanaman obat (Umamaheswari *et al.*, 2009). Tanaman telah lama memainkan peran yang penting dalam menjaga kesehatan manusia dan juga berfungsi sebagai bahan makanan untuk manusia. WHO (*World Health Organization*) memperkirakan lebih dari 80% penduduk dunia bergantung pada pengobatan tradisional sebagai pengobatan utama mereka dan sebagian besar meliputi penggunaan ekstrak tanaman atau kandungan senyawa aktif dari tanaman tersebut (Egwuche *et al.*, 2011).

Penelitian mengenai khasiat tanaman sebagai penghambat xantin oksidase telah banyak dilakukan. Pada tahun 2003 telah dilakukan penelitian terhadap beberapa tanaman dari famili Celastraceae dan famili Lamiaceae.

Tanaman yang diteliti tersebut dipilih pada kombinasi berbagai kriteria, tetapi hal utama yang diperhatikan adalah digunakan oleh masyarakat Panama. Dari hasil penelitian tersebut pada konsentrasi 1 µg/mL ekstrak etanol akar dan bagian aerial *Hyptis obtusiflora* Presl ex Benth (Lamiaceae) memiliki daya inhibisi sebesar 42% dan 44%. Ekstrak etanol bagian aerial *Hyptis lantanaefolia* Poit (Lamiaceae) memiliki daya inhibisi sebesar 41%. Pada konsentrasi 50 µg/mL, ekstrak etanol akar *Hyptis brevipes* Poit (Lamiaceae) memiliki daya inhibisi sebesar 99% (Gonzales *et al.*, 1995). Penelitian yang dilakukan terhadap 122 tanaman obat tradisional China yang dipilih sesuai dengan khasiat klinis dan frekuensi resep untuk pengobatan asam urat dan gangguan lain yang terkait dengan hiperurisemia menunjukkan 4 jenis ekstrak tanaman yang memiliki aktivitas terbaik. Ekstrak metanol *Cinnamomum cassia* (Lauraceae) merupakan yang paling aktif dengan nilai IC₅₀ 18 µg/mL kemudian ekstrak metanol dari *Chrysanthemum indicum* (Asteraceae), *Lycopus europaeus* (Lamiatae), dan ekstrak air tanaman *Polygonum cuspidatum* (Polygonaceae) masing-masing dengan nilai IC₅₀ 22 µg/mL, 26 µg/mL, dan 38 µg/mL. Kontrol positif yang digunakan yaitu Alopurinol dengan nilai IC₅₀ 1,06 µg/mL (Kong *et al.*, 2000).

Pada penelitian ini dilakukan uji aktivitas penghambatan xantin oksidase terhadap beberapa tanaman obat di Indonesia yang berkhasiat sebagai antihiperurisemia. Pengukuran aktivitas penghambatan xantin oksidase dilakukan menggunakan metode *Continous Spectrophotometric Rate Determination*.

Hasil penghambatan reaksi enzimatis tersebut diukur serapannya secara spektrofotometri pada panjang gelombang 277,5 nm. Percobaan dilakukan dengan variasi konsentrasi sediaan uji untuk mengetahui konsentrasi paling optimal yang dapat menghambat aktivitas xantin oksidase.

METODE PENELITIAN

Alat

Alat refluks, kondensor, penangas air, termometer, pipet mikro 100-1000µL (Eppendorf), spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu 1601, Jepang), kuvet kuarsa (Quartz Cells, Jerman), penguap vakum putar (rotavapor), rak tabung reaksi, sentrifugator (Kubota 5100, Jepang).

Bahan

Simplisia yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari beberapa tanaman yang tertera dalam Tabel 1. Simplisia uji berasal dari Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik (BALITRO), Bogor.

Etanol 80%, larutan dapar kalium fosfat 0,05 M, substrat xantin (Sigma Ultra, USA), xantin oksidase (Oriental Yeast Co, LTD, Jepang), dimetil sulfoksida (Merck, Jerman), HCl 1 N, Bouchardat LP, Mayer LP, Dragendorff LP, larutan Iodii, air suling (aquadest), HCl 2 N, HCl 10%, natrium sulfat anhidrat (Merck, Jerman), metanol, asam sulfat P, Molisch LP, asan asetat anhidrat, etanol 95%, serbuk seng (Merck, Jerman), serbuk magnesium (Merck, Jerman), natrium karbonat (Merck, Jerman), larutan Pb (II) asetat, larutan NaCl 10%, larutan gelatin (10%), FeCl₃ 3%, asam sulfat 2 N, benzen (Merck, Jerman).

