

**UJI ANTIOKSIDAN DAN INHIBISI DAUN *BAMBUSA VULGARIS*
TERHADAP AKTIVITAS ENZIM XANTIN OKSIDASE
YANG DIISOLASI DARI REBUNG**

ANTIOXIDANT AND INHIBITION TEST OF *BAMBUSA VULGARIS*
LEAVES ON XANTHINE OXIDASE ENZYME ACTIVITY
ISOLATED FROM BAMBOO SHOOTS

INAL IQBAL



**PROGRAM STUDI MAGISTER KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2023**

**UJI ANTIOKSIDAN DAN INHIBISI DAUN *BAMBUSA VULGARIS*
TERHADAP AKTIVITAS ENZIM XANTIN OKSIDASE
YANG DIISOLASI DARI REBUNG**

Tesis

Sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar magister

Program Studi Kimia

Disusun dan diajukan oleh

INAL IQBAL

H012201009

kepada

**PROGRAM STUDI MAGISTER KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2023**

TESIS

**UJI ANTIOKSIDAN DAN INHIBISI DAUN *BAMBUSA VULGARIS*
TERHADAP AKTIVITAS ENZIM XANTIN OKSIDASE YANG DIISOLASI
DARI REBUNG**

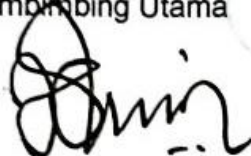
INAL IQBAL

NIM: H012201009

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam
rangka Penyelesaian Studi Program Magister Kimia Fakultas Matematika
dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin
pada tanggal 16 Februari 2023
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui

Pembimbing Utama



Dr. Hasnah Natsir, M.Si
NIP. 196203201987112001

Pembimbing Pendamping



Dr. Seniwati Dali, M.Si
NIP. 195812311988032003

Ketua Program Studi
Magister Kimia



Dr. Hasnah Natsir, M.Si
NIP. 196203201987112001

Dekan Fakultas MIPA
Universitas Hasanuddin



Dr. Eng. Amiruddin, M.Si
NIP. 197205151997021002

**PERNYATAAN KEASLIAN TESIS
DAN KELIMPAHAN HAK CIPTA**

Dengan ini saya menyatakan bahwa, tesis berjudul "Uji Antioksidan dan Inhibisi Daun *Bambusa vulgaris* terhadap Aktivitas Enzim Xantin Oksidase yang Diisolasi dari Rebung" adalah benar karya saya dengan arahan dari komisi pembimbing (Dr. Hasnah Natsir, M.Si sebagai Pembimbing Utama dan Dr. Seniwati Dali, M.Si sebagai Pembimbing Pendamping). Karya ilmiah ini belum diajukan dan tidak sedang diajukan dalam bentuk apapun kepada perguruan tinggi manapun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka tesis ini. Sebagian dari isi tesis ini telah dipublikasikan di *AIP Conference Proceeding* sebagai aritkel dengan judul "*Isolation and Determination of Xanthine Oxidase Enzyme Activity from Bamboo Shoots (Bambusa vulgaris)*".

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta dari karya tulis saya berupa tesis ini kepada Universitas Hasanuddin.

Makassar, 20 Februari 2023



Inal Iqbal

NIM: H012201009

Ucapan Terima Kasih

Bismillahirrahmanirrahim, segala puji dan syukur kehadiran Allah *Subhaanahuwata'ala* yang telah memberikan rahmat, hidayah dan kemudahan yang selalu diberikan kepada hamba-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis ini dengan judul "**Uji Antioksidan dan Inhibisi Daun *Bambusa vulgaris* terhadap Aktivitas Enzim Xantin Oksidase yang Diisolasi dari Rebung**" sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar Magister Sains. Salawat dan salam kepada Nabi Muhammad *Shallallaahu 'alaihi wa sallam*.

Kepada kedua orang tua tercinta, ayahanda **Muh. Bakri Johari**, dan ibunda **Rohani Najamuddin** terima kasih untuk setiap semangat, bantuan, kasih sayang dan doa yang senantiasa tak henti-hentinya diberikan kepada saya., semoga Allah *Subhaanahuwata'ala* senantiasa meridhoi, melimpahkan rahmat-Nya berupa kasih sayang, keteguhan hati di atas agama Allah, dan kemuliaan di dunia dan di akhirat Insya Allah.

