

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI ENZIM XANTIN OKSIDASE
DARI SUSU SAPI DAN UJI INHIBISI TERHADAP EKSTRAK
ETANOL BIJI AREN (*Arenga pinnata* Merr)**

NURUL FAJRIAH K.

H311 15 320



**DEPARTEMEN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2020**

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI ENZIM XANTIN OKSIDASE
DARI SUSU SAPI DAN UJI INHIBISI TERHADAP EKSTRAK
ETANOL BIJI AREN (*Arenga pinnata* Merr)**

*Skripsi ini diajukan sebagai salah satu syarat
untuk memperoleh gelar Sarjana Sains*

Oleh :

NURUL FAJRIAH K.

H311 15 320



MAKASSAR

2020

SKRIPSI

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI ENZIM XANTIN OKSIDASE
DARI SUSU SAPI DAN UJI INHIBISI TERHADAP EKSTRAK
BIJI AREN (*Arenga pinnata* Merr)**

Disusun dan diajukan oleh:

**NURUL FAJRIAH K.
H311 15 320**

Skripsi ini telah diperiksa dan disetujui oleh:

Pembimbing Utama



**Dr. Hasnah Natsir, M.Si
Nip. 19620320 198711 2 001**

Pembimbing Pertama



**Dr. Rugayah A. Arfah, M.Si
Nip. 19861008 201504 1 002**

PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Nurul Fajriah K.

Nomor Mahasiswa : H31115320

Program Studi : Kimia

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan tulisan atau pemikiran orang lain. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan skripsi ini hasil karya orang lain, saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut

Makassar, 18 September 2020



PRAKATA

Assalamu'alaikum Warahmatullahi Wabarakatuh

Segala puji bagi Allah SWT, Tuhan Semesta Alam, Tuhan yang Maha Pengasih Lagi Maha Penyayang, yang Maha Mendengar, senang tiasa mendengarkan doa dan keinginanku, yang Maha Adil memberikan ku pembelajaran atas segala yang kulakukan, yang Maha Tahu atas segala yang tidak ku ketahui, yang Maha Pemberi Petunjuk di setiap jalanku hingga dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul "Isolasi dan Karakterisasi Enzim Xantin Oksidase dari Susu Sapi dan Uji Inhibisi terhadap Ekstrak Etanol Biji Aren (*Arenga pinnata Merr*)".

Banyak halangan dan hambatan yang penulis lewati selama menyelesaikan penelitian ini, namun dengan bantuan, dukungan, doa dan semangat dari semua pihak akhirnya skripsi ini dapat diselesaikan. Izinkan saya mengucapkan terima kasih dan penghargaan yang tulus kepada Ibu **Dr. Hasnah Natsir, M.Si** dan Ibu **Dr. Rugaiyah A.Arfa, M.Si** selaku pembimbing utama dan pertama, yang senang tiasa memberikan pengarahan, bantuan, perhatian, dan motivasi selama proses penyelesaian skripsi ini.

Terima kasih yang sebesar-besarnya kepada ibunda tercinta **Rosmala S. Rani yang hingga detik ini tidak pernah berhenti mendoakan dan mendukung segala pilihan dan langkah saya**. Terima kasih pula kepada Om yang telah memberikan perhatian dan selalu mendoakan yang terbaik untuk saya. Juga terima kasih kepada saudari-saudari ku, **Ifah** dan **Ira** yang selalu mendukung dan menyemangati, serta adik ku tersayang **Tiara** yang tak lelah menghibur saya.

Dengan hati yang tulus dan penuh hormat penulis ucapkan terima kasih kepada:

1. Bapak Prof. Dr. Alfian Noor, M.Sc dan Bapak Drs. F. W. Mandey, M.Sc sebagai tim penguji yang telah memberikan masukan bagi penulis
2. Ketua Departemen Kimia, Sekertaris Departemen dan seluruh dosen yang telah memeberi ilmu dan arahan kepada penulis selama menempuh pendidikan serta staf Departemin Kimia yang telah banyak membantu.
3. Seluruh analis di Departemen Kimia FMIPA yang telah banyak membantu penulis selama melakukan penelitian

4. Kak Anti yang senantiasa membantu dalam penelitian ini dalam analisis dengan Spektrofotometer UV
5. Teman seperjuangan, tempat berbagai segala kesulitan dan kebahagiaan dalam menyelesaikan penelitian ini, saudari Siti Rosida R, Djakad, terima kasih atas segala moment indah yang telah dilewati bersama.
6. Teman-teman KIMIA 2015 yang selama ini telah berjuang melewati masa studi dan yang masih berusaha untuk menyelesaikan studi di departemen Kimia FMIPA Unhas
7. Teman-teman sesama Peneliti Biokimia Departemen Kimia FMIPA Unhas yang selalu berbagai saran dan pendapat, saling menyemangati dan memotivasi selama berjalannya penelitian ini
8. Teman-teman terdekat, penyemangat setelah keluarga tercinta, yang senantiasa membantu penulis, memberikan dukungan moral dan materil, tempat bagi penulis berkeluh kesah dan membagi pengalaman indah bersama-sama. Terima kasih kepada kalian **Cici, Cukke, Ida, Fira, Wirda, Enab, Uti, Ica, Sinar, Yani, Kholia, Yogie, Putu, Khae, Irwan dan Ma'gattang.**
9. Semua pihak yang membantu penulis dalam penelitian dan penyelesaian skripsi. Terima kasih yang sebanyak-banyaknya. Semoga Allah SWT membalas kebaikan semua. Aamiin

Penulis yakin masih terdapat banyak kesalahan serta kekurangan sehingga penulis sangat menerima saran dan kritik dari semua pihak. Akhirnya penulis berharap semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi semua pihak yang membaca maupun bagi pengembangan ilmu pengetahuan.

Wassalamu 'alaikum Warahmatullahi Wabarakatuh

Penulis

Agustus 2020

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi enzim xantin oksidase dari susu sapi, dan menentukan karakteristik enzim xantin oksidase serta menentukan daya hambat ekstrak etanol biji aren terhadap aktivitas enzim xantin oksidase. Isolasi enzim xantin oksidase dari susu sapi segar dilakukan melalui penambahan NaCl dan sentrifugasi sehingga diperoleh ekstrak kasar enzim xantin oksidase. Karakterisasi dilakukan untuk mengetahui kondisi optimum enzim yaitu panjang gelombang maksimum, suhu, konsentrasi substrat, pH, dan pengaruh ion logam. Hasil penelitian menunjukkan enzim xantin oksidase bekerja secara optimum pada suhu 35 °C, pH 6.5 dan konsentrasi substrat 0.10 mM. Ion logam Ca^{2+} bertindak sebagai aktivator dengan meningkatkan aktivitas relatif pada konsentrasi 10 mM dan 50 mM secara berturut-turut 12% dan 35.60%, serta ion logam Cd^{2+} konsentrasi 10 mM dan 50 mM, tidak meningkatkan aktivitas relatif secara signifikan yaitu hanya 3% dan 9%. Sedangkan ion logam Cu^{2+} bertindak sebagai inhibitor dengan menurunkan aktivitas relatif pada konsentrasi 50 mM menjadi 20.35%. Aktivitas enzim xantin oksidase dihambat oleh ekstrak etanol biji aren pada konsentrasi 160 ppm sebesar 56.04% dan allopurinol (kontrol positif) menghambat 62.11% pada konsentrasi yang sama. Berdasarkan perubahan nilai V_{maks} dari 23.58 mM menjadi 17.21 mM serta nilai K_M yang meningkat, menunjukkan bahwa ekstrak biji aren merupakan tipe inhibitor un-kompetitif.

Kata kunci : Xantin oksidase, Biji Aren, Ekstrak Etanol, Daya inhibisi.