Cara Kerja

Persiapan Bahan

Setelah pengumpulan bahan baku, lalu memilih bagian tanaman yang akan digunakan untuk pengujian. Bagian tanaman yang telah dipilih kemudian dicuci dengan air hingga bersih. Bagian tanaman yang dikeringkan pada temperatur kamar hingga air bekas cucian mengering lalu ditimbang. Bagian tanaman dimasukkan kedalam lemari pengering kemudian hasil pengeringan ditimbang kembali agar dapat diketahui bobot penyusutannya. Bagian tanaman yang telah dikeringkan, dihaluskan menggunakan mesin penggiling hingga menjadi serbuk.

Masing-masing 50 gram serbuk simplisia direfluks menggunakan pelarut etanol 80% selama 1 jam dan diulangi sebanyak 3 kali. Ekstrak yang didapat kemudian diuapkan pelarutnya menggunakan *rotavapor* pada suhu 40-50°C hingga menjadi ekstrak kental.

Tabel 1. Daftar sampel tanaman untuk simplisia uji

No.	Spesies tanaman	Bagian tanaman yang digunakan
1	<i>Plumbago zeylanica</i> L.	daun
2	<i>Peperomia pellucida</i> (L.) Kunth	herba
3	<i>Piper crocatum</i> Ruiz & Pav	daun
4	<i>Piper betle</i> L	daun
5	<i>Averrhoa bilimbi</i> L.	daun
6	<i>Smilax china</i> L	rimpang
7	<i>Terminalia cattapa</i> L	daun
8	<i>Lawsonia inermis</i> L.	daun
9	<i>Cinnamomum burmannii</i> Nees ex Blume	Kulit kayu
10	<i>Persea Americana</i> Mill	buah

Uji Aktivitas Penghambatan Xantin Oksidase (Umamaheswari *et al.*, 2007)

Secara umum uji aktifitas penghambatan enzim xantin oksidase terdiri dari uji pendahuluan penentuan panjang gelombang maksimum substrat xantin, penentuan suhu optimum, dan penentuan konsentrasi xantin oksidase optimum.

Semua ekstrak yang dihasilkan diukur aktivitas penghambatannya. Pengujian dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer di bawah kondisi aerob. Larutan uji sebanyak 1 mL dengan konsentrasi (10, 25, 50, 100, dan 200 µg/mL) ditambahkan 2,9 mL dapar fosfat 0,05 M pH 7,5 dan 0,1 mL larutan enzim dengan konsentrasi optimum dalam dapar fosfat, pH 7,5. Setelah dilakukan pra-inkubasi pada suhu optimum selama 15 menit, reaksi dimulai dengan penambahan 2 mL larutan substrat xantin 12,072 ppm. Larutan campuran kemudian diinkubasikan pada suhu optimum selama 30 menit. Reaksi dihentikan dengan penambahan 1 mL HCl 1 N kemudian diukur serapannya pada panjang gelombang maksimum yang telah ditentukan menggunakan spektrofotometer. Pengujian dilakukan sebanyak 3x ulangan. Satu unit xantin oksidase didefinisikan sebagai jumlah enzim yang diperlukan untuk menghasilkan 1 mM asam urat per menit pada suhu optimum. Aktivitas penghambatan xantin oksidase dapat dihitung dengan rumus:

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{(A-B)-(C-D)}{(A-B)} \times 100\%$$

Keterangan:

A = aktivitas enzim tanpa ekstrak

B = kontrol untuk A, tanpa ekstrak dan enzim

C = aktivitas sampel

D = aktivitas sampel tanpa enzim

Sebagai kontrol positif digunakan alopurinol dengan konsentrasi 1, 2, 5, 10, dan 20 ppm. Nilai IC_{50} dihitung menggunakan rumus persamaan regresi linear.