Penulis menyadari bahwa banyak pihak yang telah membantu dalam menyelesaikan penulisan tesis ini. Iringan doa dan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya penulis sampaikan kepada Ibu **Dr. Hasnah Natsir, M.Si.** selaku penasehat utama dan Ibu **Dr. Seniwati Dali, M.Si.** selaku penasehat pertama yang dengan penuh kesabaran, ketelatenan dan keikhlasan ditengah-tengah kesibukannya meluangkan waktu untuk memberikan bimbingan serta pengarahan dalam menyelesaikan penelitian ini.

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

1. Komisi Penilai, **Prof. Dr. Abd. Wahid Wahab. M.Sc., Prof. Dr. Nunuk Hariani Soekamto, M.Sc., dan Dr. Yusafir Hala, M.Si.**, terima kasih atas masukan berupa kritik dan saran yang telah diberikan demi penyempurnaan penulisan tesis.
2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin, Ketua Program Studi S2 Ilmu Kimia, dan seluruh dosen Kimia Pascasarjana Universitas Hasanuddin yang telah membagi ilmunya serta seluruh staf Fakultas MIPA Universitas Hasanuddin.

3. Kepala Laboratorium dan seluruh staf Laboratorium Biokimia, dan Laboratorium Science Building Fakultas MIPA Universitas Hasanuddin, terima kasih atas segala bantuan fasilitas yang telah diberikan selama penelitian berlangsung.
4. Staf Program Studi S2 Kimia yang selalu membantu dan memberikan masukannya dalam penyelesaian administrasi.
5. Rekan kerja penelitian biokimia, **Siti Khairunnur, Besse Illang Sari, Mira Khairunnisa, Jumardi, Ade Rahmawati Idris, dan Aisyah Rusdin** atas segala bantuan, dukungan, masukan, saran, doa dan semangatnya.
6. Teman-teman S2 Kimia Angkatan **2020** terima kasih atas segala bantuan dan semangatnya.
7. Keluarga Besar Sekolah Islam Al Bayyinah Makassar.
8. Semua pihak yang telah membantu penulis selama menyelesaikan penelitian ini.

Penulis menyadari bahwa dalam tesis ini masih banyak kekurangan baik materi maupun teknik penulisan, oleh karena itu penulis berharap saran dan kritik yang bersifat membangun dari pembaca, dan semoga tulisan ini dapat bermanfaat bagi pembaca dalam pengembangan ilmu pengetahuan bidang ilmu biokimia.

Terima Kasih.

Makassar, 16 Februari 2023
Penulis

Inal Iqbal

ABSTRAK

INAL IQBAL. “Uji Antioksidan dan Inhibisi Daun *Bambusa vulgaris* terhadap Aktivitas Enzim Xantin Oksidase yang Diisolasi dari Rebung” (dibimbing oleh Hasnah Natsir dan Seniwati Dali)

Xantin oksidase (XO) merupakan enzim oksidoreduktase yang berperan dalam metabolisme purin dengan mengubah hipoksantin menjadi xantin yang kemudian diubah menjadi asam urat (AU). AU merupakan penyakit kronis tidak menular ditandai dengan terjadinya hiperurisemia dengan mekanisme pembentukan asam urat yang disebabkan oleh enzim XO. Bahan alam yang dapat menghambat enzim XO salah satunya yaitu daun bambu (*Bambusa vulgaris*) karena banyak mengandung senyawa bioaktif. Penelitian ini bertujuan mengisolasi dan mengkarakterisasi enzim XO dari rebung, serta melakukan uji inhibisi dan antioksidan menggunakan ekstrak etanol dan air dari daun *Bambusa vulgaris*. Isolasi enzim XO dari *Bambusa vulgaris* menggunakan metode ekstraksi kemudian disentrifugasi untuk mendapatkan ekstrak kasar enzim. Selanjutnya pemurnian awal dilakukan dengan fraksinasi amonium sulfat pada tingkat kejenuhan 0-100%. Uji aktivitas, karakterisasi dan inhibisi enzim XO menggunakan spektrofotometer UV-VIS, serta uji antioksidan dengan metode DPPH. Hasil penelitian menunjukkan bahwa enzim XO dapat diisolasi dari rebung, dan aktivitas optimumnya diperoleh pada kondisi: waktu inkubasi 25 menit, pH 6, suhu 30°C, dan konsentrasi substrat 0,15 mM. Aktivitas XO tersebut diaktifkan oleh ion logam Mn^{2+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} dan dihambat ion logam Ba^{2+} . Hasil uji antioksidan terhadap ekstrak etanol dan air dari daun muda, tua, dan sangat tua *Bambusa vulgaris* termasuk kategori kuat. Inhibisi ekstrak etanol dan air dari daun tua *Bambusa vulgaris* merupakan inhibisi tertinggi dibandingkan ekstrak lainnya yaitu sebesar 80,19% dan 58,81% dengan tipe penghambatan unkompetitif. Berdasarkan hasil penelitian ini dapat diasumsikan bahwa ekstrak daun *Bambusa vulgaris* dapat digunakan sebagai inhibitor enzim XO yang bersumber dari rebung.