ABSTRACT

The research aimed to isolate the xanthine oxidase enzyme from cow's milk, to determine the characteristics of the xanthine oxidase and also tested the potential of the ethanol extract of the palm sugar to inhibit the activity of xanthine oxidase. Isolation of xanthine oxidase enzyme from cow's milk is done through the addition of sodium chloride and centrifugation to obtain a crude enzyme of xanthine oxidase. Characterization was carried out to know the optimum conditions temperature, substrate concentration, pH, and the metal ions effect. The results showed the optimum condition of the activity of xanthine oxidase enzyme at temperature 35 °C, pH 6.5 and substrate concentration 0.10 mM. Ion Ca^{2+} acts as an activator by increasing relative activity at concentrations of 10 mM and 50 mM respectively 12% and 35.60%, and Cd^{2+} metal ion concentrations of 10 mM and 50 mM, the relative activity does not increase significantly only 3% and 9%. Whereas, Cu^{2+} ions act as an inhibitor by reducing the relative activity at concentrations of 50 mM is 20.35%. The activity of xanthine oxidase enzyme was inhibited by ethanol extract of sugar palm seeds at a concentration of 160 ppm as much as 56.04% and allopurinol (positive control) inhibited 62.11% at the same concentration. Based on the change in V_{\max} value from 23.58 mM to 17.21 mM as well as the relatively increased K_M value, it indicates that the palm seed extract is a type of uncompetitive inhibitor.

Key-words: Xantin oxidase, Palm Sugar, Ethanol Extract, Inhibition power.

DAFTAR ISI

	Halaman
PRAKATA.....	iv
ABSTRAK.....	vi
ABSTRACT.....	vii
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR GAMBAR.....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiv
DAFTAR SIMBOL DAN SINGKATAN	xv
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 Enzim.....	9
2.2.1 Enzim Xantin Oksidase	10

2.2.2 Faktor-faktor yang mempengaruhi kerja Enzim XO.....	12
2.2.3 Kinetika Inhibitor Enzim.....	14
2.3 Inhibitor Enzim Xantin Oksidase	18
2.4 Biji Aren (<i>Arenga pinnata</i> Merr).....	19
2.4.1 Klasifikasi Biji Aren (<i>Arenga pinnata</i> Merr).....	19
2.4.2 Morfologi Biji Aren (<i>Arenga pinnata</i> Merr).....	19
2.4.3 Penyebaran Aren (<i>Arenga pinnata</i> Merr)	21
2.4.4 Manfaat Biji Aren (<i>Arenga pinnata</i> Merr).....	21
2.5 Uji Aktivitas	23
BAB III METODE PENELITIAN	24
3.1 Bahan Penelitian	24
3.2 Alat Penelitian	24
3.3 Waktu dan Tempat.....	24
3.3.1 Waktu dan Tempat Pengambilan Sampel.....	24
3.3.2 Waktu dan Tempat Penelitian.....	25
3.4 Prosedur Penelitian	25
3.4.1 Pembuatan Larutan	25
3.4.1.1 Pembuatan NaOH 1 M	25
3.4.1.2 Pembuatan HCl 1 N	25
3.4.1.3 Pembuatan DMSO 1%	25
3.4.1.4 Pembuatan Substrat 0.05; 0.10; 0.15; 0.20 dan 0.25 mM	26
3.4.1.5 Pembuatan Dikalium Hidrogen Fosfat 0.2 M.....	26
3.4.1.6 Pembuatan Larutan Kalium Dihidrogen Fosfat 0.2 M	26
3.4.1.7 Pembuatan Larutan Standar Alopurinol	26

3.4.2 Isolasi Enzim Xantin Oksidase Dari Susu Sapi Segar.....	27
3.4.3 Pembuatan Larutan Standar Asam Urat dan Penentuan Panjang Gelombang Maksimum	27
3.4.4 Karakterisasi Enzim Xantin Oksidase	27
3.4.4.1 Penentuan pH Optimum	27
3.4.4.2 Penentuan Konsentrasi Substrat Optimum.....	28
3.4.4.3 Penentuan Suhu Optimum.....	28
3.4.4.4 Penentuan Pengaruh Ion Logam.....	29
3.4.5 Ekstraksi Biji Aren	30
3.4.5.1 Preparasi sampel	30
3.4.5.2 Ekstraksi dengan Etanol p.a	30
3.4.6 Uji Fitokimia	30
3.4.6.1 Uji Flavonoid.....	30
3.4.6.2 Uji Terpenoid dan Steroid	31
3.4.6.3 Uji Alkaloid.....	31
3.4.6.4 Uji Saponin dan Tanin.....	31
3.4.6.5 Uji Tanin.....	32
3.4.7 Penentuan Aktivitas Enzim Xantin Oksidase.....	32
3.4.8 Penentuan Kadar Protein Enzim Xantin Oksidase	33
3.4.9 Penentuan Penghambatan Enzim Xantin Oksidase.....	33
3.4.9.1 Pengujian Sampel	33
3.4.9.2 Penentuan Kinetika Inhibisi Ekstrak Biji Aren	34
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	35
4.1 Isolasi Enzim Xantin Oksidase dari Susu Sapi.....	35
4.2 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum.....	36

4.3 Karakterisasi Ekstrak Kasar Enzim XO	37
4.3.1 Penentuan pH optimum	37
4.3.2 Penentuan Konsentrasi Substrat Optimum	39
4.3.3 Penentuan Suhu Optimum	40
4.3.4 Pengaruh Ion-ion Logam terhadap Aktivitas Enzim Xantin Oksidase	42
4.4 Ekstraksi Biji Aren	44
4.5 Uji Penghamabatan Aktivitas Enzim Xantin Oksidase oleh Ekstrak Etanol Biji Aren	46
4.6 Kinetika Inhibisi Ekstrak Etanol Biji Aren	49
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN	54
5.1 Kesimpulan	54
5.2 Saran	54
DAFTAR PUSTAKA	56
LAMPIRAN	63

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Etanol Biji Aren	45
2. Data Uji Aktivitas Enzim Xantin Oksidase oleh Larutan Uji	46
3. Data Uji Aktivitas Enzim XO Isolasi dan Komersial terhadap Larutan Uji	48
4. Aktivitas Ekstrak kasar Enzim XO pada Berbagai Konsentrasi Substrat..	49
5. Aktivitas Ekstrak kasar Enzim XO pada Berbagai Konsentrasi Substrat dengan Penambahan Ekstrak Biji Aren	50
6. Perubahan Nilai V_{maks} dan K_M Enzim_XO.....	51

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Struktur Asam Urat	7
2. Mekanisme terbentuknya asam urat.....	9
3. Reaksi oksidasi xantin menjadi asam urat	11
4. Grafik hubungan konsentrasi dengan Kecepatan.....	15
5. Buah Aren	20
6. Kurva standar asam urat pada λ_{maks} 232 nm	36
7. Kurva hubungan pH terhadap aktivitas enzim XO pada suhu 25 °C, konsentrasi substrat 0,15 mM	38
8. Kurva Hubungan konsentrasi substrat xantin dengan aktivitas enzim XO pada suhu 25 °C dan pH 6,5.....	39
9. Kurva hubungan suhu dengan aktivitas enzim XO pada pH 6,5 Konsentrasi Substrat 0,10 mM.....	41
10. Hubungan konsentrasi ion logam Ca^{2+} , Cu^{2+} dan Cd^{2+} terhadap aktivitas enzim xantin oksidase	43
11. Diagram Hubungan Konsentrasi Laruan Uji terhadap Aktvitas Enzim XO pada suhu 35 °C, pH 6,5 dan konsentrasi substrat 0,10 mM..	47
12. Pola kinetika inhibisi yang terbentuk akibat adanya inhibitor Unkompetitif	53