Identifikasi Kandungan Kimia
(Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1995b)

Identifikasi Alkaloid

Ekstrak dilarutkan dengan 10 ml campuran air suling dan HCl 2 N (9:1) kemudian panaskan selama 2 menit. Selanjutnya disaring dan 1 mL filtrat digunakan sebagai larutan percobaan yang selanjutnya dilakukan sebagai berikut:

- 1) Tambahkan 2 tetes Bouchardat LP. Hasil positif dengan terbentuk endapan coklat hitam.
- 2) Tambahkan 2 tetes Mayer LP. Hasil positif dengan terbentuk endapan putih.
- 3) Tambahkan 2 tetes Dragendorf LP. Hasil positif terbentuk endapan jingga coklat

Identifikasi Glikosida

Pembuatan larutan percobaan dengan menambahkan 15 mL HCl 10% pada sejumlah 1 gram ekstrak. Selanjutnya dipanaskan hingga mendidih, dinginkan, kemudian saring. Cuci filtrat dengan 10 mL eter lakukan sebanyak 3 kali. Kemudian kumpulkan filtrat dan

uapkan, tambahkan natrium sulfat anhidrat, saring dan uapkan, Tambahkan 2 mL metanol P dan larutan ini digunakan sebagai larutan percobaan.

- 1) Larutan percobaan sebanyak 1 mL diuapkan hingga kering, sisanya ditambahkan 20 tetes asam asetat anhidrat P dan 1 tetes asam sulfat P. Hasil positif terbentuknya warna biru atau hijau.
- 2) Larutan percobaan sebanyak 1 mL diuapkan hingga kering, sisanya dilarutkan dengan 2 mL air dan 5 tetes Molisch LP. Kemudian ditambahkan dengan hati-hati 2 mL asam sulfat P. Hasil positif terbentuknya cincin berwarna ungu pada batas cairan (Reaksi Molisch).

Identifikasi Saponin

Ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 10 mL air suling panas, dinginkan, kocok kuat-kuat selama 10 detik. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya buih yang mantap tidak kurang dari 10 menit, setinggi 1 cm sampai 19 cm, pada penambahan 1 tetes asam klorida 2 N, buih tidak hilang.

Identifikasi Flavonoid

- 1) Sejumlah 500 mg ekstrak dilarutkan dalam 1-2 mL etanol (95%) kemudian ditambahkan 0,5 gram serbuk seng P dan 2 mL asam klorida 2 N dan didiamkan selama 1 menit. Setelah itu, tambahkan 10 tetes asam klorida pekat P, jika dalam waktu 2 sampai 5 menit terjadi warna merah intensif, menunjukkan adanya flavonoid (glikosida-3-flavonol).
- 2) Sejumlah 500 mg ekstrak dilarutkan dalam 1 mL etanol (95%) P kemudian

ditambahkan 0,1 gram serbuk magnesium P dan 10 tetes HCl pekat. Jika terjadi warna merah jingga sampai merah ungu menunjukkan adanya flavonoid. Jika warna kuning jingga menunjukkan adanya flavon, kalkon dan auron.

Identifikasi Tanin

- 1) Ekstrak (1 mL) dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 5 mL air suling dan direbus sebentar, setelah dingin disaring dan diperiksa pH filtrat mendekati pH netral (pH 6,0-8,0). Tambahkan Na karbonat atau asam asetat jika perlu untuk mendekati pH netral. Selanjutnya 5 mL filtrat diberi 2-3 tetes Pb(II)asetat. Hasil positif jika memberikan endapan putih sampai warna kuning.
- 2) Ekstrak sebanyak 1 mL dilarutkan dalam 5 mL air suling panas dan diaduk. Setelah dingin disentrifugasi dan bagian cairan didekantasi dan diberi larutan NaCl 10% kemudian disaring. Filtrat sebanyak masing-masing 1 mL dikerjakan sebagai berikut:
 - a) Ditambahkan 3 mL larutan gelatin 10% dan diperhatikan adanya endapan.
 - b) Ditambahkan 2 tetes larutan FeCl₃ 3%.
 - c) Ditambahkan 3 mL larutan NaCl-gelatin (larutan gelatin 1% dalam larutan NaCl 10%).

