

**UJI INHIBISI ENZIM XANTIN OKSIDASE KOMBINASI EKSTRAK  
ETANOL DAUN SIRSAK (*Annona muricata* Linn) DAN DAUN SALAM  
(*Syzygium polyanthum*) SECARA IN VITRO**

**DIAN BUDIARTI KASTIAN**

**H311 16 012**



**DEPARTEMEN KIMIA  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2021**

**UJI INHIBISI ENZIM XANTIN OKSIDASE KOMBINASI EKSTRAK  
ETANOL DAUN SIRSAK (*Annona muricata* Linn) DAN DAUN SALAM  
(*Syzygium polyanthum*) SECARA IN VITRO**

*Skripsi ini diajukan sebagai salah satu syarat  
untuk memperoleh gelar sarjana sains*

**Oleh:**

**DIAN BUDIARTI KASTIAN**

**H311 16 012**



**MAKASSAR**

**2021**

**LEMBAR PENGESAHAN (TUGAS AKHIR)**

**UJI INHIBISI ENZIM XANTIN OKSIDASE KOMBINASI EKSTRAK  
ETANOL DAUN SIRSAK (*Annona muricata* Linn) DAN DAUN SALAM  
(*Syzygium polyanthum*) SECARA IN VITRO**

**Disusun dan diajukan oleh:**

**DIAN BUDIARTI KASTIAN**

**H31116012**

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka Penyelesaian Studi Program Sarjana Program Studi Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin pada tanggal 05 Agustus 2021 dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui,

Pembimbing Utama,



Dr. Hasnah Natsir, M.Si  
NIP. 19620320 198711 2 001

Pembimbing Pertama,



Dr. Rugaiyah A Arfah, M.Si  
NIP. 19611231 198702 2 002

Ketua Departemen Kimia,



Dr. Abd. Karim, M.Si  
NIP. 19620710 198803 1 002

## PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Dian Budiarti Kastian  
NIM : H31116012  
Program Studi : Kimia  
Jenjang : S1

Menyatakan dengan ini bahwa Skripsi dengan judul UJI INHIBISI ENZIM XANTIN OKSIDASE KOMBINASI EKSTRAK ETANOL DAUN SIRSAK (*Annona muricata* Linn) DAN DAUN SALAM (*Syzygium polyanthum*) SECARA IN VITRO adalah karya saya sendiri dan tidak melanggar hak cipta pihak lain. Apabila dikemudian hari terbukti bahwa sebagian atau keseluruhan skripsi ini adalah hasil karya orang lain yang saya gunakan dengan cara melanggar hak cipta pihak lain, maka saya bersedia menerima sanksi.

Makassar, 09 Agustus 2021

Yang Menyatakan



Dian Budiarti Kastian

## PRAKATA

Bismillahirrahmananirrahim, segala puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT karena berkat rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul **“Uji Inhibisi Enzim Xantin Oksidase Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona Muricata* Linn) Dan Ekstrak Daun Salam (*Syzygium Polyanthum*) Secara In Vitro”**

Shalawat dan salam tak lupa tercurahkan kepada Baginda Rasulullah SAW, kepada keluarganya, para sahabatnya, dan kepada umatnya hingga akhir zaman. Berhasilnya penulis dalam menyelesaikan penyusunan skripsi ini menandakan berakhirnya salah satu dimensi perjuangan sebagai syarat dalam memperoleh gelar sarjana di Departemen Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin.

Kepada kedua orang tua tercinta, ayahanda **Alm. Muh. Kastian** dan ibunda **Napisah**, terima kasih untuk setiap semangat, bantuan, kasih sayang dan doa yang senantiasa tak henti-hentinya diberikan kepada saya, semoga Allah senantiasa memberikan rahmat berupa kasih sayang, keteguhan hati di atas agama Allah, dan kemuliaan bukan hanya di dunia tapi juga di akhirat Insya Allah. Terima kasih juga kepada saudara-saudara saya **Abah, Ummi, Ancu, Kak Ulie, Ika, Nandes, dan Ria** yang selalu memberikan motivasi untuk saya, serta kepada seluruh pihak keluarga yang menjadi penyemangat bagi saya, semoga Allah senantiasa melindungi mereka di jalan kebenaran, Aamiin.

Ucapan terima kasih dan penghargaan penulis sampaikan kepada seluruh pihak yang membantu dalam proses penyelesaian skripsi ini, terutama kepada ibunda **Dr. Hasnah Natsir, M.Si** selaku pembimbing utama dan ibunda

**Dr. Rugaiyah A. Arfah, M.Si** selaku pembimbing pertama yang menjadi orang tua di kampus dan senantiasa meluangkan waktu, tenaga dan pikirannya dalam membimbing dan memberikan arahan yang baik, terutama dalam menyelesaikan penelitian ini.

Penulis juga tak lupa mengucapkan terima kasih dan penghargaan yang sebesar-besarnya kepada:

1. Ayahanda **Dr. Eng Amiruddin, S.Si, M.Si** selaku dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin beserta semua staf pegawai.
2. Ketua Departemen Kimia Bapak **Dr. Abd. Karim, M.Si** dan Sekretaris Departemen Kimia Ibu **Dr. St. Fauziah, M.Si**, beserta dosen dan staf Departemen Kimia yang telah membantu penulis dalam perjalanan menyelesaikan pendidikan ini.
3. Dosen penguji ujian sarjana kimia, yaitu **Dr. Firdaus, M.S** selaku Ketua Tim Penguji, dan **Dr. Maming, M.Si** selaku Sekretaris Tim Penguji.
4. Seluruh **Analisis Laboratorium** di Departemen Kimia, terkhusus untuk **kak Anti** dan **kak Akbar** selaku analis Laboratorium Biokimia atas bantuan serta arahnya selama penelitian berlangsung.
5. Terkhusus untuk **kak Rosida** dan **kak Fajriah** selaku mentor dan tempat bertanya setiap ada kendala dalam penelitian ini, Terima kasih banyak atas bantuan serta arahnya selama penelitian berlangsung.
6. Rekan penelitian **Nurdinda Agustiani Rachmat** yang menjadi alasan untuk mengerjakan penelitian secepatnya dan rekan penelitian biokimia **awal, dion,**

**nikur, bee, indri, afiah, afdal, izzah, madya, midin, yusha, dan dira** Terima kasih atas kerjasama dan bantuannya selama ini.

7. Teman-teman Strong woman, **elya, bee, izzah, mega, mage, yumi, mba ana** Terima kasih atas kerjasama dan bantuannya selama ini.
8. Sahabat-sahabat ribut, tempat mengeluh, tempat curhat, dan selalu ada untuk saya **Izzah, Amal, Midin, Om jimmy, Nisa, dan Bee** Terima kasih telah hadir sebagai penghibur dalam kepenatan, dan penyemangat dalam kemalasan untuk berangkat kuliah dan mengerjakan skripsi ini.
9. **“KROMOFOR 2016”** kalian merupakan saudara seperjuangan di kampus yang tak lelah memberikan motivasi dan dorongan untuk segera menyelesaikan studi.
10. Teman-teman **Kimia 2016** yang merupakan saudara seperjuangan dalam menimba ilmu di jurusan kimia.
11. Semua pihak yang telah banyak membantu penulis selama menyelesaikan penelitian, terima kasih.

Penulis sadar bahwa laporan skripsi ini tidak sempurna dan banyak kekurangan baik materi maupun teknik penulisannya, karena sejatinya kesempurnaan hanyalah milik Allah SWT. Oleh karena itu, penulis berharap saran dan kritikan yang bersifat membangun dari pembaca. Akhir kata penulis berharap semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi siapa saja dalam pengembangan ilmu pengetahuan kimia khususnya bidang biokimia.

Makassar, 15 Juni 2021

Penulis

## ABSTRAK

Xantin oksidase merupakan enzim oksidoreduktase yang mengkatalisis hipoxantin menjadi xantin kemudian menjadi asam urat. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui golongan senyawa yang terdapat pada ekstrak etanol dan air daun salam dan daun sirsak, menentukan efektivitas inhibisinya, dan menentukan tipe inhibisi kombinasi ekstrak. Pengukuran daya inhibisi dilakukan menggunakan metode spektrofotometri pada panjang gelombang 285 nm. Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan diperoleh daya inhibisi ekstrak etanol daun salam dan daun sirsak masing-masing sebesar 28,7 % dan 16,34 %, sedangkan daya inhibisi kombinasi ekstrak etanol daun salam dan daun sirsak perbandingan Sal : Sir (1:3) yaitu 10,32 %. Sebagai pembanding digunakan allopurinol dengan daya inhibisi sebesar 38,18 %. Jenis kinetika inhibisi enzim xantin oksidase kombinasi ekstrak etanol dan air daun salam dan daun sirsak yaitu inhibitor non kompetitif.

**Kata kunci:** Daun salam, daun sirsak, inhibitor, kinetika inhibisi, xantin oksidase.



## ABSTRACT

Xanthine oxidase is an oxidoreductase enzyme that catalyzes hypoxanthine to xanthine and then to uric acid. This study aims to determine class of compounds in ethanolic and water extract in bay leaves and soursop leaves, determine the effectiveness of their inhibition, and determine inhibition type of extract combination. The measurement of inhibition was carried out by spectrophotometric method at a wavelength of 285 nm. Based on the results of the research that has been done, the inhibitory power of the ethanolic extract of bay leaf and soursop leaf is 28.7% and 16.34%, respectively. While the inhibitory power of the combination of ethanol extract of bay leaves and soursop leaves in a ratio of Bay : Soursop (1:3) is 10.32 %. As a comparison, allopurinol with an inhibitory power of 38.18% was used. Types of kinetics of xanthine oxidase enzyme inhibition by a combination of ethanol extract and water from bay leaves and soursop leaves are non-competitive inhibitors.

