

**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)**

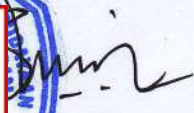
**Disusun dan diajukan oleh:**

**NURUL FAJRIAH K.  
H311 15 320**

**Skripsi ini telah diperiksa dan disetujui oleh:**

**Pembimbing Utama**



  
**Natsir, M.Si**  
620320 198711 2 001

**Pembimbing Pertama**



  
**Arfah, M.Si**  
Nip. 19861008 201504 1 002



Optimization Software:  
[www.balesio.com](http://www.balesio.com)

## 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



Nurul Fajriah K.



Optimization Software:  
[www.balesio.com](http://www.balesio.com)

## 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.

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  $\text{Ca}^{2+}$  bertindak sebagai aktivator dengan meningkatkan aktivitas relatif pada konsentrasi 10 mM dan 50 mM secara berturut-turut 12% dan 35.60%, serta ion logam  $\text{Cd}^{2+}$  konsentrasi 10 mM dan 50 mM, tidak meningkatkan aktivitas relatif secara signifikan yaitu hanya 3% dan 9%. Sedangkan ion logam  $\text{Cu}^{2+}$  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  $V_{\text{maks}}$  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  $\text{Ca}^{2+}$  acts as an activator by increasing relative activity at concentrations of 10 mM and 50 mM respectively 12% and 35.60%, and  $\text{Cd}^{2+}$  metal ion concentrations of 10 mM and 50 mM, the relative activity does not increase significantly only 3% and 9%. Whereas,  $\text{Cu}^{2+}$  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
Enzim.....	9
2.1.1 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
<b>BAB III METODE PENELITIAN.....</b>	<b>24</b>
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
<b>PADA W</b> HASIL DAN PEMBAHASAN .....	35
Isolasi Enzim Xantin Oksidase dari Susu Sapi.....	35
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 $\lambda_{maks}$ 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 Aktivitas 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 $\lambda_{maks}$ .....	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 <sub>50</sub>	: 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 <sub>M</sub>	: Tetapan Michaelis-Menten
V <sub>maks</sub>	: 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)

alah satu jenis enzim oksidoreduktase yang berfungsi sebagai  
kan 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

susu kambing berturut-turut yaitu suhu 20 °C, rentang pH antara 7.2-7.4 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 (Arief, 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

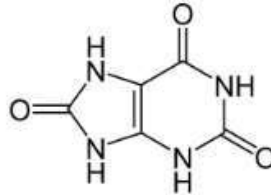
Asam urat diproduksi dari proses metabolisme purin yang menghasilkan kristal dan mengendap pada daerah persendian. Hal ini memberikan efek nyeri, kaku, dan bengkak. Jika kadar asam urat dalam tubuh meningkat melebihi batas normal maka akan terjadi yang disebut dengan hiperurisemia. Jika kondisi ini terus 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 (monododium urat) dapat terbentuk dua kali lebih banyak dibandingkan pada asam. Dalam kondisi netral ion urat tersebar di dalam darah. Rata-rata akan 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 articular 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  $\mu\text{g/mL}$  merupakan batas minimum. Sedangkan, bagi pria batas minimumnya adalah 30-70  $\mu\text{g/mL}$ . Jika asam urat telah melewati 60  $\mu\text{g/mL}$  maka dikatakan hiperurisemia untuk wanita, tapi normal bagi pria selama konsentrasi asam urat di bawah 70  $\mu\text{g/mL}$  (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

kelebihan mengonsumsi makanan berkadar purin tinggi seperti daging, kerang, kepiting, keju, gorengan, tape, bayam, buncis, kacang tanah, petai, dan alkohol, serta efek dari penyakit seperti leukemia, kemoterapi dan