Kata kunci: Isolasi, Inhibisi, Xantin Oksidase, *Bambusa vulgaris*.

ABSTRACT

INAL IQBAL. “**Antioxidant and Inhibition Test of *Bambusa vulgaris* Leaves on Xanthine Oxidase Enzyme Activity Isolated from Bamboo Shoots**”
(guided by Hasnah Natsir and Seniwati Dali)

Xanthine oxidase (XO) is an oxidoreductase enzyme that plays a role in purine metabolism by converting hypoxanthine to xanthine which is then converted to uric acid (AU). AU is a chronic non-communicable disease characterized by the occurrence of hyperuricemia with the mechanism of uric acid formation caused by the XO enzyme. One of the natural ingredients that can inhibit XO enzymes is bamboo leaves (*Bambusa vulgaris*) because they contain many bioactive compounds. This study aims to isolate and characterize the XO enzyme from bamboo shoots as well as perform inhibition and antioxidant tests using ethanol and water extracts from *Bambusa vulgaris* leaves. Isolation of the XO enzyme from *Bambusa vulgaris* used the extraction method, and then it was centrifuged to obtain the crude extract of the enzyme. Furthermore, the initial purification was carried out by fractionating ammonium sulfate at a saturation level of 0-100%. Test the activity, characterization, and inhibition of the XO enzyme using a UV-VIS spectrophotometer, as well as the antioxidant test using the DPPH method. The results showed that the XO enzyme could be isolated from bamboo shoots, and its optimum activity was obtained under the following conditions: a 25-minute incubation time at pH 6, a temperature of 30 C, and a substrate concentration of 0.15 mM. The XO activity is activated by the metal ions Mn^{2+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} and inhibited by the metal ion Ba^{2+} . The results of antioxidant tests on ethanol and water extracts from young, old, and very old *Bambusa vulgaris* leaves were in the strong category. Inhibition of ethanol and water extracts from old leaves of *Bambusa vulgaris* showed the highest inhibition compared to other extracts, namely 80.19% and 58.81% with uncompetitive inhibition types. Based on the results of this study, it can be assumed that *Bambusa vulgaris* leaf extract can be used as an XO enzyme inhibitor originating from bamboo shoots.

Keywords: Isolation, Inhibition, Xanthine Oxidase, *Bambusa vulgaris*.

DAFTAR ISI

HALAMAN PENGESAHAN.....	Error! Bookmark not defined.ii
PERNYATAAN KEASLIAN.....	viii
UCAPAN TERIMA KASIH.....	iv
ABSTRAK.....	viii
ABSTRACT.....	viii
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR GAMBAR.....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
DAFTAR SIMBOL DAN SINGKATAN.....	xiv
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	5
1.4 Manfaat Penelitian.....	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1 Asam Urat.....	6
2.2 Tinjauan Umum Bambusa vulgaris.....	9
2.3 Rebung.....	11
2.4 Daun Bambusa vulgaris.....	13
2.5 Enzim XO.....	15
2.5.1. Faktor-Faktor yang Memengaruhi Aktivitas Enzim XO.....	16
2.5.2. Inhibitor Enzim XO.....	19
2.5.3. Kinetika Enzim.....	21
2.5.4. Pemurnian Enzim XO.....	21
2.6 Hasil Penelitian Isolasi Enzim XO dan Penghambatannya.....	25
2.7 Antioksidan.....	26
2.8 Kerangka Pikir.....	27
2.9 Hipotesis.....	29
BAB III METODE PENELITIAN.....	30