**Key words:** Bay leaves, soursop leaves, inhibitors, kinetics of inhibition, xanthine oxidase.

## DAFTAR ISI

	<b>Halaman</b>
PRAKATA.....	iv
ABSTRAK.....	vii
ABSTRACT.....	viii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR GAMBAR.....	xiii
DAFTAR TABEL.....	xiv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xv
DAFTAR SIMBOL DAN SINGKATAN.....	xvi
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Maksud dan Tujuan Penelitian.....	5
1.3.1 Maksud Penelitian.....	5
1.3.2 Tujuan Penelitian.....	5
1.4 Manfaat Penelitian.....	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1 Asam Urat.....	6
2.2 Tinjauan Umum Enzim.....	10
2.2.1 Enzim dan Faktor-faktor yang Mempengaruhi Aktivitas..	10
2.2.2 Inhibitor Enzim.....	13
2.2.3 Kinetika Reaksi Enzimatik.....	14
2.2.4 Enzim XO dan Beberapa Penelitian Terkait.....	17
	ix

2.2.4.1	Inhibitor Enzim XO .....	19
2.3	Daun Sirsak.....	19
2.3.1	Klasifikasi dan Karakteristik Fisik Tanaman Sirsak .....	21
2.3.2	Kandungan dan Manfaat Daun Sirsak .....	22
2.4	Daun Salam.....	24
2.4.1	Klasifikasi dan Karakteristik Fisik Tanaman Salam .....	25
2.4.2	Kandungan Senyawa dan Manfaat Daun Salam .....	26
<b>BAB III METODE PENELITIAN.....</b>		<b>29</b>
3.1	Bahan Penelitian .....	29
3.2	Alat Penelitian. ....	29
3.3	Waktu dan Tempat.....	29
3.3.1	Waktu dan Tempat Pengambilan Sampel.....	29
3.3.2	Waktu dan Tempat Penelitian.....	29
3.4	Prosedur Penelitian .....	30
3.4.1	Penyiapan Larutan Uji .....	30
3.4.1.1	Pembuatan Reagen Dragendorff.....	30
3.4.1.2	Pembuatan Larutan FeCl <sub>2</sub> 1 % .....	30
3.4.1.3	Pembuatan Reagen Mayer .....	30
3.4.1.4	Pembuatan Larutan NaOH 0,1 M .....	30
3.4.1.5	Pembuatan HCl 0,1 M .....	31
3.4.1.6	Pembuatan Dikalium Hidrogen Fosfat (K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> ) 0,2 M .....	31
3.4.1.7	Pembuatan Larutan Dikalium Dihidrogen Fosfat 0,2 M .....	31
3.4.1.8	Pembuatan Larutan Substrat Xantin .....	31
3.4.1.9	Pembuatan Larutan Standar Allopurinol .....	32

3.4.1.10	Pembuatan Larutan Standar Asam Urat dan Penentuan Panjang Gelombang Maksimum .....	32
3.4.2	Ekstraksi Komponen Aktif Ekstrak Daun Salam dan Daun Sirsak.....	32
3.4.2.1	Preparasi Sampel .....	32
3.4.2.2	Ekstraksi Daun Salam dan Daun Sirsak dengan Pelarut Etanol.....	33
3.4.3	Uji Kandungan Senyawa pada Ekstrak Daun Salam dan Daun Sirsak .....	33
3.4.3.1	Uji Kandungan Flavonoid.....	33
3.4.3.2	Uji Kandungan Saponin.....	34
3.4.3.3	Uji Kandungan Steroid/Terpenoid.....	34
3.4.3.4	Uji Kandungan Alkaloid.....	34
3.4.3.5	Uji Kandungan Fenolik.....	34
3.4.4	Isolasi Enzim Xantin Oksidase dari Susu Sapi.....	34
3.4.5	Uji Aktivitas Inhibisi Enzim Xantin Oksidase oleh Daun Salam dan Daun Sirsak.....	35
3.4.6	Penentuan Kinetika Inhibisi Ekstrak Daun Salam dan Daun Sirsak .....	36
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....		37
4.1	Ekstraksi Daun Salam dan Daun Sirsak .....	37
4.2	Uji Fitokimia Daun Salam dan Daun Sirsak.....	38
4.3	Isolasi Enzim Xantin Oksidase dari Susu Sapi.....	45
4.4	Penentuan Panjang Gelombang Maksimum.....	46
4.5	Uji Aktivitas Inhibisi Enzim Xantin Oksidase oleh Ekstrak Daun Salam dan Daun Sirsak .....	47
4.6	Uji Kinetika Ekstra Kasar Enzim Xantin Oksidase dan Kinetika Inhibisi Ekstrak Daun Salam, Daun Sirsak, dan Kombinasi Ekstrak Daun Salam dan Daun Sirsak...	52
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....		56

5.1	Kesimpulan .....	56
5.2	Saran .....	56
	DAFTAR PUSTAKA .....	57
	LAMPIRAN .....	69

## DAFTAR GAMBAR

<b>Gambar</b>	<b>Halaman</b>
1. Struktur Asam Urat .....	6
2. Metabolisme Asam Urat .....	9
3. Pengaruh Suhu Terhadap Aktivitas Enzim .....	11
4. Pengaruh pH Terhadap Aktivitas Enzim .....	12
5. Grafik Persamaan Michaelis-Menten .....	17
6. Struktur Allopurinol .....	19
7. Daun Sirsak .....	22
8. Daun Salam .....	26
9. Reaksi Uji Dragendorff .....	40
10. Reaksi Uji Mayer .....	40
11. Reaksi Uji Flovonoid .....	42
12. Reaksi Uji FeCl <sub>3</sub> dengan Tanin .....	44
13. Diagram % Inhibisi Ekstrak Daun Salam .....	48
14. Diagram % Inhibisi Ekstrak Daun Sirsak .....	49
15. Diagram % Inhibisi Kombinasi Ekstrak Daun Sirsak dan Daun Salam	51

## DAFTAR TABEL

<b>Tabel</b>	<b>Halaman</b>
1. Beberapa Penelitian Terkait Inhibisi XO .....	18
2. Hasil Analisa Proksimat Daun Sirsak .....	24
3. Komposisi gizi per 100 gr Daun Salam .....	27
4. Hasil Ekstraksi Daun Salam dan Daun Sirsak .....	37
5. Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Etanol dan Ekstrak Air Daun Salam dan Daun Sirsak .....	38
6. Aktivitas Ekstrak Kasar Enzim Xantin Oksidase terhadap Variasi Konsentrasi Substrat .....	53
7. Aktivitas Enzim pada Berbagai Variasi Substrat dengan Penambahan Ekstrak Etanol Daun Salam dan Daun Sirsak 25 ppm .....	53
8. Aktivitas Enzim pada Berbagai Variasi Substrat dengan Penambahan Ekstrak Air Daun Salam dan Daun Sirsak 25 ppm .....	54
9. Hasil Perhitungan Nilai $V_{maks}$ dan $K_m$ Ekstrak Etanol dan Air Daun Salam dan Daun Sirsak .....	54
10. Hasil Perhitungan Nilai $V_{maks}$ dan $K_m$ Kombinasi Ekstrak Etanol dan Air Daun Salam dan Daun Sirsak.....	55

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Diagram Alir Penelitian .....	69
2. Preparasi Sampel dan Ekstraksi Sampel .....	70
3. Uji Fitokimia Ekstrak Daun Sirsak dan Daun Salam .....	71
4. Isolasi Enzim Xantin Oksidase .....	72
5. Pembuatan Larutan Standar Asam Urat & Penentuan $\lambda_{maks}$ .....	73
6. Uji Aktivitas Inhibisi Enzim Xantin Oksidase oleh Ekstrak Daun Sirsak dan Daun Salam .....	74
7. Uji Kinetika Inhibisi Enzim Xantin Oksidase oleh Ekstrak Daun Sirsak dan Daun Salam .....	75
8. Perhitungan Pembuatan Allopurinol, Substrat Xantin, dan Persen Rendemen Ekstrak Daun Salam dan Daun Sirsak .....	76
9. Perhitungan Konsentrasi Asam Urat, Aktivitas Enzim XO dan Persen Inhibisi .....	78
10. Data Inhibisi Ekstrak Etanol dan Ekstrak Air Daun Salam dan Daun Sirsak, Ekstrak Kombinasi Daun Salam dan Daun dan Allopurinol .....	79
11. Kurva Standar Asam Urat dan Grafik Hubungan Konsentrasi Ekstrak Daun Salam dan Daun Sirsak VS Daya Inhibisi .....	81
12. Penentuan Kinetika Inhibisi Ekstrak Kasar Enzim Xantin Oksidase terhadap Ekstrak Daun Salam dan Daun Sirsak .....	83
13. Dokumentasi Penelitian .....	93



## DAFTAR SIMBOL DAN SINGKATAN

dL	= desiliter
PRPP	= <i>phosphoribosyl pyrophosphate</i>
WHO	= World Health Organization
AMP	= Adenonsin Monofosfat
GMP	= Guanosin Monofosfat
IMP	= Inosin monofosfat
XO	= Xantin Oksidase
kkal	= kilokalori
IC <sub>50</sub>	= <i>Inhibition Concentration 50%</i>
rpm	= <i>rotation per minute</i>
mM	= milimol
pH	= <i>potensial hydrogen</i>
mU/mL	= miliunit/mililiter
K <sub>M</sub>	= Tetapan Michaelis-Menten
V <sub>maks</sub>	= Kecepatan Maksimum
Sal	= Salam
Sir	= Sirsak