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Diagram Alir Penelitian	63
2. Preparasi Sampel dan Ekstraksi	64
3. Pembuatan Larutan Standar Asam Urat dan Penentuan λ_{maks}	65
4. Karakterisasi Enzim Xantin Oksidase	66
5. Penentuan Aktivitas Enzim XO dan Aktivitas Spesifik.....	68
6. Penentuan Daya Inhibisi Estrak dan Allopurinol.....	69
7. Penentuan Kinetika Inhibisi Ekstrak Uji terhadap Aktivitas Enzim XO.....	70
8. Tabel dan Perhitungan.....	71
9. Dokumentasi Penelitian.....	79

DAFTAR SIMBOL DAN SINGKATAN

dL	: desiliter
NAD	: Nikotinamida adenina dinukleotida
NADP	: Nikotinamida adenina dinukleotida fosfat
FAD	: Flavin adenina dinukleotida
XO	: Xantin Oksidase
Da	: dalton
mm	: milimeter
kkal	:kilokalori
IC ₅₀	: Inhibition Concentration 50%
rpm	: <i>rotation per minute</i>
N	: normalitas
mM	: miliMolar
pH	: potensial hidrogen
mU/mL	: miliUnit/miliLiter
XO	: Xantin Oksidase
MFGM	: <i>Milk Fat Globule Membrane</i>
K _M	: Tetapan Michaelis-Menten
V _{maks}	: Aktivitas Maksium

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Asam urat (AU) merupakan penyakit yang menyerang persendian, akibat penumpukan asam urat yang berlebihan. Kondisi ini akan menimbulkan hiperurisemia, dimana kadar asam urat dalam darah meningkat melewati batas minimum yakni lebih dari 7 mg/dL (Nasrul dan Sofitri, 2012). Jika asam urat terus dibiarkan, maka akan menimbulkan penyakit lain seperti tekanan darah tinggi, batu ginjal hingga kecacatan tubuh (Angriani, dkk., 2018) dan resiko penyakit lain yakni *gout* (Huang, dkk., 2011). *Gout* terjadi disebabkan adanya penumpukkan kristal monosodium urat pada persendian yang dapat menimbulkan rasa nyeri (Nadinah, 2008). Penderita asam urat meningkat setiap tahun disebabkan oleh pola makan konsumen yang cenderung gemar mengonsumsi makanan kaya akan purin (Dewi dan Asnita, 2016). Jumlah penduduk yang menderita *gout* atau asam urat pada tahun 2013 yakni 11,9% dan di tahun 2016 menempati posisi kedua setelah hipertensi (Kemenkes RI, 2013).

Mekanisme pembentukan asam urat bermula dari degradasi protein menjadi asam amino dalam mekanisme regulasi sel purin yang selanjutnya dikatabolisme membentuk asam urat (Nadinah, 2008). Asam urat disintesis dalam usus kecil dan hati sebanyak 300-600 mg per hari, dan diekskresikan melalui urin sekitar 12-13% dari jumlah filtrasi (Singh, dkk., 2010)

Salah satu jenis enzim oksidoreduktase yang berfungsi sebagai perombakan purin menjadi asam urat ialah enzim xantin oksidase

(Pacher, dkk., 2006). Enzim xantin oksidase (XO) terdapat dalam jaringan tubuh seperti hati, usus, paru-paru, mycrodium, ginjal, otak, eritrosit dan plasma. Enzim XO dapat pula ditemukan pada susu sapi segar yang berasal dari membran-membran globula lemak yang keluar dalam bentuk konsentrat (Briley dan Eisenthal, 1974). Menurut Kostic dkk. (2015) MFGM atau globula lemak merupakan protein terbesar setelah butyrophilin. Enzim XO biasa diisolasi dari krim susu sapi sebagai bahan utama, kemudian krim dicuci dan diaduk agar dihasilkan MFGM kasar, agen pemisah digunakan untuk membebaskan XO dari membran lipoprotein dan beberapa jenis kromatografi digunakan pada tahap purifikasi lebih lanjut. Karakteristik enzim XO dari susu sapi lebih baik jika dibandingkan dengan XO dari susu mamalia lain karena dapat membentuk kompleks substrat-enzim yang lebih stabil (Evans, dkk., 2005).

Isolasi enzim XO dari susu sapi dapat dilakukan dengan penambahan sodium klorida dan pemisahan melalui sentrifugasi sehingga dapat diperoleh supernatan atau ekstrak kasar enzim yang dapat dimurnikan pada tahap lebih lanjut. Hal ini sesuai dengan yang dilakukan oleh Surahman dkk. (2012); Wulandari dkk. (2012) dan Sari dkk. (2018). Masing-masing melaporkan bahwa aktivitas enzim yang diukur pada kondisi optimum pH 7.5, suhu 25 °C dan konsentrasi substrat 0.15 mM memberikan nilai aktivitas yang berbeda-beda. Evans dkk. (2005) membandingkan aktivitas enzim XO dari susu sapi dan susu kambing. Dimana karakterisasi susu sapi memiliki suhu optimum 10 °C, pH optimum 7.5 dan konsentrasi substrat optimum 0.01 ppm. Sedangkan, kondisi optimum susu kambing berturut-turut yaitu suhu 20 °C, rentan pH antara 7.2 hingga 7.4 dan konsentrasi substrat 0.08 ppm. Berdasarkan data tersebut dapat

disimpulkan bahwa spesies yang berbeda menghasilkan enzim dengan karakteristik dan aktivitas yang berbeda. Aktivitas enzim XO berkaitan langsung dengan produksi asam urat, sehingga penghambatan aktivitas enzim ini adalah salah satu pendekatan yang paling sesuai untuk mengobati penyakit asam urat. Pengujian penghambatan aktivitas enzim XO telah banyak dilakukan untuk menemukan senyawa yang berpotensi sebagai inhibitor xantin oksidase. Allopurinol merupakan obat sintesis yang digunakan sebagai inhibitor XO. Namun obat ini dapat memberikan dampak negatif terhadap penderita, menghasilkan superoksida yang berbahaya bagi kesehatan bahkan kerusakan hati (Azmi, dkk., 2012). Oleh karena itu perlu adanya inhibitor dari bahan alam sebagai alternatif penghambat aktivitas enzim XO.

Salah satu tanaman yang dapat dimanfaatkan yaitu aren (*Arenga pinnata* Merr) yang dipercaya memiliki banyak manfaat. Semua bagian tanaman ini dapat dimanfaatkan, dari akar hingga air buahnya sebagai bahan pangan dan yang lainnya (Purwati dan Nugrahini, 2018). Menurut Li (2005), buah aren memiliki efek farmakologi sebagai antineuropatik, rematik, nyeri tulang, dan traumatik serta antidiabetes (Bolsinger, dkk., 2014). Aren juga memiliki kandungan antioksidan yang tinggi sehingga dapat mengurangi radikal bebas pemicu penyakit degeneratif (Oktavia dan Wungkana, 2018). Ekstrak etanol biji aren mengandung senyawa metabolit sekunder seperti triterpenoid, flavonoid, saponin dan tanin (Arief, dkk., 2017). Chang (2018) menyebutkan bahwa senyawa metabolit sekunder tersebut dapat menghambat aktivitas enzim xantin oksidase.

Penelitian terkait dengan inhibitor enzim XO yang dilakukan oleh (Sari, dkk., 2016) menemukan bahwa senyawa katekin dan epikatekin dalam biji

anggur (*Vitis vinifera*) dapat menghambat kinerja enzim XO. Sedangkan Kusuma dkk. (2014), melaporkan bahwa ekstrak etil asetat dan etanol 70% biji ketan hitam memiliki aktivitas penghambatan terhadap enzim XO. Golongan senyawa terpenoid dalam ekstrak etil asetat diduga dapat menghambat pembentukan atau produksi asam urat. Menurut Ernawati dan Susanti (2014) etanol digunakan dalam proses ekstraksi karena sifatnya yang semipolar sehingga dapat mengekstrak senyawa organik lain yang bersifat semi polar maupun polar, etanol tidak toksik, dapat bercampur dengan air, netral, dan tidak mudah ditumbuhi kuman atau bakteri. Secara lebih lanjut, belum ada penelitian mengenai pemanfaatan biji aren sebagai obat asam urat. Oleh karena itu, dalam penelitian ini akan dilakukan pengujian ekstrak etanol biji aren dalam menghambat aktivitas enzim XO sehingga dapat menyembuhkan penyakit asam urat.