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian.....	30
3.2 Alat dan Bahan.....	30
3.2.1 Alat	30
3.2.2 Bahan	30
3.3 Prosedur Penelitian.....	30
3.3.1 Isolasi Enzim XO dari Rebung.....	30
3.3.2 Penentuan Aktivitas Enzim XO	31
3.3.3 Penentuan Kadar Protein Enzim XO	31
3.3.4 Pemurnian Enzim XO	32
3.3.4.1 Fraksinasi dengan Amonium Sulfat.....	32
3.3.4.2 Dialisis dalam Membran Selofan	33
3.3.5 Karakterisasi Enzim XO	33
3.3.5.1 Penentuan Waktu Inkubasi Optimum Enzim.....	33
3.3.5.2 Penentuan pH Optimum Enzim XO.....	33
3.3.5.3 Penentuan Suhu Optimum Enzim	34
3.3.5.4 Penentuan Konsentrasi Substrat Optimum Enzim.....	34
3.3.5.5 Pengaruh Ion-ion Logam terhadap Aktivitas Enzim XO	34
3.3.6 Ekstraksi dan Uji Fitokimia.....	35
3.3.6.1 Ekstraksi Daun Bambu dengan Etanol dan Air	35
3.3.6.2 Uji Fitokimia pada Ekstrak Etanol dan Air Daun Bambu.....	35
3.3.7 Penentuan Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH	36
3.3.8 Uji Inhibisi.....	36
3.3.9 Penentuan Kinetika Inhibisi Enzim XO oleh Ekstrak Etanol dan Air Daun Bambu	37
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	38
4.1 Isolasi Enzim XO dari Rebung.....	38
4.2 Penentuan Aktivitas Enzim XO	38
4.3 Penentuan Kadar Protein Enzim XO	38
4.4 Pemurnian Enzim XO	39
4.4.1 Fraksinasi dengan Amonium Sulfat.....	39
4.4.2 Dialisis dalam Membran Selofan	40
4.5 Karakterisasi Enzim Xantin Oksidase.....	40

4.5.1 Penentuan Waktu Inkubasi Optimum Enzim XO	40
4.5.2 Penentuan pH Optimum Enzim XO.....	41
4.5.3 Penentuan Suhu Optimum Enzim XO	43
4.5.4 Penentuan Konsentrasi Substrat Optimum Enzim XO	44
4.5.5 Pengaruh Penambahan Ion Logam terhadap Aktivitas Enzim XO	45
4.6 Ekstraksi dan Uji Fitokimia.....	46
4.7 Uji Aktivitas Antioksidan.....	48
4.8 Uji Inhibisi Enzim XO	50
4.9 Penentuan Kinetika Inhibisi Enzim XO	52
BAB V PENUTUP	56
5.1 Kesimpulan	56
5.2 Saran.....	56
DAFTAR PUSTAKA.....	57
Lampiran	67

DAFTAR TABEL

1. Taksonomi <i>Bambusa vulgaris</i>	11
2. Komposisi kimia rebung per 100 gram	12
3. Isolasi Enzim XO dari berbagai sumber dan aktivitasnya.....	25
4. Uji inhibisi enzim XO dari berbagai sumber beserta daya inhibisinya	26
5. Data Aktivitas Enzim, Kadar Protein, Aktivitas Spesifik dan Tingkat Kemurnian Ekstrak Kasar dan Hasil Fraksinasi Enzim XO dari Rebung	39
6. Data Aktivitas Spesifik dan Tingkat Kemurnian Ekstrak Kasar, Hasil Fraksinasi dengan Aktivitas Tertinggi, dan Dialisis Enzim XO dari Rebung	40
7. Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Etanol dan Air dari Daun Muda, Tua, dan Sangat Tua <i>Bambusa vulgaris</i>	47
8. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol dan Air dari Daun Muda, Tua, dan Sangat Tua <i>Bambusa vulgaris</i>	49
9. Data Hasil Uji IC50 Ekstrak Etanol dan Air dari Daun Muda, Tua, dan Sangat Tua <i>Bambusa vulgaris</i>	49
10. Kategori Kekuatan Aktivitas Antioksidan	50
11. Hasil Perhitungan nilai V_{max} dan K_M Ekstrak Etanol dan Air dari Daun Muda, Tua, dan Sangat Tua <i>Bambusa vulgaris</i> dan Tanpa Penambahan Inhibitor.....	54
12. Beberapa Penelitian Terkait Tipe Penghambatan Enzim XO	55