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **1.1 Latar Belakang**

Xantin oksidase merupakan enzim oksidoreduktase (Tang dkk., 2014) yang mengkatalisis hipoxantin menjadi xantin kemudian menjadi asam urat (Briley dan Eisenthal, 1974; Putri dkk., 2016; Setiawan dan Nurjannah, 2018) yang terdapat di dalam hati dan jaringan otot pada manusia (Djakad, 2020). Sebanyak 85 % senyawa purin dibutuhkan manusia untuk kebutuhan sehari-hari (Artini, 2012) sebagai hasil penghancuran dari sel-sel yang sudah tua atau sintesis dari CO<sub>2</sub>, glisin, asam aspartat, glutamin, dan asam folat (Dalimartha, 2008). Selain itu, enzim ini tersebar luas di berbagai spesies seperti bakteri, tumbuhan tingkat tinggi, vertebrata, dan invertebrata (Briley dan Eisenthal, 1974). Enzim xantin oksidase dapat ditemukan dalam susu sapi segar pada membran-membran di sekitar globula lemak (Briley dan Eisenthal, 1974). Selain itu, enzim xantin oksidase juga ditemukan pada susu dari berbagai spesies lainnya, seperti domba, kambing, kucing, kuda, monyet (Zikakis dan Wooters, 1980), dan kerbau (Gadave dkk., 2014).

Asam urat (C<sub>5</sub>H<sub>4</sub>N<sub>4</sub>O<sub>3</sub>) merupakan produk akhir dari metabolisme purin yang terjadi secara terus menerus seiring dengan sintesis dan penguraian komponen asam nukleat di dalam tubuh yang kemudian dilepaskan ke dalam peredaran tubuh (Dalimartha, 2008). Konsentrasi rata-rata asam urat dalam darah pada pria normal sekitar <7 mg/dL sedangkan untuk wanita normal <6 mg/dL (Karwur dan Pujiastuti, 2017). Pada kondisi tertentu dapat terjadi peningkatan asam urat dalam darah yang melebihi batas normal disebut hiperurisemia (Hafez dkk., 2017; Putri dkk., 2016).

Hal ini terjadi karena adanya pengendapan di persendian dan pembentukan kristal kecil (Ernawati dan Susanti, 2014), menimbulkan rasa nyeri, dapat mengalami pembesaran, dan penonjolan sehingga menyebabkan pembengkakan pada sendi (Walker dan Whittlesea, 2012). Hiperurisemia terjadi ketika produksi asam urat yang berlebih atau pembuangannya yang berkurang (Dalimartha, 2008). Selain itu, meningkatnya produksi asam urat disebabkan karena konsumsi makanan atau minuman tinggi purin, seperti protein hewani, kacang-kacangan, dan minuman beralkohol. Hiperurisemia yang berkepanjangan dapat menyebabkan gout (Putri dkk., 2016) dan pembentukan batu ginjal (Neogi dkk., 2015).

Salah satu terapi penurunan produksi asam urat dalam tubuh adalah penghambatan kerja enzim XO yang umumnya menggunakan obat-obatan sintetik, seperti Allopurinol. Allopurinol merupakan suatu analog asam urat, bekerja menghambat pembentukan asam urat dari prekursornya (xantin dan hipoxantin) dengan menghambat aktivitas enzim XO (Price dan Wilson, 2005). Akan tetapi, allopurinol memiliki beberapa efek samping yaitu menyebabkan kantuk, sakit kepala, muntah, mual, dan diare (Smart, 2014), reaksi alergi serta gagal ginjal dan hati (Yulian, 2014). Hal lain yang kadang terjadi adalah toksisitas pada gastrointestinal dan peningkatan serangan akut gout pada awal terapi (Dipiro dkk., 2005).

Banyaknya efek samping dari penggunaan obat sintesis, seperti Allopurinol membuat masyarakat menggunakan tanaman obat sebagai obat tradisional karena memiliki efek samping yang relatif kecil, mudah didapatkan, dan harganya lebih murah dibandingkan dengan obat sintesis (Ernawati dan Susanti, 2014). *World Health Organization* (WHO) juga merekomendasikan penggunaan obat herbal

dalam pengobatan penyakit karena dinilai lebih aman dibandingkan dengan obat sintetik (Setiawan dan Nurjannah, 2018).

Indonesia memiliki keanekaragaman biodiversitas yang bermanfaat sebagai tumbuhan obat dan juga kekayaan kearifan lokal yang cukup banyak seperti jamu dan ramuan obat tradisional lainnya (Yulian, 2014). Beberapa keanekaragaman hayati yang dimiliki Indonesia dan berpotensi sebagai inhibitor XO adalah daun salam (*Syzygium polyanthum*) (Asmira dkk., 2020; Djohari dkk., 2015; Hasanah, 2017; Kristianto, 2018), dan daun sirsak (*Annona muricata* L.) (Gustomi dan Wahyuningsih, 2016; Slamet dkk., 2017).

Penelitian yang telah dilakukan sebelumnya menyatakan bahwa daun salam dan daun sirsak mengandung metabolit sekunder berupa flavonoid, alkaloid, tanin, dan minyak atsiri (Djohari dan Paramitha, 2015; Setiawan dan Nurjannah, 2018; Slamet dkk., 2017). Flavonoid merupakan metabolit sekunder yang berpotensi sebagai inhibitor XO dan memiliki kemiripan struktur dengan xantin (Wulandari dkk., 2012). Flavonoid menghambat aktivitas enzim XO melalui interaksi dengan enzim pada gugus samping (Yulianto, 2009).

Menurut Putri dkk., (2016) ekstrak metanol kulit rambutan (*N.lappaceum*) memiliki nilai  $IC_{50}$  sebesar 3,71  $\mu\text{g/mL}$ . Ekstrak etil asetat biji jinten hitam dosis 200 mg/kg BB menunjukkan aktivitas antihiperurisemia tertinggi yaitu ( $56,12 \pm 19,49$  %) dibanding ekstrak n-heksana ( $25,84 \pm 8,91$  %) (Kusuma dkk., 214). Menurut Muflihat (2008), daya inhibisi ekstrak etanol daun salam pada konsentrasi 30 ppm yaitu 21,9 %, sedangkan penelitian oleh Kristianto (2018) daya inhibisi ekstrak etanol daun salam diperoleh rata-rata nilai  $IC_{50}$  sebesar 24,263  $\mu\text{g/mL}$ . Penelitian oleh Slamet dkk., (2017) menunjukkan aktivitas penghambatan xantin

oksidase paling baik ditunjukkan oleh ekstrak etanol 96 % daun sirsak 20 ppm sebesar 58,60 %. Pada penelitian ini pelarut yang digunakan adalah etanol 96 % dan air. Etanol digunakan berdasarkan senyawa yang akan diambil. Etanol sifatnya semi polar sehingga senyawa yang bersifat semi polar maupun polar yang terdapat pada sampel dapat terekstraksi. Selain itu, etanol memiliki kelebihan yang lebih efektif, relatif tidak toksis, dan mudah didapatkan (Sari dkk., 2018). Selanjutnya, pelarut air digunakan sebagai pembanding dan air merupakan pelarut yang umum digunakan serta mudah didapatkan.

Secara lebih lanjut, belum ada penelitian mengenai pemanfaatan kombinasi ekstrak etanol daun sirsak dan daun salam sebagai obat asam urat. Oleh karena itu, dalam penelitian ini dilakukan pengujian inhibisi enzim xantin oksidase dari susu sapi yang telah diketahui karakteristiknya sesuai penelitian oleh Fajriah (2020) oleh kombinasi ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* Linn) dan daun salam (*Syzygium polyanthum*) untuk menghambat kerja enzim xantin oksidase sehingga dapat menurunkan asam urat pada penderita hiperurisemia.

## **1.2 Rumusan Masalah**

Berdasarkan latar belakang di atas, dapat dikemukakan rumusan masalah dari penelitian ini, yaitu:

1. golongan senyawa apa yang terdapat dalam ekstrak etanol dan air pada daun salam dan daun sirsak?
2. bagaimana efektivitas inhibisi ekstrak etanol dan air daun salam, daun sirsak, dan kombinasi ekstrak etanol dan air terhadap xantin oksidase?
3. bagaimana tipe penghambatan kombinasi ekstrak etanol dan air daun salam dan daun sirsak terhadap enzim xantin oksidase?

### **1.3 Maksud dan Tujuan Penelitian**

#### **1.3.1 Maksud Penelitian**

Penelitian ini bermaksud untuk mengetahui komponen aktif dalam ekstrak etanol dan air daun salam dan daun sirsak, menganalisis proses inhibisi terhadap enzim XO serta mengetahui tipe inhibisinya.

#### **1.3.2 Tujuan Penelitian**

Berdasarkan rumusan masalah yang telah dirumuskan maka tujuan dari penelitian ini, yaitu:

1. mengetahui golongan senyawa yang terdapat dalam ekstrak etanol dan air daun salam dan daun sirsak dengan uji fitokimia.
2. menentukan efektivitas inhibisi xantin oksidase terhadap ekstrak etanol dan air daun salam dan daun sirsak serta kombinasinya.
3. menentukan tipe penghambatan kombinasi ekstrak etanol dan air daun salam dan daun sirsak.