1.2 Rumusan Masalah

Adapun rumusan masalah pada penelitian ini yaitu:

1. bagaimana cara mengisolasi enzim xantin oksidase dari susu sapi?
2. bagaimana karakteristik enzim xantin oksidase dari susu sapi?
3. apakah ekstrak etanol biji aren dapat menghambat aktivitas enzim xantin oksidase?
4. bagaimana tipe penghambatan ekstrak etanol biji aren terhadap aktivitas enzim xantin oksidase?

1.3 Maksud dan Tujuan Penelitian

1.3.1 Maksud Penelitian

Penelitian ini bermaksud untuk mengetahui apakah xantin oksidase dapat diisolasi dari susu sapi dan mengetahui daya inhibisi ekstrak biji aren (*Arenga pinnata*) terhadap aktivitas enzim xantin oksidase.

1.3.2 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dilakukannya penelitian ini yaitu:

1. mengisolasi enzim xantin oksidase menggunakan sodium klorida
2. menentukan karakteristik enzim xantin oksidase dari susu sapi
3. menentukan persen (%) inhibisi ekstrak etanol biji aren dalam menghambat aktivitas enzim xantin oksidase
4. bagaimana tipe penghambatan ekstrak etanol biji aren terhadap aktivitas enzim xantin oksidase?

1.4 Manfaat Penelitian

Memberikan informasi ilmiah kepada pembaca mengenai daya hambat ekstrak biji aren (*Arenga pinnata*) terhadap aktivitas enzim xantin oksidase

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

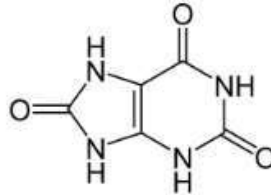
2.1 Asam Urat

Asam urat diproduksi dari proses metabolisme purin yang menghasilkan kristal dan mengendap pada daerah persendian. Hal ini memberikan efek nyeri, kaku, dan bengkak. Jika kadar asam urat dalam tubuh meningkat melebihi batas normal maka akan terjadi yang disebut dengan hiperurisemia. Jika kondisi ini terus berlanjut maka timbul penyakit *gout*, yang umumnya lebih dikenal dengan istilah penyakit pirai (Ernawati dan Susanti, 2014).

Asam urat dihasilkan oleh sel yang mengandung xantin oksidase, diproduksi oleh hati dan usus kecil. Pada keadaan normal kadar asam urat dalam tubuh adalah sebesar 7 mg/dL. Jika melebihi jumlah tersebut maka terjadi hiperurisemia. Pra-diabetes adalah subjek yang mempunyai kadar glukosa plasma meningkat akan tetapi peningkatannya masih belum mencapai nilai minimal untuk kriteria diagnosis diabetes melitus (DM). Pada penderita diabetes hiperinsulinemia dapat mengakibatkan peningkatan reabsorpsi asam urat di tubulus proksimal ginjal. Oleh karena itu deteksi awal hiperurisemia merupakan salah satu pemeriksaan sederhana sebagai penanda prognostik pra diabetes (Nasrul dan Sofitri, 2012).

Rumus molekul asam urat yaitu $C_5H_4N_4O_3$. Pada keadaan basa ion urat (monosodium urat) dapat terbentuk dua kali lebih banyak dibandingkan pada kondisi asam. Dalam kondisi netral ion urat tersebar di dalam darah. Rata-rata pembentukan asam urat dalam tubuh 300-600 mg per hari yang berasal dari

pemecahan purin endogen. Dua pertiga bagian total asam urat yang diproduksi berasal dari nukleotida purin. Struktur asam urat dapat dilihat pada Gambar 1 (Nasrul dan Sofitri, 2012):



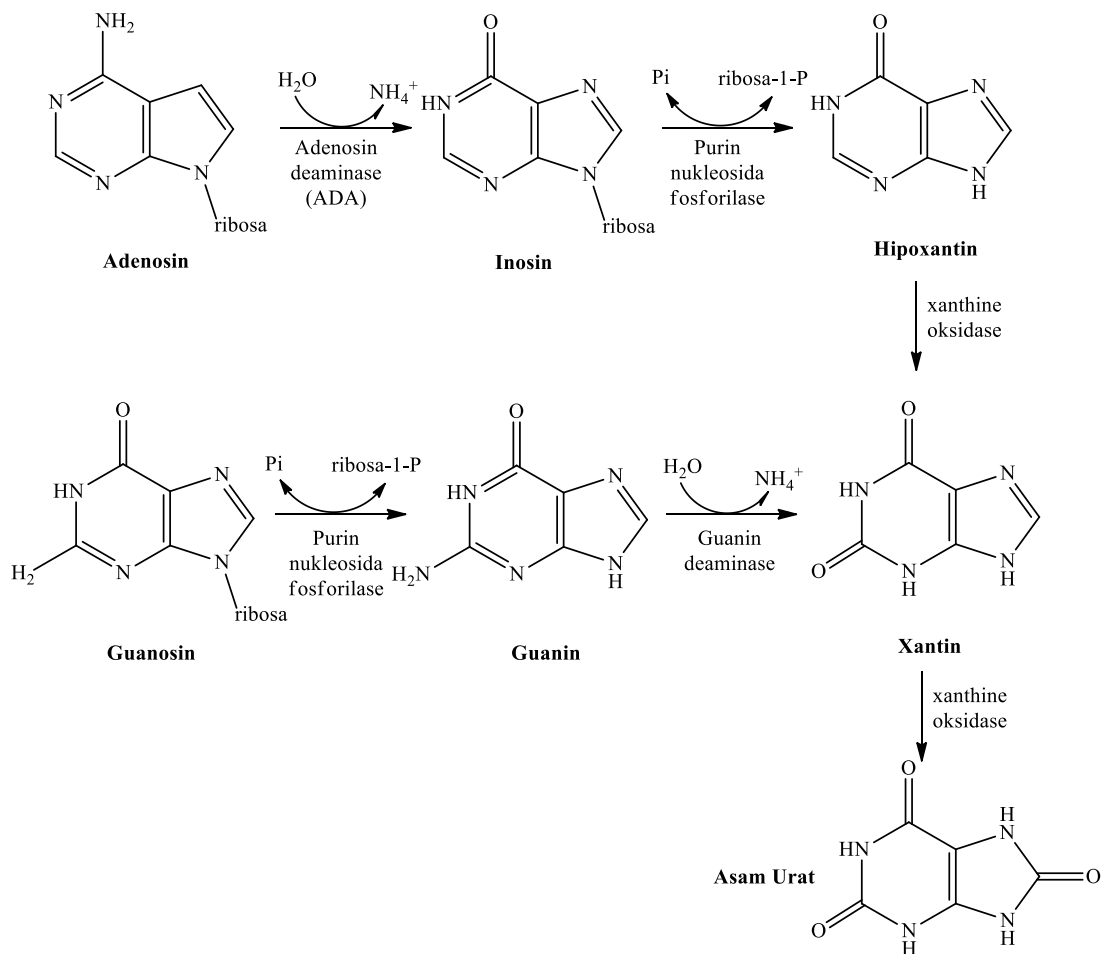
Gambar 1. Struktur Asam Urat (Nasrul dan Sofitri, 2012)

Secara garis besar *gout* termasuk ke dalam reumatik artikular bersama-sama dengan osteoarthritis dan arthritis reumatoid. Kadar asam urat normal dalam darah berkisar antara 25-75 mg/mL dengan volume urin yang diekskresikan per harinya antara 250 mg hingga 750 mg. Terbentuknya *gout* selalu diawali dengan peningkatan kadar asam urat dalam darah hiperurisemia, namun tidak semua kondisi hiperurisemia berakhir menjadi *gout*. Standar kadar asam urat dalam tubuh berbeda sesuai jenis kelamin, bagi wanita 25-60 µg/mL merupakan batas minimum. Sedangkan, bagi pria batas minimumnya adalah 30-70 µg/mL. Jika asam urat telah melewati 60 µg/mL maka dikatakan hiperurisemia untuk wanita, tapi normal bagi pria selama konsentrasi asam urat di bawah 70 µg/mL (Nadinah, 2008).