Identifikasi Antrakuinon

Sejumlah 200 mg ekstrak dilarutkan dengan 5 mL asam sulfat 2 N, panaskan sebentar kemudian didinginkan. Tambahkan 10 mL benzen P, kocok dan didiamkan. Dipisahkan lapisan benzene

dan disaring. Filtrat berwarna kuning menunjukkan adanya antrakuinon. Kocok lapisan benzen dengan 1 mL sampai 2 mL natrium hidroksida 2 N, didiamkan, lapisan air berwarna merah intensif dan lapisan benzene tidak berwarna.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penyiapan Bahan

Tanaman yang diperoleh disortasi basah terlebih dahulu untuk memisahkan kotoran dan bahan asing lainnya yang menempel pada tanaman kemudian dicuci untuk menghilangkan pengotor masih menempel pada tanaman yang sudah disortasi basah lalu dirajang pada temperatur kamar untuk menghilangkan air bekas pencucian. Kemudian dilakukan pengeringan dalam lemari pengering suhu 40-50°C.

Ekstraksi Simplisia

Ekstraksi simplisia dilakukan dengan cara panas, yaitu secara refluks menggunakan etanol 80% sebagai pelarut dengan alasan kepolarannya yang mendekati senyawa yang diekstrak, serta bersifat tidak toksik. Refluks dilakukan selama satu jam, kemudian ekstrak yang didapat dipisahkan dari ampas dengan cara penyaringan. Setelah disaring, ampas ditambahkan lagi pelarut, kemudian proses ekstraksi diulangi kembali hingga tiga kali agar jumlah senyawa yang tersari dapat lebih banyak.

Ekstrak cair diuapkan pelarutnya menggunakan *rotavapor*. Pelarut yang masih tersisa pada ekstrak diuapkan diatas penangas air hingga terbentuk ekstrak kental kemudian ditimbang untuk menghitung rendemennya.

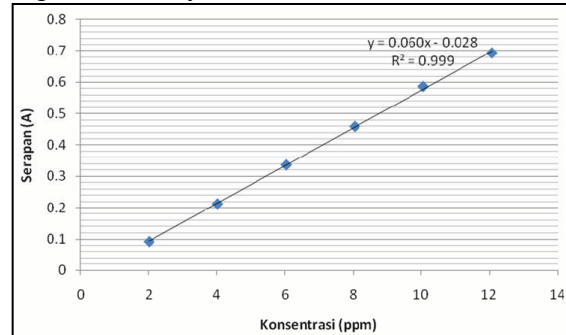
Penetapan Panjang Gelombang Maksimum Substrat Xantin

Larutan substrat xantin dengan konsentrasi 10 ppm yang telah dipersiapkan diukur serapannya pada panjang gelombang 200-400 nm untuk menentukan panjang gelombang yang memberikan serapan maksimum. Hasilnya diketahui bahwa panjang gelombang yang memberikan serapan maksimum adalah pada 277,5 nm. Panjang gelombang tersebut berbeda dengan digunakan pada literatur, yaitu berkisar antara 262 hingga 295 nm. Beberapa faktor, termasuk larutan yang digunakan, konsentrasi, pH, dan suhu dapat mempengaruhi posisi dan intensitas serapan molekul. Parameter ini harus dikontrol untuk memastikan presisi maksimum. Secara umum, besarnya pergeseran dapat dihubungkan dengan polaritas pelarut. Sebagai contoh, serapan maksimum aseton dapat bervariasi dari 259 hingga 279 nm, bergantung pada larutan yang dipergunakan. Untuk analisis yang bertujuan untuk membandingkan, pelarut tunggal harus digunakan untuk semua pengukuran (Owen, 2000).

Pembuatan Kurva Kalibrasi Substrat Xantin

Larutan substrat xantin dibuat dengan cara melarutkan 50,3 mg substrat dengan menggunakan NaOH 0,5% 3 tetes kemudian diencerkan dengan air dalam labu ukur 50,0 mL hingga garis batas. Uji ini dilakukan dengan mengukur serapan yang diberikan oleh larutan uji dengan konsentrasi larutan uji 2,012; 4,024; 6,036; 8,048; 10,06; dan 12,072 ppm pada panjang gelombang 277,5 nm. Kurva

kalibrasi yang didapat dengan persamaan regresi linear $y = -0,02826 + 0,06029x$.