### **1.4 Manfaat Penelitian**

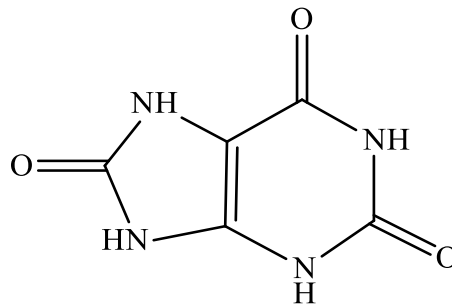
Manfaat dari penelitian ini, yaitu memberikan informasi mengenai jenis metabolit sekunder yang terdapat dalam daun salam dan daun sirsak yang dapat menghambat aktivitas enzim xantin oksidase dan dapat digunakan sebagai obat asam urat.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Asam Urat

Asam urat atau 7,9-dihidro-1H-purin-2,6,8(3H)-trion atau dengan nama lain 2,6,8-trioksipurin adalah hasil produksi oleh tubuh yang merupakan hasil akhir metabolisme purin. Asam urat memiliki rumus struktur  $C_5H_4N_4O_3$  seperti pada **Gambar 1** bersifat asam lemah, sangat sukar larut dalam air, dan mampu mengalami dekomposisi dengan pemanasan (Gustiansyah, 2012). Keadaan dimana terjadi peningkatan asam urat normal dalam tubuh disebut hiperurisemia. Hasil pemeriksaan kadar asam urat yang tinggi dalam darah  $>7$  mg/dL. Kadar asam urat normal dalam serum pada pria adalah 7 mg/dL dan pada wanita 6 mg/dL. Kadar asam urat pada orang dewasa cenderung meningkat dengan bertambahnya usia, berat badan, tekanan darah, konsumsi alkohol, dan gangguan fungsi ginjal (Naid dkk., 2014).



**Gambar 1.** Struktur Asam Urat (Jin dkk., 2012)

Purin adalah protein golongan nukleo-protein (Gustiansyah, 2012). Purin didapat dari makanan dan juga berasal dari penghancuran sel-sel tubuh yang sudah tua. Makanan kaya purin, fruktosa, dan minuman beralkohol merupakan faktor konsumsi yang meningkatkan kadar asam urat darah. Dari

segi genetik, gen-gen yang terlibat pada jalur biosintesis namun terutama pada gen-gen yang berkaitan dengan sekresi asam urat di ginjal dan saluran gastrointestinal (pendarahan saluran pencernaan), serta gen-gen yang bertanggung-jawab dalam reabsorpsi asam urat di ginjal yang menentukan keadaan hiperurisemik. Dari segi antropometrik, seperti umur, jenis kelamin, dan adipositas (kelebihan lemak pada tubuh) mempengaruhi kadar asam urat (Boleu dkk., 2019).

Proses metabolisme purin dapat terjadi didalam tubuh melalui proses oksidasi hipoxantin menjadi xantin kemudian menjadi asam urat dan kelebihan asam urat akan dibuang melalui ginjal, urin, dan usus. Hiperurisemia yang berkepanjangan dapat menyebabkan timbulnya penyakit gout atau pirai. Namun, tidak semua hiperurisemia akan menimbulkan kelainan patologi berupa gout. Penyakit gout adalah salah satu tipe dari arthritis (reumatik) disebabkan karena tubuh tidak bisa mengekresikan asam urat secara normal, sehingga menimbulkan nyeri hebat pada bagian sendi, seperti mata kaki, lutut, pergelangan tangan, dan siku. Hal tersebut disebabkan karena terbentuknya kristal-kristal dari monosodium urat monohidrat (bentuk garam dari asam urat yang terbentuk) yang terdapat pada sendi-sendi dan jaringan sekitarnya (Misnadiarly, 2008).

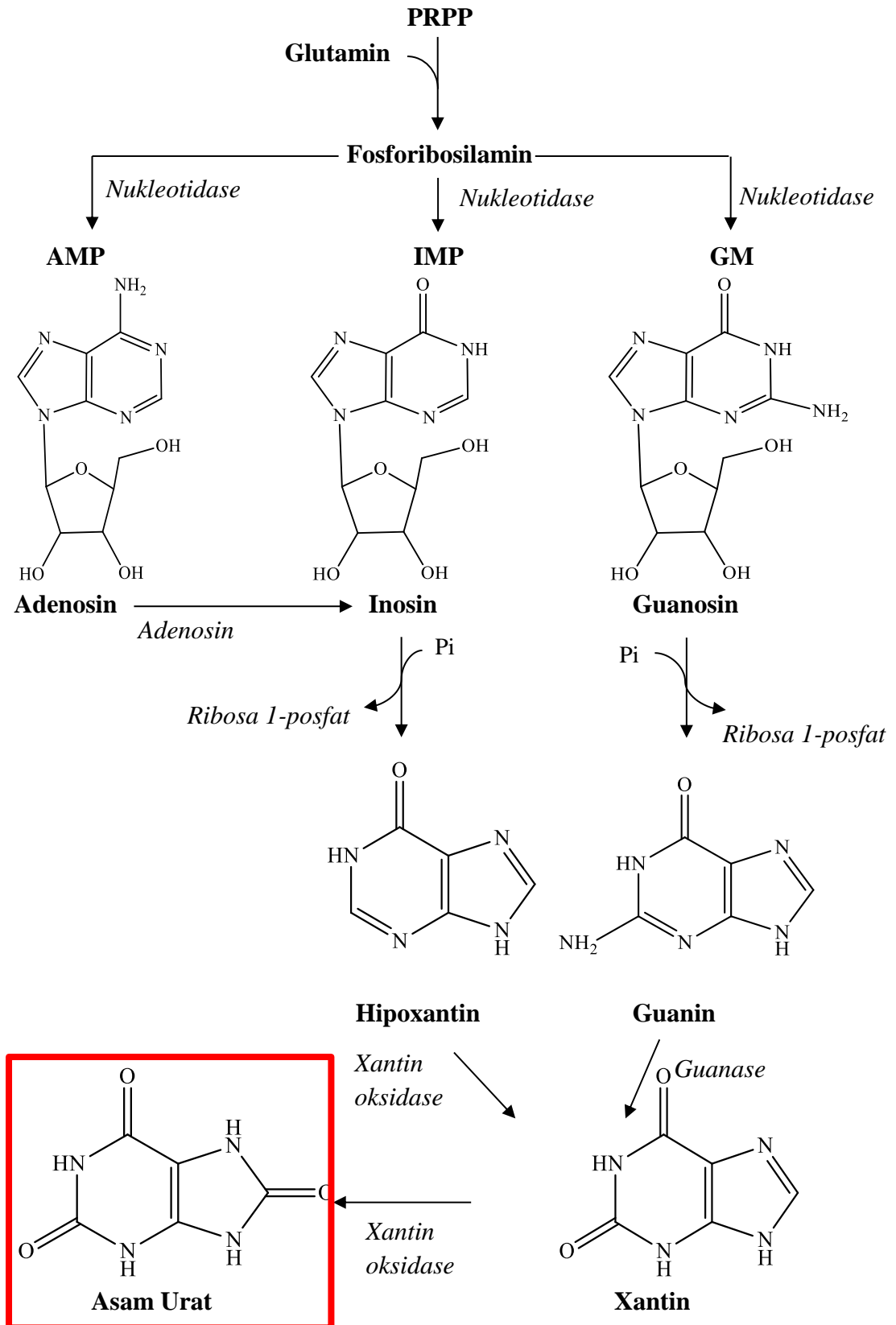
Proses metabolisme asam urat dibentuk dari degradasi protein menjadi asam amino. Asam amino akan didegradasi membentuk glutamat. Glutamat akan dimetabolisme membentuk glutamin. Ketika glutamin mengalami reaksi dengan *phosphoribosyl pyrophosphate* (PRPP) akan membentuk fosforibosilamin. PRPP merupakan suatu gula derivatif dari ribosa-5-fosfat dan kunci sintesa purin, berarti juga asam urat. Fosforibosilamin merupakan prekursor untuk pembentukan nukleotida purin. Nukleotida purin digunakan



untuk sintesis DNA dan RNA. Bentuk nukleotida purin yang terbentuk pertama kali adalah inosin monofosfat (IMP) (Murray dkk., 2009).

IMP akan dikonversi menjadi adenosin monofosfat (AMP) dan guanosin monofosfat (GMP). AMP dan GMP merupakan nukleotida purin yang terdapat pada manusia dan dapat dipecah menjadi bentuk nukleosida yaitu adenosin dan guanosin melalui hidrolisis oleh nukleotidase. IMP juga dapat membentuk suatu nukleosida yaitu inosi melalui hidrolisis oleh nukleotidase. Adenosin akan mengalami deaminase menjadi inosin oleh enzim *adenosine deaminase*. Pada inosin dan guanosin akan terjadi peristiwa fosforilasi ikatan N-glikosidat yang dikatalis oleh nukleosida purin fosforilase dengan melepaskan senyawa ribosa-1-fosfat dan basa purin (hipoxantin, guanin). Senyawa ribosa-1-fosfat yang terbentuk dapat mengalami isomerase oleh fosforibomutase menjadi ribosa-5-fosfat dan akan diubah menjadi PRPP kembali. Sedangkan basa purin yaitu hipoxantin dan guanin akan membentuk xantin yang masing-masing dikatalisis dengan enzim xantin oksidase dan guanase. Xantin yang terbentuk akan dikatalisis kembali oleh *xanthine oxidase* membentuk asam urat. Proses metabolisme asam urat terlihat pada **Gambar 2** (Mardiningsih, 2017; Murray dkk., 2009).