Kandungan asam urat dalam darah dapat meningkat tergantung bagaimana cara pola hidup. Beberapa faktor yang dapat meningkatkan kadar asam urat diantaranya adanya gangguan metabolisme purin bawaan, kelainan pembawa sifat atau gen, kelebihan mengonsumsi makanan berkadar purin tinggi seperti daging, jeroan, kerang, kepiting, keju, gorengan, tape, bayam, buncis, kacang tanah, petai, alpukat, dan alkohol, serta efek dari penyakit seperti leukemia, kemoterapi dan

radioterapi (Eff, dkk., 2016). Dapat juga disebabkan oleh faktor kelebihan produksi asam urat dalam tubuh, obesitas, diabetes yang disertai tekanan darah tinggi. Pada kasus diabetes dan obesitas sebagian besar glukosa dipecah menjadi asetil co-A, dilanjutkan dengan pembentukan α -ketoglutarat dan pembebasan sejumlah energi dalam siklus *crab*. Glutamin akan terbentuk dari ikatan antara protein dengan α -ketoglutarat dalam serangkaian reaksi. Glutamin kemudian akan diubah menjadi basa purin yang merupakan cikal bakal terbentuknya asam urat (Nadinah, 2008).

Pembentukan asam urat dimulai dari pembentukan purin dari 5-phosphoribosyl-1-piophosphat (PRPP) berasal dari ribosa 5 fosfat yang disintesis dengan ATP (*Adenosine triphosphate*). Dengan bantuan enzim PRPP glutamil amidotranferas yang mengkatalis reaksi PRPP dengan glutamin membentuk fosforibosilamin cincin sembilan. Inosine monophosphat (IMP) dibentuk dari gugus glisin dan dan cikal bakal terbentuk basa nukleotida adenin dan guanin. Adenosin monophosphate (AMP) terbentuk dari substitusi gugus amino aspartat pada 6 cincin IMP dengan bantuan guanin triphosphat. GMP atau guanin monophosphat terbentuk dari substitusi amino glutamin pada karbon dua cincin purin dan melibatkan ATP. Adenosin monofosfat mengalami deaminasi menjadi inosin, kemudian IMP dan GMP mengalami defosforilasi menjadi inosin dan guanosin. Basa hipoxantin terbentuk dari IMP yang mengalami defosforilasi dan diubah oleh xantin oksidase menjadi xantin serta guanin akan mengalami deaminasi untuk menghasilkan xantin juga. Xantin akan diubah oleh xantin oksidase menjadi asam urat. Mekanisme pembentukan asam urat dapat dilihat pada Gambar 2 (Nasrul dan Sofitri, 2012):



Gambar 2. Mekanisme terbentuknya asam urat (Birge, 2015)

2.2 Enzim

Metabolisme dalam tubuh dapat berjalan dengan baik tidak lepas dari peran penting enzim. Enzim didefinisikan sebagai senyawa biologis berupa polimer yang mengkatalisis semua proses kimia dalam tubuh. Enzim dapat mengubah sebuah substrat menjadi senyawa lain dengan kecepatan 10^6 lebih cepat dibandingkan tanpa menggunakan katalis (Murray, 2009).

Enzim mengandung gugus non protein dan logam yang disebut sebagai gugus prostetik, kofaktor dan koenzim. Perbedaan kofaktor dan koenzim terletak pada kekuatan ikatan dengan struktur enzim. Kofaktor terintegrasi erat dan stabil

berikatan dengan enzim, sedangkan koenzim berikatan transien dan mudah lepas dari enzim maupun substrat. Koenzim berfungsi sebagai pengangkut bahan dari tempat asalnya menuju tempat penggunaannya serta memindahkan gugus atau substrat (Murray, 2009).

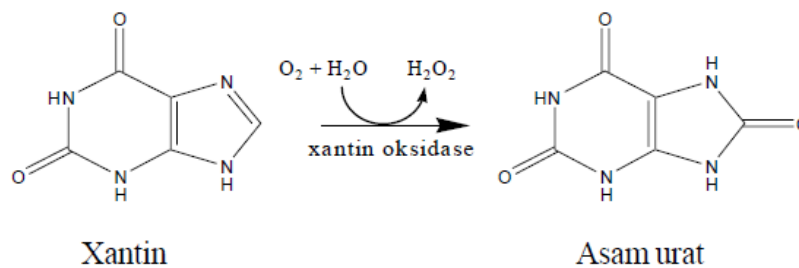
Klasifikasi dan tata nama enzim terbagi menjadi berbagai macam. Jenis enzim berdasarkan substrat, jenis ikatan substrat dan berdasarkan reaksi. Namun dari masing-masing pengklasifikasian tersebut memiliki kekurangan sehingga terus dikembangkan pengelompokan enzim yang tepat dan deskriptif. Pada tahun 1955, dibentuklah sebuah komisi yang mengelompokkan enzim menjadi 6 kelas atas dasar jenis reaksi oleh IUB atau *International Union of Biochemistry* bekerja sama dengan *International Union of Pure and Applied Chemistry* atau IUPAC. Keenam kelompok tersebut disusun secara berurutan. Kelompok tersebut yaitu oksidoreduktase (1) transferase (2) hidrolase (3) liase (4) isomerase (5) dan ligase (6) (Susanti dan Fibriana, 2017).

Oksidoreduktase merupakan enzim yang berperan dalam mengkatalisis reaksi reduksi dan oksidasi. Koenzim yang digunakan dalam reaksi ini biasanya NAD, NADP, FAD, Lipoat, dan Koenzim Q. Enzim-enzim yang termasuk ke dalam kelompok ini yakni dehidrogenase, oksidase, peroksidase, reduktase, hidroksilase dan oksigenase. Salah satu jenis enzim oksidase yang bekerja aktif di dalam tubuh adalah enzim xantin oksidase (Susanti dan Fibriana, 2017).

2.2.1 Enzim Xantin Oksidase

Menurut Koetic dkk. (2015) pada tahun 1902, Schardinger meneliti mengenai enzim yang terkandung di dalam susu. Enzim ini mampu mengoksidasi aldehid menjadi asam. Enzim ini kemudian disebut dengan enzim Schardinger.

Pada tahun 1922, Morgan dan rekannya kemudian menunjukkan bahwa di dalam susu terdapat enzim yang mampu mengoksidasi xantin dan hipoxantin, bersamaan dengan itu reduksi O_2 menjadi H_2O_2 , dan enzim ini disebut xantin oksidase (XO). Selanjutnya di tahun 1938 Booth dapat membuktikan bahwa enzim Schardinger adalah enzim XO. Menurut Dewi (2012) katabolisme purin menjadi asam urat tidak lepas dari bantuan enzim XO sebagai katalis. Melalui reaksi oksidasi, enzim XO mengubah xantin menjadi asam urat melalui reaksi berikut yang terlihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Reaksi oksidasi xantin menjadi asam urat (Hille, 2006)

Xantin oksidase merupakan suatu kompleks enzim yang terdiri dari molibdenum, FAD dan Fe_2S_2 . Bobot molekul enzim XO sebesar 270,000 Da dan memiliki dua sub unit yang identik saling berhadapan, selain itu menghasilkan 1331 residu asam amino. Selain berperan dalam oksidasi xantin, enzim ini memiliki fungsi lain yakni sebagai katalis dalam proses reduksi nitrat atau nitrit menjadi nitrit oksida dan pembentukan radikal superoksida yang dapat menyebabkan peradangan (Khairunnisa, 2013).