Gambar 1. Kurva Kalibrasi substrat xathin

Penentuan Suhu Optimum

Konsentrasi 12,072 ppm substrat xantin direaksikan dengan 0,1 U/mL enzim xantin oksidase dalam larutan dapar fosfat 0,05 M pH 7,5 lalu diinkubasi selama 30 menit pada variasi suhu, yaitu suhu 20, 25, dan 37°C. Hasil serapan yang didapat menunjukkan suhu optimum ada pada suhu 20°C, karena pada suhu 25 dan 37°C serapan mengalami penurunan, ini terjadi karena terjadinya penguraian dan denaturasi rantai polipeptida pada enzim sehingga kemampuan kinetika dari enzim mengalami pengurangan (Murray, Granner & Rodwell, 2009).

Penentuan Konsentrasi Enzim Xantin Oksidase Optimum

Larutan substrat xantin dengan konsentrasi 12,072 ppm direaksikan dengan enzim dengan konsentrasi yang berbeda-beda, yaitu : 0,02565 U/mL; 0,513 U/mL; dan 0,1026 U/mL dalam larutan dapar fosfat 0,05 M pH 7,5 lalu diinkubasi selama 30 menit pada suhu 20°C didapat serapan optimum dengan nilai 0,251 pada konsentrasi 0,1026 U/mL.

Uji Aktivitas Inhibisi Enzim Xantin Oksidase

Pengujian terhadap aktivitas penghambatan xantin oksidase dilakukan dengan variasi konsentrasi dengan tujuan dapat mengetahui pengaruh penambahan konsentrasi ekstrak terhadap peningkatan daya hambat. Variasi konsentrasi ekstrak yang digunakan mulai dari 10 ppm hingga konsentrasi 200 ppm. Ekstrak yang tidak dapat larut dengan air dilarutkan dahulu dengan 2-5 tetes DMSO (Dimetil Sulfoksida).

Selain itu juga dilakukan pengamatan aktivitas enzim tanpa penambahan ekstrak (blanko A) untuk melihat pengaruh penghambatan ekstrak tersebut terhadap aktivitas enzim dan blanko B (tanpa enzim dan ekstrak) sebagai kontrol dari blanko A. Blanko D (ekstrak tanpa penambahan enzim) digunakan untuk mengoreksi hasil serapan sampel.

Uji aktivitas penghambatan xantin oksidase dilakukan pada suhu optimum, yaitu 20°C dengan konsentrasi enzim optimum 0,1026 U/mL pada panjang gelombang 277,5 nm. Semua ekstrak yang dihasilkan diukur aktivitas penghambatannya. Pengujian dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu 1601) di bawah kondisi aerob.

Hasil pengujian menunjukkan hanya 4 ekstrak tanaman yang mempunyai aktivitas yang cukup untuk menghambat xantin oksidase, namun dengan persentase penghambatan yang kecil. Keempat ekstrak tanaman tersebut yaitu ekstrak herba suruhan dengan nilai IC_{50} 2621,07 ppm, ekstrak daun blimbing wuluh dengan nilai IC_{50} 1149,113 ppm, ekstrak daun sirih dengan nilai IC_{50}

245,30 ppm, dan ekstrak kulit kayu manis dengan nilai IC_{50} 1294,58. Aktivitas penghambatan xantin oksidase kemungkinan disebabkan adanya kandungan tanin dan senyawa flavonoid dalam tanaman. Tanin dikenal kemampuannya bereaksi dengan protein yang mengakibatkan terbentuknya kompleks tannin-protein sehingga mengurangi aktivitas katalis xantin oksidase, sedangkan aktivitas penghambatan oleh flavonoid yaitu disebabkan karena kerangka strukturnya posisi geometris yang hampir mirip dengan xantin dan adanya gugus hidroksil pada posisi C5 dan C7 yang memungkinkannya untuk teroksidasi oleh xantin oksidase (Owen *et al.*, 2002).