Wanita dan Pria memiliki perbedaan konsentrasi asam urat dalam darah, perbedaan ini didasari atas faktor fisiologi yang mempengaruhi metabolisme asam urat di dalam tubuh. Berdasarkan beberapa penelitian, makanan tertentu, seperti daging merah, *seafood*, dan jeroan berkontribusi tinggi terhadap peningkatan asam urat pada plasma. Bukan hanya makanan, minuman beralkohol dan minuman dengan kandungan fruktosa yang tinggi juga meningkatkan kadar asam urat dalam tubuh (Karwur dan Pujiastuti, 2017).



**Gambar 2.** Metabolisme Asam Urat (Murray dkk., 2009).

Mengonsumsi makanan tinggi purin akan meningkatkan asam urat sebesar 1-2 mg/dL, 213-290 g/hari minuman berfruktosa meningkatkan 0,52-1,7 mg/dL, 1.5 g/kgBW sukrosa meningkatkan 0,61 mg/dL, dan 10-20 mL/kgBW bir meningkatkan 0,50-0,92 mg/dL. Seiring dengan bertambahnya usia, akumulasi dari asam urat semakin bertambah seiring dengan berkurangnya fungsi organ (Karwur dan Pujiastuti, 2017).

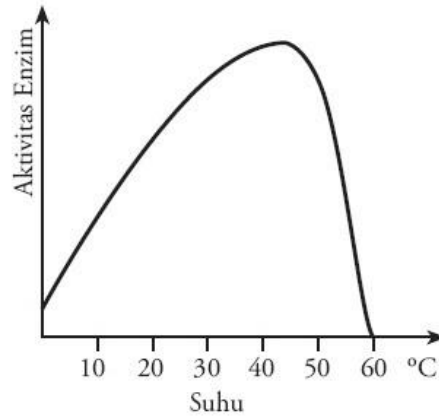
## **2.2 Tinjauan Umum Enzim**

### **2.2.1 Enzim dan Faktor-faktor yang Mempengaruhi Aktivasinya**

Enzim adalah polimer biologis yang mengkatalisis reaksi kimia yaitu perubahan satu atau lebih senyawa (substrat) menjadi satu atau lebih senyawa lain (produk) dengan meningkatkan laju reaksi setidaknya  $10^6$  kali dibandingkan jika tidak dikatalisis. Enzim merupakan katalisis yang selektif dan sangat spesifik. Di dalam sel enzim tidak terdistribusi merata di seluruh plasma, namun terkonsentrasi pada organela-organela tempat terjadinya reaksi. Misalnya enzim yang berkaitan dengan reaksi Calvin dan Krebs berkumpul di mitokondria dan kloroplas. Enzim yang dibutuhkan dalam sintesis DNA dan RNA serta untuk proses mitosis terdistribusi di dalam inti sel. Enzim-enzim di dalam sel akan bekerja secara berkesinambungan. Hal tersebut berarti produk suatu tahap reaksi akan dibebaskan pada tempat dimana produk ini dapat segera dikonversi oleh enzim lain berikutnya. Enzim mengatur kecepatan dan kekhususan ribuan reaksi kimia yang berlangsung di dalam sel. Walaupun enzim dibuat di dalam sel, tetapi untuk bertindak sebagai katalis tidak harus berada di dalam sel. Reaksi yang dikendalikan oleh enzim antara lain ialah respirasi, pertumbuhan dan perkembangan, kontraksi otot, fotosintesis, fiksasi nitrogen, dan pencernaan (Harahap, 2012).

Aktivitas enzim menurut Sutrisno (2017) secara umum dipengaruhi oleh beberapa faktor, yaitu:

1. Suhu



**Gambar 3.** Pengaruh Suhu Terhadap Aktivitas Enzim (Sutrisno, 2017)

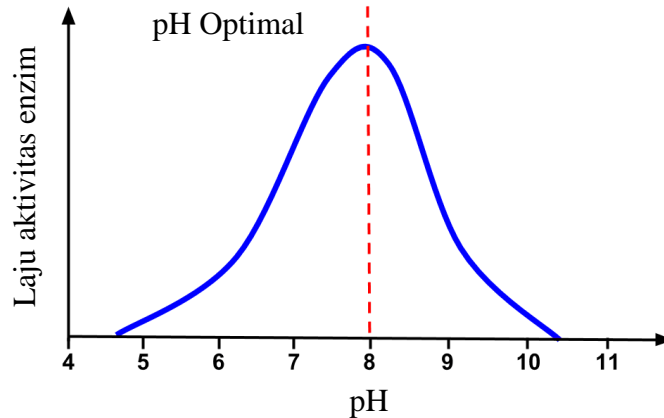
Apabila suhu mengalami peningkatan maka molekul-molekul akan memiliki energi kinetik yang semakin besar sehingga “pertemuan” antar molekul semakin meningkat, akibatnya kecepatan reaksi meningkat. Kecepatan reaksi akan mencapai maksimal pada titik disebut temperatur optimum. Diatas titik temperatur optimum kecepatan reaksi akan menurun karena terjadinya proses denaturasi (**Gambar 3**).

Tiap enzim memiliki karakteristik yang berbeda terhadap temperatur dan biasanya sangat ditentukan oleh mikroorganismenya di mana enzim tersebut diisolasi dan diproduksi. Mikroorganismenya mesofilik akan menghasilkan enzim-enzim tidak tahan panas, namun mikroorganismenya termofilik atau hipertermofilik biasanya menghasilkan enzim-enzim yang sangat termostabil. Contohnya: DNA *polymerase* yang diproduksi oleh *Thermus aquaticus*.

2. Derajat Keasaman (pH)

Setiap enzim memiliki karakteristik berbeda terkait dengan pH lingkungannya. Sebagian besar enzim aktif dalam kisaran pH 4,5-8, beberapa

sangat aktif pada pH rendah (misalnya: pepsin). pH dengan aktivitas maksimum disebut pH optimum. Perubahan pH dapat menyebabkan pecahnya ikatan dan mengubah konformasi (bentuk) enzim, termasuk aktvitasnya (Gambar 4).



**Gambar 4.** Pengaruh pH Terhadap Aktivitas Enzim (Sutrisno, 2017)

### 3. Aktivator dan Inhibitor

Beberapa enzim memerlukan aktivator dalam reaksi katalisnya. Aktivator adalah senyawa atau ion yang dapat meningkatkan kecepatan reaksi enzimatik. Komponen kimia yang membentuk enzim disebut juga kofaktor. Kofaktor tersebut dapat berupa ion-ion anorganik seperti Zn, Fe, Ca, Mn, Cu, Mg atau dapat pula sebagai molekul organik kompleks yang disebut koenzim (Martoharsono, 1997).

Inhibitor merupakan suatu molekul yang menghambat ikatan enzim dengan substratnya. Beberapa bahan kimia seperti ion logam dapat menghambat aktivitas enzim, contohnya adalah ion sianida. Ion sianida menutupi sisi aktif enzim yang terlibat dalam respirasi.

### 4. Konsentrasi Enzim dan Substrat

Peningkatan konsentrasi enzim atau substrat akan meningkatkan kecepatan reaksi. Pada konsentrasi enzim tertentu, kecepatan reaksi enzimatik akan

meningkat dengan meningkatnya substrat, namun pada suatu titik penambahan konsentrasi substrat tidak akan meningkatkan kecepatan reaksi, karena enzim telah mengalami kejenuhan.

### **2.2.2 Inhibitor Enzim**

Inhibitor enzim adalah suatu senyawa yang dapat menurunkan kecepatan reaksi melalui pengikatan dengan enzim (Marks dkk., 1996). Berdasarkan reaksi kimianya inhibitor dapat bersifat reversibel atau ireversibel. Inhibitor ireversibel umumnya berikatan dengan enzim yang mengubahnya secara kimia, misalnya dengan pembentukan ikatan kovalen. Sebaliknya inhibitor reversibel mengikat enzim secara nonkovalen (Ikawati, 2018; Marks dkk., 1996). Inhibitor ireversibel biasanya mengikat enzim secara kovalen sehingga inhibisinya tidak bisa kembali. Inhibitor ireversibel sering mengandung gugus fungsional yang reaktif seperti mustard nitrogen aldehyd, haloalkana, fenilsulfonat, dan fluorofosfonat. Gugus elektrofilik ini bereaksi dengan rantai asam amino pada enzim membentuk ikatan kovalen. Inhibitor ini umumnya spesifik untuk suatu golongan enzim tertentu (Ikawati, 2018). Ada beberapa jenis inhibitor reversibel antara lain:

1. Inhibitor kompetitif yaitu inhibitor yang bersaing dengan substrat untuk mendapatkan sisi aktif dari enzim (Sutrisno, 2017). Inhibitor ini memiliki senyawa yang mirip dengan substrat dan memiliki tempat ikatan yang sama dengan substrat terhadap enzim, sehingga mereka tidak bisa berikatan dengan enzim di sisi yang sama. Inhibisi jenis ini dapat diatasi dengan peningkatan konsentrasi substrat (Ikawati, 2018). Jika konsentrasi substrat ditingkatkan, tempat pengikatan substrat akan ditempati oleh substrat

sehingga tidak ada inhibitor yang terikat. Oleh karena itu, inhibitor kompetitif meningkatkan  $K_m$  enzim, tetapi tidak  $V_{maks}$  (Marks dkk., 1996).