Xantin oksidase terdapat di berbagai jenis makhluk hidup. Dimulai dari bakteri, jaringan mamalia hingga manusia. Enzim xantin oksidase dapat mengoksidasi berbagai substrat termasuk purin, pirimidin, pteridin, azo purin,

sitokrom C, senyawa heterosiklik, oksigen, NAD^+ , dan ferricyanide. Dalam mekanismenya XO menghasilkan superoksida radikal dan hidrogen peroksida sebagai respon seluler. Xantin oksidoreduktase merupakan enzim yang *reversible*. Dalam bentuk xantin dehidrogenase yang memanfaatkan NAD^+ sebagai koenzim, dapat dikonversi menjadi xantin oksidase dengan bantuan O_2 sebagai akseptor elektron, begitupun sebaliknya (Jadhao, dkk., 2018).

Satu unit enzim XO dapat mengkonversi 1 μg substrat menjadi produk per satu menit pada kondisi suhu dan pH optimum (Umamaheswari, dkk., 2007). Pada proses perubahan xantin menjadi asam urat, atom oksigen akan ditransfer dari molibdenum ke xantin dengan melibatkan air. Selama proses oksidasi, molekul oksigen bertindak sebagai akseptor elektron menghasilkan radikal superoksida dan hidrogen peroksida (Khairunnisa, 2013). Senyawa yang dihasilkan bersifat toksik bagi sel dengan berinteraksi dengan fosfolipid membran mitokondria, mikrosom dan lisosom (Ningsih, 2017).

2.2.2 Faktor-faktor yang mempengaruhi kerja Enzim Xantin Oksidase

Menurut Indah (2004) beberapa faktor yang mempengaruhi aktivitas enzim XO yaitu suhu dan pH. Begitupula kecepatan reaksi enzim XO dipengaruhi oleh konsentrasi enzim, konsentrasi substrat, komponen di luar enzim seperti adanya aktivator ataupun inhibitor.

1. Konsentrasi Enzim

Kecepatan reaksi enzimatik bertambah pada saat bertambahnya konsentrasi enzim dan konsentrasi substrat konstan. Menurut Dewi (2012) kecepatan akan konstan atau menurun apabila enzim telah jenuh terhadap substrat

pada keadaan jumlah substrat berlebih. Antara substrat dengan enzim akan membentuk sebuah kompleks enzim-substrat yang selanjutnya akan membentuk produk dan enzim bebas. Semakin banyak enzim yang terbentuk semakin cepat reaksi berlangsung hingga batas tertentu (Indah, 2004).

2. Konsentrasi Substrat

Bertambahnya konsentrasi substrat meningkatkan kecepatan reaksi enzimatik dan konsentrasi enzim konstan. Pada konsentrasi tertentu tidak terjadi peningkatan kecepatan reaksi walaupun konsentrasi substrat ditambah. Hal ini menandakan terjadinya kejenuhan substrat. Pengaruh ini disebut dengan konstanta Michaelis (K_M) atau konstanta substrat (K_s) (Susanti dan Fibriana, 2017).

3. Suhu

Reaksi kimia berlangsung lambat pada suhu rendah, pada suhu tinggi secara umum reaksi kimia berlangsung cepat. Hal ini disebabkan oleh peningkatan energi kinetik dan frekuensi tumbukan molekul. Sehingga baik reaksi yang dikatalis ataupun tidak oleh enzim, tetap akan mengalami peningkatan laju reaksi (Dewi, 2012). Pada suhu optimum kecepatan reaksi enzimatik adalah maksimum. Pada suhu melewati suhu optimumnya dapat menyebabkan terjadinya denaturasi enzim sehingga menurunkan kecepatan reaksi.

4. Derajat Keasaman (pH)

Struktur enzim dipengaruhi oleh pH lingkungannya. Enzim dapat bermuatan positif, negatif atau bermuatan ganda (*zwitter ion*). Hampir seluruh reaksi kimia dipengaruhi oleh konsentrasi hidrogen. Keseimbangan hidrogen memperlihatkan hubungan denaturasi enzim pada pH tinggi maupun rendah.

Dapat mengakibatkan perubahan muatan enzim, substrat ataupun keduanya (Dewi, 2012). Pengaruh perubahan pH lingkungan berpengaruh pada aktivitas sisi aktif dari enzim.

5. Aktivator

Aktivitas beberapa enzim bekerja optimum dengan bantuan aktivator. Komponen diluar enzim ini berupa molekul non-protein yang disebut kofaktor. Kofaktor dibutuhkan pada sisi substrat sehingga enzim dapat aktif. Kofaktor dapat berupa molekul organik ataupun molekul anorganik. Molekul organik seperti falvin dan heme yang memiliki gugus prostetik ataupun koenzim dan ion anorganik seperti ion logam Mg^{2+} , Cu^+ , Mn^{2+} dan kluster besi sulfur (Susanti dan Fibriana, 2017).

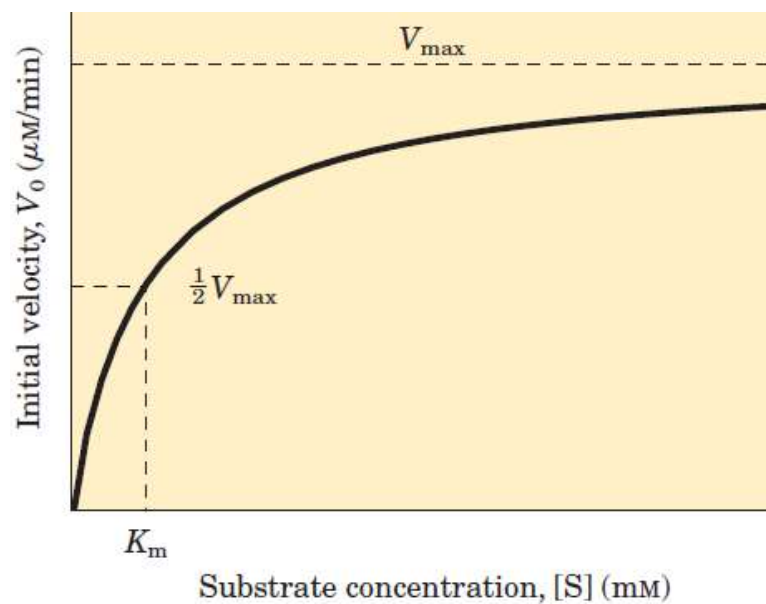
6. Inhibitor

Keberadaan inhibitor akan menurunkan kecepatan reaksi enzimatik. Inhibitor dapat membentuk kompleks dengan enzim baik pada sisi aktif enzim maupun bagian lain dari sisi aktif enzim. Terbentuknya kompleks enzim inhibitor akan menurunkan aktivitas enzim terhadap substratnya. Aktivitas enzim sering digunakan dalam satuan unit (U) yaitu jumlah enzim yang mengkatalisis 1 mikromol substrat per menit pada kondisi tertentu. Sedangkan kemurnian enzim dinyatakan dalam aktivitas spesifik yaitu jumlah unit aktivitas per mg protein (Winarno, 1983).

2.2.3 Kinetika Inhibitor Enzim

Faktor penentu yang mempengaruhi laju reaksi yang dikatalisis oleh enzim adalah konsentrasi substrat [S]. Penentuan kinetika dipelajari berdasarkan fakta

konsentrasi substrat berubah selama reaksi berjalan membentuk produk. Salah satu pendekatan yang sederhana dalam penentuan kinetika enzim yakni dengan mengukur kecepatan awal atau V_0 , yang menggambarkan konsentrasi substrat jumlahnya lebih besar dari konsentrasi enzim. Pengaruh variasi konsentrasi substrat pada kecepatan awal ditunjukkan pada Gambar 4. Pada konsentrasi substrat yang relatif rendah, peningkatan V_0 linear terhadap peningkatan konsentrasi substrat (Lehninger, 2004).