DAFTAR GAMBAR

1. Struktur Asam Urat.....	7
2. Mekanisme terbentuknya Asam Urat	8
3. Morfologi <i>Bambusa vulgaris var. viridis</i>	10
4. Rebung <i>Bambusa vulgaris</i>	12
5. Struktur Allopurinol.....	20
6. Reaksi Enzimatis Xanthin Oxidase dalam Mengkonversi Hipoxantin dan Allopurinol.....	21
7. Pemurnian Enzim Metode Dialisis	24
8. Kerangka Pikir Penelitian	28
9. Grafik Pengaruh Waktu terhadap Aktivitas Enzim XO pada pH 7, Suhu 25°C, Konsentrasi Substrat 0,15 mM	41
10. Grafik Pengaruh pH terhadap Aktivitas Enzim XO pada Suhu 25°C, Waktu Inkubasi 25 menit, Konsentrasi Substrat 0,15 mM.....	42
11. Grafik Pengaruh suhu terhadap aktivitas enzim XO pada pH 6; Waktu Inkubasi 25 Menit, Konsentrasi substrat 0,15 mM	43
12. Grafik Pengaruh Konsentrasi Substrat terhadap Aktivitas Enzim XO pada pH 6; Suhu 30°C, Waktu Inkubasi 25 menit	45
13. Diagram Pengaruh Penambahan Ion Logam terhadap Aktivitas Enzim XO pada pH 6,5; Waktu Inkubasi 30 menit Suhu 25°C, Konsentrasi Substrat 0,15 mM	46
14. Grafik Daya Inhibisi Aktivitas Enzim XO oleh Ekstrak Etanol Daun Muda, Tua, dan Sangat Tua <i>Bambusa vulgaris</i>	50
15. Grafik Daya Inhibisi Aktivitas Enzim XO oleh Ekstrak Air Daun Muda, Tua, dan Sangat Tua <i>Bambusa vulgaris</i>	51
16. Grafik Lineweaver-Burk Tanpa dan dengan Penambahan Ekstrak Etanol Daun Tua <i>Bambusa vulgaris</i>	53

DAFTAR LAMPIRAN

1. Lokasi Pengambilan Sampel Rebung dan Daun <i>Bambusa vulgaris</i>	68
2. Alur Penelitian	69
3. Skema Isolasi Enzim XO dari Rebung.....	70
4. Skema Pemurnian Enzim XO	71
5. Skema Penentuan Aktivitas Enzim XO	74
6. Skema Penentuan Kadar Protein Enzim XO	75
7. Skema Penentuan Karakterisasi Enzim XO	76
8. Skema Ekstrak Etanol dan Air Daun Bambu	77
9. Skema Uji Fitokimia Ekstrak Etanol dan Air Daun Bambu.....	78
10. Skema Penentuan Antioksidan.....	80
11. Skema Penentuan Daya Inhibisi Sampel Perbandingan dengan Allopurinol	82
12. Skema Uji Tipe Penghambatan Enzim XO.....	83
13. Tabel Kejenuhan Ammonium Sulfat	84
14. Jumlah Amonium Sulfat yang Ditambahkan pada Fraksi berbagai Tingkat Kejenuhan	85
15. Kurva Standar Bovine Serum Albumin pada λ 660 nm	86
16. Pengukuran Kadar Protein pada Setiap Tahap Pemurnian	87
17. Kurva Standar Asam Urat pada λ 290 nm	88
18. Aktivitas Enzim Xantin Oksidase	90
19. Karakterisasi Aktivitas Enzim XO.....	91
20. Kurva Pengukuran Antioksidan.....	93
21. Data Pengukuran Persen Daya Inhibisi.....	96
22. Data Kinetika Enzim	99
23. Dokumentasi Kegiatan	103