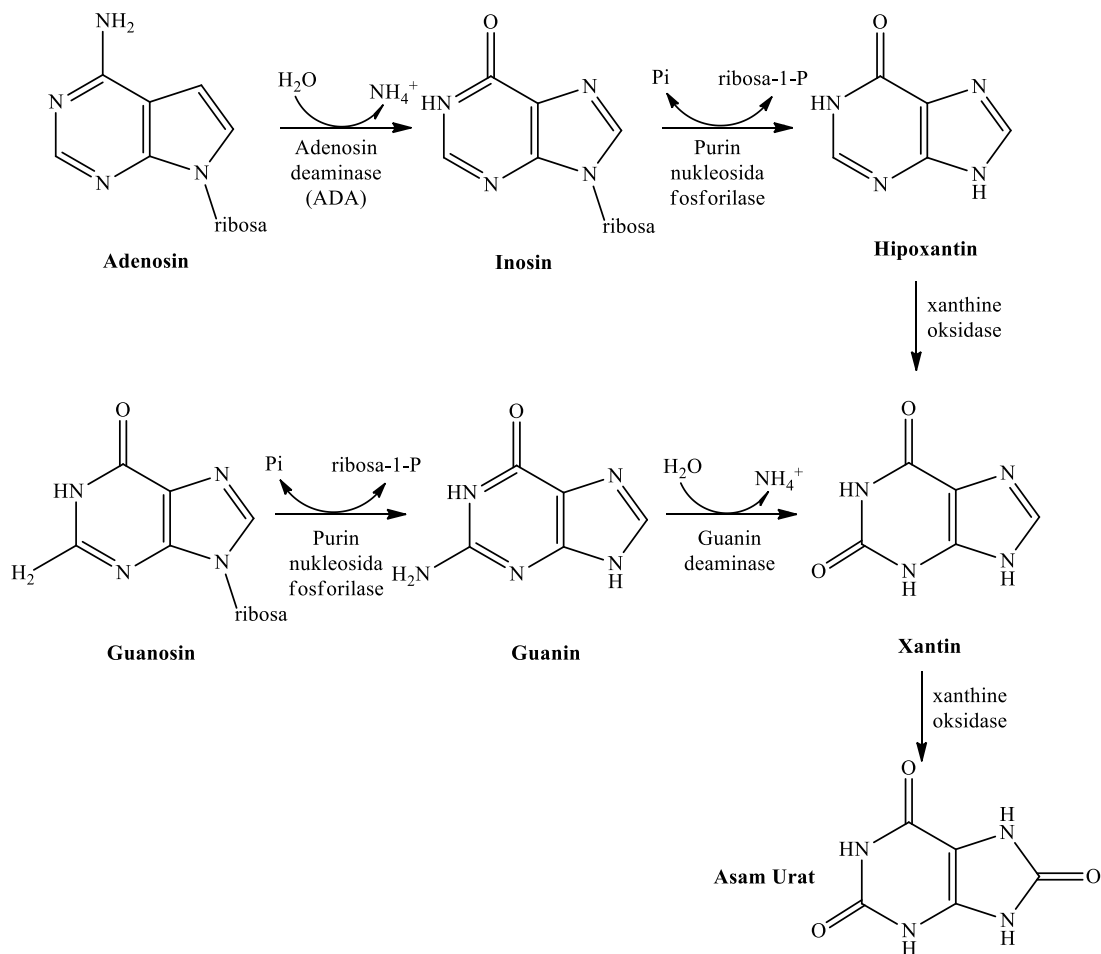
radioterapi (Eff, dkk., 2016). Dapat juga disebabkan oleh faktor kelebihan produksi asam urat dalam tubuh, obesitas, diabetes yang disertai tekanan darah tinggi. Pada kasus diabetes dan obesitas sebagian besar glukosa dipecah menjadi asetil co-A, dilanjutkan dengan pembentukan  $\alpha$ -ketoglutarat dan pembebasan sejumlah energi dalam siklus *crab*. Glutamin akan terbentuk dari ikatan antara protein dengan  $\alpha$ -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

menjadi asam urat. Mekanisme pembentukan asam urat dapat dilihat 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

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).