Sebagai kontrol positif digunakan tablet generik alopurinol 100 mg produksi Bernofarm®. Pengujian dilakukan dengan konsentrasi 1, 2, 5, 10, dan 20 ppm. Larutan sampel alopurinol dibuat dengan cara menimbang berat rata-rata dari 10 tablet, yaitu sebesar 439,0 mg kemudian ditambahkan dengan 5 tetes NaOH 1 N lalu diencerkan dengan 10 mL air dan dilarutkan dengan bantuan ultrasonik (Elmason, Jerman). Bagian tablet yang tidak larut disaring kemudian sisa filtrat ditambahkan air sampai batas volume. Hasil menunjukkan bahwa tablet alopurinol memiliki efek penghambatan enzim xantin oksidase dengan nilai IC_{50} 287,82 ppm dengan persentase penghambatan 20,97% pada konsentrasi 20 ppm. Nilai ini jauh berbeda jika dibandingkan dengan nilai IC_{50} alopurinol pada literatur, yaitu 6,75 ppm dengan persentase penghambatan 93,21% pada konsentrasi 100 ppm. Perbedaan ini disebabkan karena perbedaan variasi konsentrasi alopurinol yang digunakan

dan tingkat kemurnian bahan. Pada penelitian ini menggunakan tablet generik

alopurinol, sedangkan pada literature menggunakan alopurinol standar.

Tabel 2. Hasil uji penentuan aktivitas penghambatan xantin oksidase

No.	Sampel uji	Bagian yang digunakan	IC ₅₀ (ppm)
1	Ekstrak Rimpang Gadung Cina	Rimpang	150,60
2	Ekstrak Daun Sirih	daun	245,30
3	Ekstrak Kulit Kayu Manis	kulit kayu	1294,58
4	Ekstrak Herba Suruhan	herba	2621,07
5	Ekstrak Daun Pacar Kuku	daun	6000,48
6	Ekstrak Daun Ketapang	daun	300,60
7	Ekstrak Daun Sirih Merah	daun	1978,58
8	Ekstrak Daun Encok	daun	256,67
9	Ekstrak Daun Belimbing Wuluh	daun	1149,11
11	Ekstrak Buah Alpukat	buah	126,78
12	<i>Persea Americana</i> Mill	Buah	368,76

Uji Identifikasi Kandungan Kimia

Hasil identifikasi tiap ekstrak tanaman menggunakan pereaksi kimia memberikan hasil yang berbeda-beda. Terhadap pereaksi saponin semua ekstrak tanaman memberikan hasil yang positif. Pada identifikasi alkaloid, ekstrak herba suruhan memberikan hasil positif terhadap semua pereaksi alkaloid, hal ini sesuai dengan salah satu literatur yang menyatakan bahwa tanaman suruhan mengandung alkaloid (Egwuche *et al.*, 2011). Dari hasil identifikasi alkaloid, tanaman lain memberikan hasil yang berbeda-beda terhadap pereaksi alkaloid yang digunakan. Pada hasil

flavonoid, ekstrak daun sirih, ekstrak daun encok, dan ekstrak daun ketapang memberikan hasil yang positif, baik ketika direaksikan dengan serbuk magnesium dan HCl pekat, maupun ketika direaksikan dengan serbuk seng, HCl 2 N, dan HCl pekat. Pada identifikasi tanin, ekstrak daun encok, kulit kayu manis, dan daun blimbing wuluh memberikan hasil positif terhadap semua pereaksi tanin, Pada identifikasi glikosida, hanya ekstrak herba suruhan, ekstrak daun encok, dan ekstrak daun ketapang yang memberikan hasil positif terhadap semua pereaksi glikosida.