Gambar 4. Pengaruh Konsentrasi substrat terhadap kecepatan reaksi katalitik enzim

Seiring meningkatnya konsentrasi substrat, menyebabkan V_0 juga bertambah secara perlahan-lahan, hingga pada titik tertentu peningkatan V_0 tidak terjadi ketika konsentrasi substrat ditingkatkan. Nilai V_0 tidak dapat mencapai titik V_{maks} , konsentrasi substrat dimana V_0 bernilai setengah dari V_{maks} disebut dengan tetapan Michaelis-Menten atau K_M . Kecepatan maksimum dari reaksi yang dikatalisasi (V_{max}) dicapai ketika keseluruhan enzim telah membentuk kompleks ES dan konsentrasi enzim semakin kecil. Dalam kondisi ini, enzim

tersebut telah jenuh terhadap substrat, sehingga meningkatnya konsentrasi substrat tidak mempengaruhi laju reaksi. Kondisi ini terjadi ketika jumlah substrat cukup, sehingga pada semua enzim bebas telah dikonversi menjadi kompleks ES (Lehninger, 2004). Dari Gambar 4 dibuat persamaan (1)

$$V_0 = \frac{V_{maks} [S]}{K_m + [S]} \quad (1)$$

Dimana V_0 adalah kecepatan awal, V_{maks} adalah kecepatan maksimum, S adalah substrat dan K_M adalah tetapan Michaelis-Menten. Susanti dan Fibriana (2017) menyebutkan bahwa dari persamaan (1) dapat dibuat grafik liner hingga diperoleh persamaan baru yang disebut persamaan Lineweaver-Burk, yaitu:

$$\frac{1}{V} = \left[\frac{K_m}{V_{maks}} \right] \times \frac{1}{S} + \frac{1}{V_{maks}} \quad (2)$$

Persamaan (2) dapat digunakan dalam menentukan jenis inhibitor enzim xantin oksidase. Beberapa bahan dapat mengubah aktivitas enzim, dengan cara mereduksi aktivitas suatu enzim yang disebut dengan inhibitor (Simanjuntak dan Silalahi, 2003). Inhibitor dan aktivator secara kimia kadangkala sulit untuk dibedakan. Adanya inhibitor maupun aktivator dapat mempengaruhi daya katalisator enzim. Hal ini disebabkan inhibitor atau aktivator dapat mengubah struktur enzim jika saling bereaksi (Boyer, 1970). Kinetika inhibitor terbagi atas dua jenis yaitu *Irreversible Inhibitor* dan *Reversible Inhibitor* (Girindra, 1986).

1. Irreversible Inhibitor

Inhibitor jenis ini akan berikatan kovalen dan sulit terlepas pada sisi aktif enzim. Sehingga disosiasi terjadi sangat lambat. Enzim tidak dapat mengikat substrat dan merusak komponen pada sisi aktif enzim sehingga merubah sisi

katalitik enzim dan inhibitor tidak dapat dikembalikan. Kelompok inhibitor ireversibel biasanya memiliki kelompok gugus fungsi reaktif seperti mustard nitrogen, aldehida, haloalkanes, alkena, akseptor Michael, sulfonat fenil, atau fluorophosphonates (Girindra, 1986).

2. Reversible Inhibitor

Tipe inhibitor dapat balik atau *Reversible Inhibitor* merupakan jenis penghambatan yang umum dikenal sebagai penghambatan kompetitif. Inhibitor kompetitif bersaing dengan substrat memperebutkan sisi aktif enzim. Ketika inhibitor (I) menempati sisi aktif enzim maka akan mencegah pengikatan substrat-enzim. Banyak inhibitor kompetitif adalah senyawa yang menyerupai substrat dan bergabung dengan enzim untuk membentuk kompleks EI. Dengan mengetahui geometri molekul inhibitor yang menyerupai molekul substrat, dapat disimpulkan mengenai bagian substrat yang berikatan dengan enzim (Lehninger, 2004).

Tipe penghambatan lainnya yaitu unkompetitif dan campuran. Tipe penghambatan unkompetitif mengikat pada lokasi yang berbeda dari situs aktif substrat tidak seperti yang inhibitor kompetitif yang berikatan pada kompleks enzim-substrat (Lehninger, 2004). Peningkatan konsentrasi substrat tidak membantu terlepasnya kompleks enzim-inhibitor, sehingga nilai V_{maks} dapat berubah. Namun, pada kondisi ini substrat tetap berikatan dengan enzim maka nilai K_m tidak berubah (Winarno, 1983). Sedangkan jenis inhibisi unkompetitif jarang ditemukan dan terjadi pada enzim multimerik (Susanti dan Fibriana, 2017).

2.3 Inhibitor Enzim Xantin Oksidase

Aktivitas enzim XO dapat diperlambat atau dihentikan dengan bantuan inhibitor. Menurunnya aktivitas enzim XO akan berpengaruh pada penurunan kadar asam urat dalam tubuh. Pengobatan yang dapat dilakukan yaitu dengan menurunkan aktivitas enzim XO atau meningkatkan ekskresi asam urat melalui ginjal (Tehupeiory, 1996). Umumnya masyarakat menggunakan terapi secara tradisional dengan memanfaatkan tumbuh-tumbuhan yang dipercaya dapat mengobati asam urat. Selain itu, terapi obat juga banyak dilakukan. Dalam hal ini penggunaan obat sintetik yaitu Allopurinol (Wulandari, dkk., 2012).

Allopurinol memiliki rumus kimia $C_5H_4N_4O$ sebesar 98% berbentuk serbuk putih, berbau, dapat larut dalam larutan kalium dan larutan natrium hidoksida. Sangat sukar larut dalam etanol, kloroform, eter dan air (Dewi, 2012). Allopurinol memiliki struktur mirip xantin yang merupakan substrat XO. Dalam reaksinya allopurinol lebih mudah bereaksi dengan enzim XO dibandingkan dengan substratnya (xantin) sebab afinitas allopurinol lebih tinggi (Voet, dkk., 2008). Namun, sama halnya dengan bahan kimia yang lain, obat-obat sintetik biasanya memberikan efek lain selain efek pengobatan. Dampak negatif dari Allopurinol dapat memberikan efek samping seperti alergi pada kulit, demam, kelainan fungsi hati bahkan kematian (Alexander, dkk., 2011).

Sebab penggunaan obat sintetik dapat memberikan dampak negatif bagi kesehatan maka masyarakat lebih memilih menggunakan tanaman obat tradisional. Tanaman menjadi sumber senyawa metabolit sekunder, yang dipercaya dapat mengobati berbagai penyakit (Alexander, dkk., 2011). Beberapa arepenelitian yang telah dilakukan, menyebutkan bahwa senyawa metabolit yang

dapat menghambat kinerja enzim XO yakni flavonoid dan polifenol (Wulandari, dkk., 2012). Senyawa metabolit ini efektif dalam menghambat aktivitas enzim XO sebab kandungan gugus fenolik yang dimiliki (Iswantini, dkk., 2012).