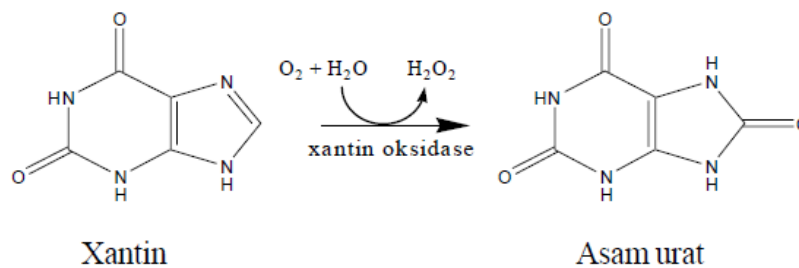
Oksidoreduktase merupakan enzim yang berperan dalam mengkatalisis reaksi reduksi dan oksidasi. Koenzim yang digunakan dalam reaksi ini biasanya NAD, NADP, FAD, Lipoat, dan Koenzim Q. Enzim-enzim yang termasuk ke dalam kelompok ini yakni dehidrogenase, oksidase, peroksidase, reduktase, hidroksilase dan 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 Koctic dkk. (2015) pada tahun 1902, Schardinger meneliti enzim yang terkandung di dalam susu. Enzim ini mampu mengoksidasi 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 jaringan mamalia hingga manusia. Enzim xantin oksidase dapat mengoksidasi berbagai substrat termasuk purin, pirimidin, pteridin, azo purin,



sitokrom C, senyawa heterosiklik, oksigen,  $\text{NAD}^+$ , 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  $\text{NAD}^+$  sebagai koenzim, dapat dikonversi menjadi xantin oksidase dengan bantuan  $\text{O}_2$  sebagai akseptor elektron, begitupun sebaliknya (Jadhao, dkk., 2018).

Satu unit enzim XO dapat mengkonversi 1  $\mu\text{g}$  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 enzimatis bertambah pada saat bertambahnya konsentrasi enzim dan konsentrasi substrat konstan. Menurut Dewi (2012) kecepatan reaksi 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 kimia dipengaruhi oleh konsentrasi hidrogen. Keseimbangan hidrogen akan mempengaruhi 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

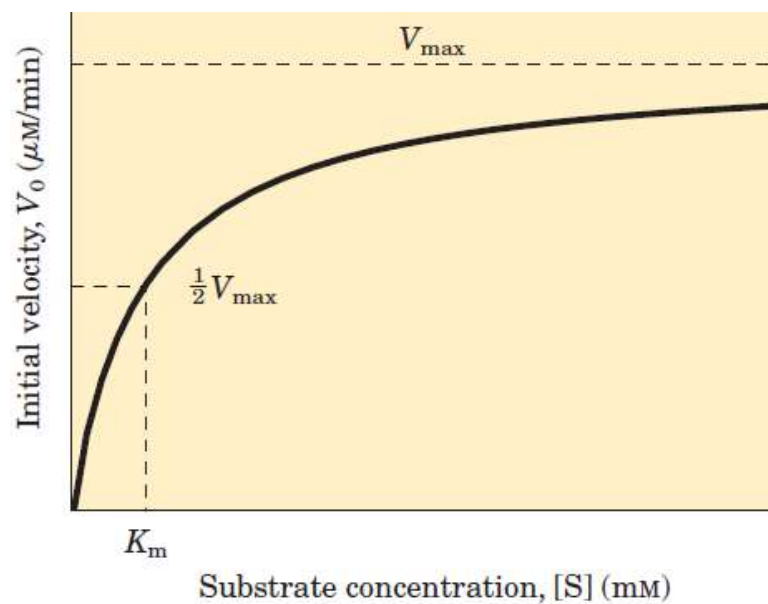
Keberadaan inhibitor akan menurunkan kecepatan reaksi enzimatik. Inhibitor dapat membentuk kompleks dengan enzim baik pada sisi aktif enzim maupun bagian lain dari sisi aktif enzim. Terbentuknya kompleks enzim inhibitor akan menurunkan aktivitas enzim terhadap substratnya. Aktivitas enzim sering digunakan 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).



### Kinetika Inhibitor Enzim

Kofaktor penentu yang mempengaruhi laju reaksi yang dikatalisis oleh enzim 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

konstanta Michaelis-Menten atau  $K_M$ . Kecepatan maksimum dari reaksi katalisis ( $V_{maks}$ ) 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. Sehingga disosiasi terjadi sangat lambat. Enzim tidak dapat mengikat 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

dapat mengobati berbagai penyakit (Alexander, dkk., 2011). Beberapa penelitian 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

sirip ikan, sehingga daun aren disebut bersirip (Lempang, 2012). Bunga 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

kolang-kaling secara berturut-turut yaitu (1) pemetikan buah kolang  
2) perontokan buah dari batang, (3) perebusan buah, (4) pengupasan