2. Inhibitor Non-kompetitif yaitu inhibitor tidak berebut sisi aktif, tapi terikat pada sisi lain enzim yang mengakibatkan perubahan bentuk enzim dan sisi aktif tidak dapat berfungsi, sehingga aktivitas enzim terhambat (Sutrisno, 2017). Kekuatan inhibisi tergantung pada konsentrasi inhibitor (Ikawati, 2018). Inhibitor nonkompetitif akan selalu mengubah  $V_{maks}$  enzim dan dapat mengubah  $V_{m.app}$  ( $1/K'_m$ ) melalui pengikatan dengan afinitas berbeda dengan bentuk enzim yang berbeda pula (Marks dkk., 1996).
3. Inhibitor unkompetitif/inkompetitif dalam kaitannya dengan substrat pada reaksi multisubstrat. Inhibitor ini hanya berikatan dengan kompleks enzim-substrat (ES) (Ikawati, 2018; Marks dkk., 1996). Substrat pertama yang terikat akan menyebabkan perubahan konformasi yang membuka tempat pengikatan kedua bagi kosubstrat atau inhibitor. Inhibitor ini menurunkan  $K_m$  dan  $V_{maks}$  (Marks dkk., 1996).
4. Inhibitor campuran yaitu inhibitor yang dapat mengikat enzim pada saat yang sama dengan substrat, tetapi pada tempat ikatan yang berbeda. Ikatan ini disebut ikatan alosetrik. Inhibisi jenis ini dapat dikurangi dengan peningkatan konsentrasi substrat (Ikawati, 2018).

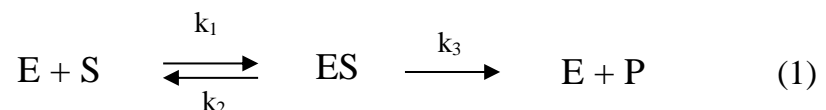
### **2.2.3 Kinetika Reaksi Enzimatik**

Kinetika enzim merupakan suatu cara kuantitatif untuk menjelaskan enzim dalam kaitannya dengan ketergantungan enzim terhadap konsentrasi substrat (Marks dkk., 1996). Kinetika enzim dipengaruhi oleh laju reaksi enzimatik. Faktor-faktor yang mempengaruhi laju reaksi enzimatik adalah konsentrasi

substrat dan enzim, demikian pula faktor-faktor lain seperti pH, suhu, dan ada tidaknya kofaktor dan ion logam (Kuchel dan Ralston, 2006).

Persamaan Michaelis-Menten mendukung analisis terhadap adanya ketergantungan laju reaksi substrat dan konsentrasi enzim. Mekanisme ini menyatakan bahwa apabila enzim dan substrat dikombinasikan, maka akan memberikan sebuah enzim-substrat kompleks, diasumsikan reaksinya bersifat reversibel dan berlangsung sangat cepat, dengan tidak adanya perubahan kimia yang ditemukan pada substrat (Andini, 2009).

Substrat dipengaruhi oleh gaya (dorongan) secara fisik dari enzim. Sifat kompleks ini kemudian mengakibatkan terjadinya perubahan kimia, menghasilkan pembentukan produk dan pelepasan produk oleh enzim dengan orde pertamanya tergantung terhadap konsentrasi enzim-substrat kompleks. Secara sistematis, mekanisme reaksi Michaelis-Menten dapat dituliskan seperti pada **Persamaan 1** (Andini, 2009):



Enzim E bereaksi dengan substrat (S) membentuk kompleks enzim-substrat (ES), selanjutnya dilepaskan produk (P). dimana  $k_1$  yaitu konstanta laju reaksi pembentukan enzim-substrat kompleks,  $k_2$  yaitu konstanta laju reaksi penguraian substrat yang tak berubah dalam enzim, dan  $k_3$  yaitu konstanta laju reaksi pembentukan produk yang terpisah dari enzim (Andini, 2009).

Salah satu hal yang diperlukan agar reaksi enzimatik dapat berjalan efisien ialah dengan memperkirakan jumlah substrat yang diperlukan. Unsur kunci di dalam persamaan Michaelis-Menten adalah  $K_m$ , yang bersifat khas bagi enzim

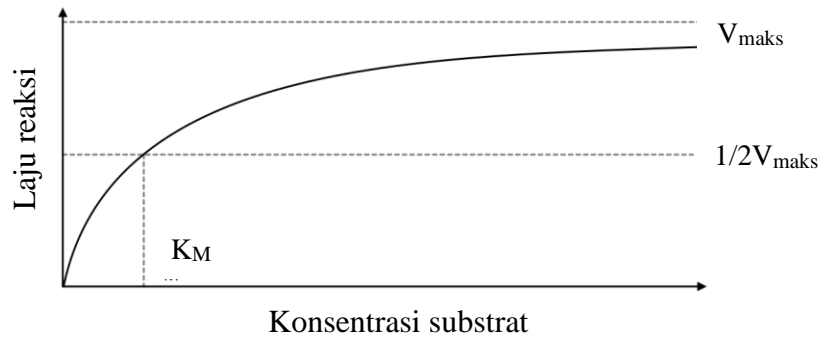


tertentu dengan substrat spesifik pada kondisi pH dan suhu tertentu. Nilai  $K_m$  (Konstanta Michaelis-Menten) dapat digunakan untuk memperkirakan jumlah substrat. Mengetahui nilai  $K_m$  dan  $V_{maks}$  suatu enzim maka dapat dilakukan optimalisasi penggunaan enzim tersebut sebagai biokatalisator dalam reaksi pemecahan substrat menjadi produk. Nilai  $K_m$  dihitung dengan mengukur kecepatan reaksi yang dikatalisis oleh enzim dalam berbagai konsentrasi minyak dengan pH, temperatur, dan waktu inkubasi optimum (Ratnayani dkk., 2015).

Model kinetika enzim Michaelis-Menten kecepatan reaksi sebanding dengan konsentrasi kompleks enzim-substrat. Model ini berlaku bagi reaksi yang paling sederhana, pengubahan substrat tunggal menjadi produk tunggal. Makin tinggi konsentrasi substrat, makin tinggi konsentrasi ES, makin tinggi kecepatan reaksi. Namun, seiring dengan peningkatan fraksi enzim total yang berada dalam bentuk ES, diperlukan peningkatan S yang lebih besar secara progresip untuk meningkatkan konsentrasi ES dalam jumlah yang sama. Oleh karena itu, persamaan Michaelis-Menten adalah suatu hiperbola rektangulardan  $v_i$  mendekati kecepatan maksimum ( $V_{maks}$ ) pada konsentrasi substrat tak-terhingga dapat dilihat pada **Persamaan 2** dan **Gambar 5** (Marks dkk., 1996).

$K_m$  enzim untuk suatu substrat didefinisikan sebagai konsentrasi substrat dimana  $v_i$  sama dengan setengah  $V_{maks}$ .  $K_m$  biasanya setara dengan  $(k_2 + k_3)/k_1$  atau kombinasi konstanta dengan kecepatan yang lebih kompleks dimana kecepatan disosiasi muncul dibagian pembilang dan kecepatan pengikatan dibagian penyebut. Secara umum, makin tinggi  $k_m$  maka makin tinggi konsentrasi substrat yang diperlukan untuk mencapai setengah  $V_{maks}$  (Marks dkk., 1996).

$$V_i = \frac{V_{max} [S]}{K_M + [S]} \quad (2)$$



**Gambar 5.** Grafik Persamaan Michaelis-Menten (Marks dkk., 1996).

#### 2.2.4 Enzim Xantin Oksidase dan Beberapa Penelitian Terkait

Xantin oksidase (XOD, EC. 1.2.3.2) atau enzim XO terletak di ujung urutan katabolik metabolisme nukleotida purin pada manusia dan beberapa spesies urikotelik lainnya. Xantin oksidase merupakan suatu kompleks enzim yang terdiri dari molekul-molekul protein yang tiap molekulnya tersusun atas 2 mol FAD, 2 mol atom Mo, dan 8 mol atom Fe. Enzim ini terdapat pada hati dan jaringan otot dalam tubuh manusia serta berperan penting dalam katabolisme purin yakni mengoksidasi hipoxantin menjadi xantin dan selanjutnya menjadi asam urat. Satu unit enzim xantin oksidase dapat mengkonversi satu  $\mu\text{mol}$  substrat (xantin) menjadi asam urat tiap satu menit pada pH optimum (Mardiningsih, 2017). Fungsi utamanya adalah untuk mengkatalisasi oksidasi hipoksantin menjadi xantin dan xantin menjadi asam urat. Produksi asam urat yang berlebihan dapat menyebabkan hiperurisemia. Hiperurisemia dapat dikaitkan dengan asam urat, karena deposisi asam urat pada sendi yang menyebabkan peradangan yang menyakitkan. Dengan demikian, penggunaan penghambat XOD yang menghambat sintesis asam urat dalam tubuh harus menjadi salah satu pendekatan terapeutik untuk pengobatan hiperurisemia. Penggunaan tanaman botani

mendapatkan minat baru sehubungan dengan pengobatan beberapa jenis gangguan klinis (Unno dkk., 2004).

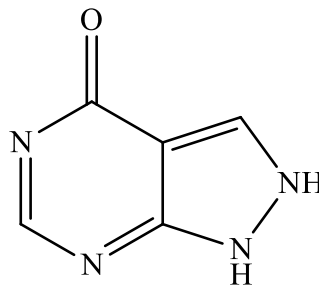
Enzim *xantin oksidase* berperan dalam metabolisme purin yang berasal dari dalam tubuh dan juga dari luar tubuh (makanan dan minuman yang mengandung purin). Metabolisme purin tersebut menghasilkan produk akhir yaitu berupa adenilik acid (AMP: Adenosin Monofosfat), inosinik acid (IMP: Inosini Monofosfat), dan guanilik acid (GMP: Guanosin Monofosfat) (Mardiningsih, 2017). Beberapa penelitian terkait mengenai inhibisi enzim xantin oksidase dapat dilihat pada **Tabel 1**.