DAFTAR SIMBOL DAN SINGKATAN

PTM	: Penyakit Tidak Menular
AU	: Asam Urat
NAD	: Nikotinamida adenina dinukleotida
NADP	: Nikotinamida adenina dinukleotida fosfat
FAD	: Flavin adenina dinukleotida
XO	: Xantin Oksidase
DPPH	: 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
Da	: dalton
kcal	: kilokalori
IC ₅₀	: Inhibition Concentration 50%
rpm	: <i>rotation per minute</i>
pH	: potensial hidrogen
mU/mL	: miliUnit/miliLiter
XO	: Xantin Oksidase
KM	: Tetapan Michaelis-Menten

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penyakit tidak menular (PTM) merupakan penyakit terbanyak di Indonesia yang menjadi salah satu faktor permasalahan dalam keluarga. Salah satu jenis PTM adalah asam urat (AU) yang merupakan penyakit terbanyak kedua setelah hipertensi. Penyakit ini menyerang persendian akibat penumpukan AU yang berlebih melewati batas minimum (Jaliana dkk., 2018). Kadar normal AU dalam darah pada laki-laki 0,18–0,42 mmol/L (3,0–7,0 mg/dL) dan pada wanita 0,13–0,34 mmol/L (2,2–5,7 mg/dL). Keadaan ketika kadar AU meningkat atau lebih tinggi dari kadar normalnya disebut dengan hiperurisemia. Hiperurisemia yang berkelanjutan kemudian dapat menyebabkan gout. Gout terjadi disebabkan oleh penumpukan kristal monosodium urat monohidrat pada sendi (Rahmawati & Kusnul, 2021).

Penderita AU meningkat setiap tahun disebabkan pola makan yang cenderung mengonsumsi makanan yang kaya purin. Purin merupakan prekursor dalam biosintesis AU yang merupakan produk akhir dari katabolisme purin dalam hati melalui suatu reaksi yang dikatalisis oleh enzim xantin oksidase (XO). Enzim XO merupakan enzim golongan oksidoreduktase yang mengkatalisis reaksi oksidasi xantin menjadi AU (Yulian, 2014). Enzim XO menggunakan oksigen sebagai akseptor elektron untuk oksidasi purin dan menyebabkan terbentuknya anion superoksida (O_2^-) dan hidrogen peroksida (H_2O_2). Enzim ini berperan penting dalam metabolisme purin karena berfungsi mengubah hipoxantin menjadi xantin yang kemudian diubah menjadi AU, selain itu enzim ini juga berfungsi mengkatalisis reduksi nitrat dan nitrit menjadi nitrit oksida dan sekaligus menyebabkan pembentukan radikal superoksida yang dapat menyebabkan peradangan (Maruhashi dkk., 2018).

Enzim XO dimanfaatkan dalam berbagai bidang medis pada proses diagnosa dan manajemen penyakit dalam seperti hiperurisemia, AU, xanthinuria, dan gagal ginjal (Devi et dkk., 2011), selain itu juga dimanfaatkan sebagai agen anti mikroba (Xin et dkk., 2012), dan dimanfaatkan sebagai biosensor kadar

hipoxantin dalam daging ikan pada industri pangan (Jadhao dkk., 2018). Enzim ini dapat diperoleh dari berbagai sumber yang berbeda diantaranya dari bakteri, susu, dan berbagai organ hewan dalam jumlah yang berbeda seperti yang dilakukan oleh Xin dkk. (2012) yang mengisolasi enzim XO dari *Arthrobacter sp*, juga oleh Natsir dkk. (2022) yang mengisolasi enzim XO dari susu sapi, dan Ibrahim dkk. (2015) yang mengisolasi enzim XO dari hati kerbau. Penelitian terkait isolasi enzim XO dari tumbuhan masih jarang ditemukan sehingga menjadi hal menarik untuk mengisolasi enzim XO dari tumbuhan, salah satu bagian tumbuhan yang mengandung purin adalah rebung (Chan & Cheung, 2004).