2.4 Biji Aren (*Arenga pinnata* Merr)

2.4.1 Klasifikasi Biji Aren (*Arenga pinnata* Merr)

Secara ilmiah klasifikasi tanaman aren menurut Stenis V. (2005) yakni:

Regnum	: Plantae
Divisio	: Magnoliophyta (Angiospermae)
Classis	: Liliopsida (Monocotyledoneae)
Ordo	: Arecales
Famili	: Arecaceae
Genus	: <i>Arenga</i>
Spesies	: <i>Arenga pinnata</i> Merr

2.4.2 Morfologi Biji Aren (*Arenga pinnata* Merr)

Tanaman aren termasuk jenis monokotil dengan diameter batang mencapai 70 cm. Tinggi pohon aren sekitar 5 meter hingga 20 meter (Henderson, 2009). Panjang daun dapat mencapai 5.5 meter dengan bentuk majemuk. Terdapat serabut-serabut hitam di bawah pangkal daun. Bentuk bunga dari pohon aren bercabang dan menggantung hingga panjangnya dapat mencapai 60 cm (Lasut, 2012). Daun aren muda selalu berdiri tegak di pucuk batang, daun muda yang masih tergulung lunak seperti kertas. Pelepah daun melebar di bagian pangkal dan menyempit ke arah pucuk. Susunan anak daun pada pelepah seperti duri-duri sirip ikan, sehingga daun aren disebut bersirip (Lempang, 2012). Bunga jantan berwarna kecoklatan memiliki tiga daun bunga dan 3 helai kelopak bunga

sedangkan, bunga betina berwarna kehijauan dengan ruas-ruas mahkota bunga berbentuk segitiga (Lasut, 2012). Hasil penyerbukan bunga jantan dan betina oleh bantuan serangga akan membentuk buah, bentuk buah aren bulat berukuran 4x5 cm, berwarna hijau saat belum matang dan berubah kuning apabila telah masak. Dengan di dalamnya terdapat 3 biji keras berwarna putih agak bening terlihat pada Gambar 5. Buah aren menggantung pada tandan dengan pancang mencapai 90 cm. (Ramadani, dkk., 2008).



Gambar 5. Buah Aren (Lasut, 2012)

Masyarakat banyak memanfaatkan pohon aren dengan mengolah nira hingga batang pohonnya menjadi produk yang lebih bermanfaat. Mayoritas masyarakat, salah satunya di daerah limbangan mengolah nira aren menjadi gula aren, membuat ijuk dari pohon aren, biji buah aren diolah menjadi kolang-kaling sebagai bahan berbagai macam jenis makanan dan minuman (Hartati, dkk., 2016). Antara lain dalam pembuatan kolak, ronde, *ice jumbo*, es campur, cake, minuman kaleng, manisan dan lain-lain (Lempang, 2012). Tahapan mengolah buah aren menjadi kolang-kaling secara berturut-turut yaitu (1) pemetikan buah kolang kaling, (2) perontokan buah dari batang, (3) perebusan buah, (4) pengupasan

buah, (5) pemipihan, (6) pencucian, dan (7) perendaman. Selain itu, batang pohon yang sudah tidak produktif ditebang dan diolah menjadi tepung. (Hartati, dkk., 2016).

2.4.3 Penyebaran Aren (*Arenga pinnata* Merr)

Aren memiliki kemampuan beradaptasi terhadap lingkungannya di berbagai daerah agroekosistem (Permentan, 2013). Pohon aren tumbuh di berbagai negara di Asia bagian tenggara diantaranya antara lain Malaysia, Myanmar, Laos, Vietnam Kepulauan Ryukyu, Philipina. Aren juga dapat ditemukan dari pantai barat India sampai ke sebelah selatan Cina dan juga kepulauan Guam. Sedangkan di Indonesia sendiri, pohon aren tersebar hampir di seluruh wilayah Nusantara. Terutama pada daerah-daerah perbukitan yang lembab (Lempang, 2012).

Aren dapat tumbuh di wilayah tropis basah dan di dataran rendah hingga ketinggian 1400 meter di atas permukaan laut (Sarmi, dkk., 2016). Namun, yang paling baik pertumbuhannya pada ketinggian 500–700 meter di atas permukaan laut dengan curah hujan lebih dari 1200-3500 mm/tahun. Kelembaban tanah dan curah hujan yang tinggi berpengaruh dalam pembentukan mahkota daun tanaman aren. Untuk pertumbuhan dan pembuahan, tanaman aren membutuhkan suhu 20 °C hingga 25 °C. Tanaman ini dapat tumbuh dengan baik di daerah pegunungan, lembah, dekat aliran sungai, daerah dan banyak dijumpai di hutan (Permentan, 2013).

2.4.4 Manfaat Biji Aren (*Arenga pinnata* Merr)

Kolang-kaling umum dikonsumsi oleh masyarakat Indonesia, penduduk pulau Jawa sangat menggemari olahan dari biji aren ini. Kolang-kaling

merupakan hasil olahan dari biji buah aren yang setengah masak. Biji buah aren terdiri atas bagian kulit luar, daging buah, kulit biji, dan endosperm. Kolang-kaling yang telah diolah, maka warnanya akan berubah menjadi putih kekuningan, teksturnya menjadi lunak dan kenyal (Sarmi, dkk., 2016).

Buah aren hingga saat ini hanya dikonsumsi sebagai olahan makanan atau minuman. Konsumsi kolang-kaling juga masih terbatas, masyarakat umumnya mengonsumsi pangan ini hanya diwaktu-waktu tertentu saja, seperti hanya pada bulan Ramadhan. Sehingga tingkat konsumsi buah ini masih rendah dan terbatas (Sarmi, dkk., 2016).

Setiap 100 g kolang-kaling mengandung energi 27 kkal, protein 0,4 g, lemak 0,2 g, karbohidrat 6 g, serat 1,6 g, kalsium 91 mg, fosfor 243 mg dan zat besi 0,5 mg. Kandungan gizi kolang kaling tersebut bermanfaat bagi kesehatan dan bisa memulihkan stamina serta kebugaran badan. Kolang-kaling memiliki kandungan mineral seperti potasium, iron, kalsium yang bisa menyegarkan tubuh, serta memperlancar metabolisme tubuh. Selain itu, juga mengandung vitamin A, vitamin B, dan vitamin C (Julianto, 2014).

Kolang-kaling kaya akan kandungan serat di dalamnya. Manfaat serat dalam tubuh sangat penting yakni memperlancar pencernaan, proses pembuangan air besar menjadi teratur sehingga dapat mencegah obesitas, dapat mencegah penyakit jantung coroner, penyakit kencing manis dan kanker usus (Lutony, 1993). Menurut Sarmi dkk. (2016) galaktomannan pada biji aren dapat dimanfaatkan sebagai bahan dasar edible film, pengental, stabilizer emulsi, dan bahan aditif baik pada industri pangan maupun industri obat-obatan. Galaktomannan juga digunakan sebagai pembawa obat untuk kontrol pelepasan

obat (Tarigan dan Purba, 2015). Galaktomanan juga dipercaya dapat digunakan sebagai analgesik dan anti-implamasi terapi obat terapi nyeri sendi atau osteoarthritis (Dian, 2015). Antioksidan dapat diinkorporasi kedalam atau dilapiskan pada bahan makanan untuk mengurangi oksidasi senyawa asam lemak tidak jenuh dan warna sehingga dapat menambah kualitas pengawetan makanan (Lee, 2005).

2.5 Uji Aktivitas Enzim Xantin Oksidase

Uji aktivitas enzim bertujuan untuk mengetahui potensi suatu senyawa dalam menghibisi atau mengaktivasi kinerja dari suatu enzim. Beberapa penelitian menyebutkan bahwa senyawa–senyawa metabolit seperti flavonoid dapat mencegah kinerja enzim XO. Seperti yang dilakukan oleh Eff, dkk. (2016) yakni menguji aktivitas inhibisi XO oleh isolat 6,4'-Dihidroksi-4-Metoksibenzofenon-2-O-β-D-Glukopiranosid dengan menggunakan Spektrofotometer UV-Vis di bawah kondisi aerob. Selain itu, Ernawati dan Susanti (2014) telah melakukan uji penghambatan aktivitas XO oleh ekstrak etanol sarang semut (*Myrmecodia Tuberosa* (Non Jack) secara *in vitro* dengan metode spektrofotometri dimana aktivitas enzim XO diamati dari kecepatan pembentukan asam urat pada panjang gelombang maksimum. Persen aktivitas relatif dihitung dengan menggunakan persamaan (3):

$$\% \text{ Aktivitas relatif} = \frac{\text{Aktivitas penghambatan}}{\text{Aktivitas tanpa penghambatan}} \times 100 \% \quad (3)$$