**Tabel 1.** Beberapa Penelitian Terkait Inhibisi Enzim XO

No.	Sampel	Hasil Penelitian	Pustaka
1.	Daun Kelor ( <i>Moringa olivera</i> ) dan Daun Jeruk Nipis ( <i>Citrus aurantifolia</i> )	Ekstrak air daun kelor dan fraksi air daun jeruk memiliki daya inhibisi masing-masing sebesar 35,42 % dan 40,27%.	Djakad, R., 2020
2.	Ekstrak Etanol Biji Aren ( <i>Arenga pinnata</i> Merr)	Ekstrak etanol biji aren 160 ppm memiliki daya inhibisi sebesar 38,08 %	Fajriah, N., 2020
3.	Air rebusan daun salam	air rebusan daun salam mampu menurunkan kadar asam urat dengan level minimum 7,30 mg/dL menjadi 7,1 mg/dL dan level maksimum 10,60 mg/dL menjadi 10,3 mg/dL	Asmira, dkk., 2020
4.	Rebusan air daun sirsak	Rebusan daun sirsak dengan dosis 1 gelas atau setara dengan 200 cc air 2x perhari selama 7 hari pada responden yang menderita gout arthritis mengalami penurunan pada pemeriksaan asam urat	Gustomi dan Wahyuningish, 2016

#### 2.2.4.1 Inhibitor Enzim Xantin Oksidase

Inhibitor xantin oksidase, yaitu allopurinol telah banyak digunakan sebagai pengobatan hiperurisemia dan gout (Elion, 1989; Ngoc dkk., 2012). Allopurinol (**Gambar 6**) menghambat kerja enzim xantin oksidase untuk mengubah hipoxantin menjadi xantin kemudian menjadi asam urat. Tetapi allopurinol dapat menimbulkan efek samping seperti reaksi alergi kulit, seperti ruam (Kong dkk., 2000) demam (Sustrani dkk., 2007), serta dapat menyebabkan reaksi kulit yang parah seperti *Toxic Epidermal Necrolysis Syndrome* (TENS) (Pacher dkk., 2006).



**Gambar 6.** Struktur Allopurinol (Benezra dan Bennett, 1978).

Allopurinol atau dengan nama IUPAC yaitu 1H-pirazol(3,4-d)pirimidin-4-ol atau 4,6-dihidroksipirazol(3,4-d)pirimidin(oksipurinol), berbentuk bubuk putih dan sedikit berbau. Allopurinol stabilitas maksimumnya dalam larutan pada suhu 105 °C pH 3,1 - 3,4. Dekomposisi cepat terjadi pada pH tinggi. Distribusi allopurinol pada tikus uji coba setelah 2 jam, akan tersebar secara merata dalam darah, hati, limpa, jantung, dan usus. Otak dan paru-paru mengandung sekitar setengah dari konsentrasi allopurinol yang ditemukan dalam darah (Benezra dan Bennett, 1978).

### 2.3 Daun Sirsak

Tanaman sirsak (*Annona muricata* Linn) adalah tanaman yang mudah tumbuh di banyak tempat. Nama sirsak berasal dari bahasa Belanda yaitu Zuurzak

yang berarti kantung yang asam. Sirsak (*Annona muricata* L.) merupakan salah jenis tanaman dari familia Annonaceae yang mempunyai manfaat besar bagi kehidupan manusia, yaitu sebagai tanaman buah yang syarat dengan gizi dan merupakan bahan obat tradisional yang memiliki multikhasiat. Dalam industri makanan, sirsak dapat diolah menjadi selai buah dan sari buah, sirup, dan dodol sirsak (Jannah, 2010).

Tanaman sirsak banyak digunakan sebagai tanaman obat, karena tanaman ini memiliki khasiat penyembuhan maupun pencegahan penyakit (Hidayat, 2008). Tanaman sirsak banyak digunakan untuk menyembuhkan penyakit, seperti hipertensi, diabetes, diare, demam, batuk, dan jenis penyakit lainnya. Daun sirsak dapat digunakan untuk menyembuhkan penyakit kanker; salah satu penyakit yang mematikan dan sangat sulit disembuhkan (Warisno dan Dahana, 2012). Selain itu, daun sirsak juga digunakan sebagai antihiperurisemia.

Terdapat beberapa penelitian yang berkaitan dengan pengobatan asam urat menggunakan daun sirsak, diantaranya yaitu penelitian yang dilakukan secara in vitro oleh Sunarni dkk., (2015), yaitu ekstrak etanol daun sirsak 25 µg/mL memiliki persentase inhibisi sebesar  $8,53 \pm 1,41$  dan nilai  $IC_{50}$  sebesar  $<200$  µg/mL. Selain itu, herbal *green tea* daun sirsak pada suhu 100 °C yang diseduh selama 30 menit memiliki aktivitas inhibisi paling tinggi dengan  $IC_{50}$  sebesar  $291,11 \pm 13,69$  ppm (Hardoko dkk., 2018). Mutiara dan Wildan (2019) juga melakukan pengujian terhadap penurunan asam urat dengan hasil penelitian yaitu efektivitas penurunan kadar asam urat sebesar 64,86 % pada konsentrasi 40 mg/mL. Uji in vivo juga telah dilakukan oleh Febrianti dan Niah (2018) dengan hasil aktivitas antihiperurisemia menunjukkan ekstrak etanol daun sirsak dosis

100, 200, dan 400 mg/kg BB memiliki efek penurunan kadar yang signifikan masing-masing sebesar  $2,03 \pm 0,635$ ;  $2,07 \pm 0,379$ ;  $2,23 \pm 0,404$ .

### 2.3.1 Klasifikasi dan Karakteristik Fisik Tanaman Sirsak

Daun sirsak tebal dan agak kaku dengan urat daun menyirip atau tegak pada urat daun utama (Sunarjono, 2005). Daun sirsak terkadang menimbulkan bau yang tidak enak dicium. Morfologi dari daun sirsak adalah berbentuk bulat dan panjang, dengan bentuk daun menyirip dengan ujung daun meruncing, permukaan daun mengkilap, serta berwarna hijau muda sampai hijau tua. Terdapat banyak putik di dalam satu bunga sehingga diberi nama bunga berpistil majemuk. Sebagian bunga terdapat dalam lingkaran, dan sebagian lagi membentuk spiral atau terpencah, tersusun secara hemisiklis (Lesmana, 2017). Daun mahkota bunga yang berjumlah enam helai yang terbagi dalam dua lapis. Bila mendekati mekar (anthesis), mahkota bunga ini berubah menjadi kuning muda (Sunarjono, 2005).

Klasifikasi dari tumbuhan sirsak (**Gambar 7**) menurut Lesmana (2017) adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Sub divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledonae
Ordo	: Polycarpiceae
Familia	: Annonaceae
Genus	: <i>Annona</i>
Spesies	: <i>Annona muricata</i> Linn.



**Gambar 7.** Daun Sirsak (Mardiana dan Ratnasari, 2011)

Buah sirsak umumnya lonjong, berduri halus, dan lunak. Buahnya berkembang membesar dari banyak bakal buah (agregat) sehingga buah sirsak sering disebut buah majemuk (komposit). Daging buah yang dapat dimakan disebut *pseudocarp*. Daging buah yang tersebut berwarna putih. Rasa buah matang umumnya masam sampai manis. Akar tanaman sirsak dapat menembus tanah sampai kedalaman 2 meter (Sunarjono, 2005).

### **2.3.2 Kandungan Kimia dan Manfaat Daun Sirsak**

Daun sirsak mengandung senyawa turunan acetogenin, diantaranya acetogenin, annocatacin, annocatalin, annohexoin, annonacin, annomuricin, anomurine, anonol, kaklourin, asam gentisida, gigantetronin, asam linoleat, dan muricapentocin (Widyaningrum, 2012 dalam Kurniasih dkk., 2015). Selain itu daun sirsak juga mengandung minyak esensial, *reticuline*, *loreximine*, *coclaurine*, *annomurine*, dan *higenamine*. Daun sirsak digunakan untuk menghambat sel kanker dengan menginduksi apoptosis, antidiare, analgetik, antidisentri, antiasma, antelmintik, dilatasi pembuluh darah, menstimulasi pencernaan, dan mengurangi depresi (McLaughlin, 2008).

Hasil skrining fitokimia yang telah dilakukan menunjukkan bahwa ekstrak etanol 96 % relatif memiliki kandungan komponen senyawa yang lebih bervariasi dibandingkan ekstrak lain lainnya. Hasil penapisan fitokimia ekstrak etanol 96 % menunjukkan adanya kandungan senyawa alkaloida, flavonoida, tanin, saponin (Purwatesna, 2012; Slamet dkk., 2017), steroid (Londok dan Mandey, 2014; Purwatesna, 2012) dan terpenoid (Rahman dkk., 2017).

Selain skrining fitokimia, Londok dan Mandey (2014) telah melakukan analisis proksimat pada daun sirsak (**Tabel 2**). Kandungan energi bruto sebesar 4195 kkal/g. Hasil analisis proksimat membagi karbohidrat menjadi dua komponen yaitu serat kasar dan Beta-N. Serat kasar adalah fraksi yang sukar dicerna dan merupakan sumber energi yang rendah Sedangkan Beta-N merupakan fraksi yang mudah dicerna dan digunakan sebagai sumber energi (Tilman dkk., 1994). Beta-N berisi zat-zat mono, di, tri dan polisakarida terutama pati dan semuanya mudah larut dalam asam maupun basa, serta mempunyai daya cerna yang tinggi. Daun sirsak memiliki kandungan Beta-N dan serat kasar yang hampir sama. Dilihat dari kandungan zat-zat makanannya, daun sirsak dapat digunakan sebagai bahan pakan dengan kandungan protein dan energi yang cukup tinggi, walaupun ada kendala serat kasar yang tinggi (Londok dan Mandey, 2014).