Tabel 3. Hasil uji identifikasi kandungan kimia tiap ekstrak

Kandungan Kimia	Pereaksi Kimia	Herba Suruhan	Daun Pacar Kuku	Rimpang Gadung Cina	Daun Sirih	Daun Encok	Daun Sirih Merah	Buah Alpukat	Daun Ketapang	Kulit Kayu Manis	Daun Belimbing Wuluh
Alkaloid	Bouchardat LP	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-
	Dragendorff LP	+	-	-	-	+	+	-	+	-	-
	Mayer LP	+	-	+	+	-	-	-	+	-	-
Flavonoid	Serbuk Zn + HCl 2N + HCl _(p)	-	-	-	+	+	-	-	+	-	-
	Serbuk Mg + HCl _(p)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Tanin	Pb(II)Asetat	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Gelatin 10%	-	-	-	+	+	+	-	-	+	+

	NaCl - Gelatin	-	-	-	+	+	-	-	-	+	+
	FeCl ₃	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Saponin	Air Panas	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Antrakinon	Benzen + NaOH 2N	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-
	As. Asetat										
Glikosida	Anhidrat + H ₂ SO _{4(p)}	+	-	-	-	+	+	-	+	-	-
	Molisch LP	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-

Kinetika Enzim

Karena tidak ada ekstrak yang memiliki persentase inhibisi melebihi 50%, maka tidak ada ekstrak yang digunakan untuk menentukan kinetika penghambatan enzim.

KESIMPULAN

Ekstrak herba suruhan, daun blimbing wuluh, daun sirih, dan kulit kayu manis berpotensi menghambat xantin oksidase dengan nilai IC₅₀ berturut-turut 2621,07 ; 1149,113 ; 245,30 dan 1294,58 ppm.

Identifikasi kimia pada ekstrak herba suruhan menunjukkan adanya alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, dan glikosida. Pada ekstrak daun blimbing wuluh mengandung senyawa flavonoid, tanin, dan saponin. Pada ekstrak daun sirih mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, dan antrakuinon. Pada ekstrak kulit kayu manis mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, saponin.

DAFTAR ACUAN

Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (1995), Farmakope Indonesia edisi IV. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.

Egwuche, R. U., Odetola, A. A., Erukainure, O. L. (2011).

Preliminary Investigation into the Chemical Properties of *Peperomia pellucida* L. *Research Journal of Phytochemistry*, 5 (1), 48-53.

Gonzalez, A. G., Bazzochi, I. L., Moujir, L., Ravelo, A. G., Correa, M. D., Gupta, M. P. (1995). Xanthine Oxidase Inhibitory Activity of Some Panamian Plants from *Celatraceae* and *Lamiaceae*. *Journal of Ethnopharmacology*, 46, 25-29.

Harborne, J.B. (1987). *Metode Fitokimia. Ter. Dari Phytochemical Methods oleh Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro*. Bandung: Penerbit ITB.

Kong, L. D., Cai, Y., Huang, W. W., Cheng, C. H. K., Tan, R. X. (2000). Inhibition of Xanthine Oxidase by Some Chinese Medicinal Plants Used to Treat Gout. *Journal of Ethnopharmacology*, 73, 199–207.

Murata, K., Nakao, K., Hirata, N., Namba, K., Nomi, T., Kitamura, Y., Moriyama K., Shintani T., Iinuma, M., Matsuda, H. (2009). Hydroxichavicol: A potent xanthine oxidase

- inhibitor obtained from the leaves of betel, Piper betle. *Journal of Natural Medicine*, 63, 355-359.
- Owen, P.L., Johns, T. (1999). Xanthine oxidase inhibitory activity of Northeastern North American plant remedies used for gout. *Journal of Ethnopharmacology* . 64, 146.
- Umamaheswari, M., Asokkumar, K., Somasundaram, A., Sivashanmugam, T., Subhadradevi, V., Ravi, T.K. (2007). Xanthine oxidase inhibitory activity of some Indian medical plants. *Journal of Ethnopharmacology*, 109, 547-551.
- Umamaheswari, M., Asokkumar, K., Sivashanmugam, A.T., Remyaraju, A., Subhadradevi, V., Ravi, T.K. (2009). *In vitro* xanthine oxidase inhibitory activity of the fractions of *Erythrina stricta* Roxb. *Journal of Ethnopharmacology*, 124, 646-648.
- Van Hoorn, D.E.C., Nijveldt, R.J., Van Leuween P.A.M., Hofman, Z., M'Rabet, L., De Bont, D.B.A. Van Norren, K. (2002). Accurate Prediction of Xanthine Oxidase Inhibition Based on the Structure of Flavonoids. *European Journal of Pharmacology*, 451, 111-118.