Buah sirsak (*Annona muricata*) digunakan sebagai obat tradisional di Amerika Selatan dan Carribean dan menjadi suplemen obat gizi yang populer. Buah, biji, kulit, daun, dan akar telah digunakan untuk mengobati parasit-parasit pada usus, batuk (termasuk asma dan bronkitis), penyakit hati, inflamasi, diabetes, hipertensi, anti karsinogenik (Endrini dkk., 2015). Metabolit sekunder yang terdapat pada daun sirsak mempunyai kemampuan sebagai antioksidan (Londok



dan Mandey, 2014), obat penyakit jantung, diabetes (Kurniasih dkk., 2015), penyakit kulit, rematik, batuk, flu (Orwa dkk., 2009), antibakteri (Rahman dkk., 2017), antispasmodik, dan dapat memberi efek menenangkan (Taylor, 2002).

**Tabel 2.** Hasil Analisa Proksimat Daun Sirsak (Londok dan Mandey, 2014)

<b>Ingredien</b>	<b>Kadar (%)</b>
Bahan Kering	87.58
Abu	8.93
Protein Kasar	16.9
Serat Kasar	28.36
Lemak Kasar	4.76
Beta-N	28.63
Ca	2.09
P	0.35

## 2.4 Daun Salam

Daun salam merupakan tanaman yang telah banyak dikenal oleh masyarakat. Biasanya banyak dimanfaatkan sebagai bumbu dapur atau rempah-rempah penyedap masakan karena memiliki aroma khas. Selain itu, daun salam sering dimanfaatkan masyarakat untuk pengobatan alternatif karena tumbuhan ini banyak terdapat di masyarakat dan mudah didapatkan (Harismah dan Chusniatun, 2016). Daun salam mempunyai aktivitas sebagai diuretik dan penghilang nyeri (analgetik). Khasiat diuretik daun salam dapat memperbanyak keluarnya urin sehingga menurunkan kadar asam urat darah. Daun salam dikenal dengan nama *salam* di Jawa, Madura, dan Sunda, *kastolam* di Kangean dan Sumenep, *manting* di Jawa, dan *meselengan* di Sumatra (Dalimartha, 2006).

Beberapa penelitian mengenai potensi daun salam sebagai obat asam urat, diantaranya, yaitu uji in vivo yang dilakukan oleh Hidayah dkk., (2018) yaitu ekstrak air daun salam menunjukkan efek sebagai antihiperurisemia pada mencit jantan yang diinduksi dengan hati ayam 0,2 % b/v dan kalium oksonat 250 mg/kgBB, dengan dosis yang paling efektif adalah 50 mg/kgBB. Selanjutnya, Nur dan Sumiwi (2020) menyatakan bahwa daun salam pada dosis 20 mg/200 gr BB diperoleh nilai  $p = 0,000$  yang artinya ada perbedaan yang bermakna terhadap kadar asam urat sebelum dan setelah pemberian air rebusan daun salam. Hal yang sama juga dilakukan oleh Ningtiyas dan Ramadhian (2016), yaitu ekstrak etanol daun salam pada dosis 420 mg/kg BB mampu menurunkan kadar asam urat dalam serum darah yang hasilnya setara dengan allopurinol dosis 10 mg/kg. Pemberian rebusan daun salam dengan dosis 100 % (sebanyak 7,8 g daun salam) menurunkan kadar asam urat darah sebanyak 16,10 % pada mencit putih jantan (Djohari dan Paramitha, 2015), sedangkan pada uji in vitro ekstrak etanol daun salam konsentrasi 50 ppm memiliki daya inhibisi sebesar 25,62 % (Muflihat, 2008). Infusa daun salam memiliki  $IC_{50}$  sebesar 45,674  $\mu$ /mL (Liunokas, 2020).

#### **2.4.1 Klasifikasi dan Karakteristik Tanaman Salam**

Tanaman salam banyak ditemukan tumbuh subur secara liar di hutan-hutan atau secara sengaja ditanam di kebun untuk dipetik daunnya sebagai bumbu penyedap masakan (Dalimartha, 2006; Thomas, 1992). Salam mempunyai pohon yang besar dan tingginya dapat mencapai 20-25 meter (Thomas, 1992) dan banyak digunakan sebagai bahan pembuatan *furniture* (Arianto, 2018), batang bulat, permukaan licin, bertajuk rimbun, dan berakar tunggang. Daun tunggal, terletak berhadapan, tangkai daun 0,5-1 cm, helaian daun lonjong sampai elips atau bulat telur (Dalimartha, 2006).

Tanaman salam di daerah pedesaan sering ditanam sebagai tanaman pagar atau juga peneduh halaman, karena daunnya yang cukup lebat (Thomas, 1992), sedangkan kulit pohonnya digunakan sebagai bahan pewarna jala atau anyaman bambu. Buahnya dapat dimakan. Salam dapat diperbanyak dengan biji, cangkok, atau setek (Dalimartha, 2006).

Klasifikasi tumbuhan salam (**Gambar 8**) menurut Sutrisna (2016) adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Ordo	: Myrtales
Familia	: Myrtaceae
Genus	: <i>Syzygium</i>
Spesies	: <i>Syzygium polyanthum</i>



**Gambar 8.** Daun Salam (Dalimartha, 2006).

#### **2.4.2 Kandungan Kimia dan Manfaat Tanaman Salam**

Myrtaceae adalah keluarga besar tumbuhan, dan terdiri dari 155 genera dan 4000 spesies, dengan pusat konsentrasi di Amerika Selatan, Asia Tenggara, dan Australia, tetapi beberapa kejadian ditemukan di Afrika. Beberapa dari

mereka memiliki aktivitas menarik seperti sitotoksik, antikolinesterase, dan antibakteri (Isnanu, dkk., 2018).

**Tabel 3.** Data Komposisi Gizi per 100 g Bubuk Daun Salam (Kemenkes RI, 2017)

<b>Komponen Gizi/vitamin/mineral</b>	<b>Jumlah</b>
Air	13.1 g
Besi (Fe)	44.1 g
B-Karoten	5.400 µg
Energi	301 kalori
Fosfor (P)	250 mg
Kalium (K)	619,0 mg
Kalsium (Ca), <i>Calcium</i>	86 mg
Karbohidrat (CHO)	49.0 g
Lemak ( <i>Fat</i> )	10.9 g
Natrium (Na), <i>Sodium</i>	180 mg
Niasin, C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> NO <sub>2</sub> , <i>Niacin</i>	5.0 mg
Protein	14.2 g
Riboflavin (vitamin B2)	0.32 mg
Seng (Zn), <i>Zinc</i>	0.7 mg
Serat ( <i>Fiber</i> )	9.4 g
Tembaga (Cu), <i>Copper</i>	1.31 mg
Tiamina (vitamin B1)	0.10 mg

Penelitian oleh Rivai dkk., (2019) menunjukkan bahwa hasil uji kuantitatif ekstrak etanol daun salam yaitu alkaloid total sebesar 0,34 % dan flavonoid total 0,512 % yang sesuai dengan standar Farmakope Herbal Indonesia Edisi 1 (2008). Selain itu, terdapat kadar fenol total sebesar 0,1258 %, dan tanin total sebesar 0,1688 %.

Secara global, penelitian terhadap produk alam yang aktif secara biologis dari tanaman telah menarik perhatian banyak ahli kimia produk alam. Berbagai

tanaman telah diteliti aktivitas biologisnya dan di beberapa kasus senyawa aktif telah diisolasi dan diidentifikasi. Daun dari *Syzygium polyanthum* (Myrtaceae) juga dikenal dengan daun salam digunakan sebagai bahan tambahan pada masakan dan juga digunakan sebagai pengobatan pada penyakit diabetes, obat sakit perut, menyuburkan rambut, mengatasi gatal, menurunkan berat badan yang berlebih, sebagai obat cacing (Arianto, 2018), mengobati infeksi kulit (Kusuma dkk., 2011), antihipertensi, antioksidan, antidiare, antiinflamasi, imunomodulator, antikanker (Rizki dan Hariandja, 2015), antikolesterol, antihiperurisemia, antijamur, antimalaria (Novira dan Febrina, 2018).

Skrining fitokimia terhadap ekstrak kasar tanaman *Syzygium polyanthum* mengandung alkaloid, karbohidrat, tanin, steroid, triterpenoid, flavonoid, saponin (Kusuma dkk., 2011), dan minyak atsiri (sital, eugenol) (Dalimartha, 2006). Daun salam juga mengandung vitamin A, vitamin C, dan vitamin E berfungsi sebagai antioksidan (Agoes, 2010), vitamin B6, vitamin B12, tiamin, riboflavin, niasin, dan asam folat. Beberapa mineral yang terkandung dalam daun salam adalah zat besi, fosfor, kalsium, magnesium, selenium, seng, natrium, dan kalium (Harismah dan Chusniatun, 2016). Senyawa flavonoid memiliki sifat antibakteri, antioksidan, antiinflamasi, antialergi, antimutagenik, dan aktivitas vasodilatasi. Saponin berfungsi sebagai anti hiperkolesterol dan antidiabetik, sedangkan steroid dan triterpenoid sebagai analgetik (Kusuma dkk., 2011).