Rebung merupakan tunas bambu muda yang muncul di permukaan dasar rumpun yang dipenuhi oleh gugut atau rambut bambu. Rebung merupakan salah satu makanan tradisional dari berbagai negara di Asia Tenggara yang telah dikonsumsi sebagai makanan tradisional selama lebih dari 2500 tahun (Chongtham dkk., 2011). Makanan ini juga merupakan salah satu sayuran yang sangat rendah kalori serta kaya akan kelompok vitamin B kompleks seperti thiamin, riboflavin, niacin, piridoksin, dan asam pantotenat (Suwankanid dkk., 2006), meskipun kaya akan nutrisi, rebung mengandung senyawa yang tidak diinginkan yaitu AU. Halevi (2016) melaporkan bahwa AU pada rebung adalah 29 mg /100 g rebung, serta Chan & Cheung (2004) melaporkan bahwa rebung mengandung 25-100 mg purin/ 100 g rebung, dengan demikian dapat diasumsikan bahwa enzim XO dapat diisolasi dari rebung dengan kandungan AU dan purin pada rebung ini.

Aktivitas enzim XO memiliki peran penting dalam pembentukan AU. Penghambatan aktivitas enzim ini adalah salah satu pendekatan yang paling sesuai untuk mengobati penyakit AU. Pengujian penghambatan aktivitas enzim XO telah banyak dilakukan untuk menemukan senyawa yang berpotensi sebagai inhibitor XO (Pertamawati & Hardhiyuna, 2015). Dipiro dkk. (2014) menjelaskan bahwa obat sintesis yang digunakan untuk terapi asam urat yaitu diuretik, aspirin dosis rendah, pirazunamid, etambutol, siklosporin, dan allopurinol. Allopurinol digunakan sebagai inhibitor XO yang secara luas digunakan untuk mengontrol kadar AU dalam serum darah. Banyak klinisi yang meresepkan allopurinol untuk manajemen terapi jangka panjang dalam mengontrol kadar AU pasien, namun

penggunaan obat ini memberikan efek samping seperti demam, menggigil, leukopenia atau leukositosis, dan eosinofilia. Gangguan saluran pencernaan kadang-kadang juga dapat terjadi (Wilmana & Gan, 2007). Oleh karena itu perlu adanya inhibitor sebagai alternatif penghambat aktivitas enzim XO dengan efek samping lebih rendah yang berasal dari bahan alami seperti tanaman obat. Tanaman yang berkhasiat sebagai obat dan dikenal masyarakat salah satunya adalah daun bambu. Daun bambu telah digunakan selama 1000 tahun dalam pengobatan tradisional Cina untuk mengobati demam dan detoksifikasi (Lu dkk., 2011).

Bambu ampel (*Bambusa vulgaris*) merupakan salah satu jenis bambu yang tersebar luas dikawasan tropik maupun subtropik seperti Afrika, Asia hingga polinesia. Bambu ini adalah jenis bambu yang mudah ditemukan dan tumbuh dengan baik di Indonesia. Salah satu jenis *Bambusa vulgaris* yaitu *B. vulgaris var. vulgaris* yang tumbuh di daerah ekstrem kering dan daerah lembab (Musa dkk., 1989). *Bambusa vulgaris* kering dijadikan kayu bakar dan perabot rumah tangga, sedangkan rebungnya dimanfaatkan sebagai bahan baku sayur- mayur, dan daunnya masih jarang dimanfaatkan. Daun bambu secara umum mengandung protein, glutein, lisin, metionin, betain, kolin, enzim proteolitik, nuklease, dan urease. Jenis flavonoid yang terkandung di dalam daun bambu adalah flavon C-glikosida. Flavon C-glikosida berfungsi menghambat enzim XO (Goyal & Brahma, 2014). Penelitian secara khusus oleh Daryatmo & Widiarso (2016) melaporkan bahwa daun *Bambusa vulgaris* memiliki beberapa kandungan senyawa aktif seperti saponin, flavonoid, alkaloid, fenolik, dan tanin. Chang dkk. (2018) menyebutkan bahwa senyawa metabolit sekunder tersebut dapat menghambat aktivitas enzim XO sehingga dapat menurunkan produksi AU. Penelitian terkait inhibitor enzim XO yang dilakukan oleh Natsir dkk., (2022) melaporkan bahwa ekstrak etanol daun kelor dapat menghambat aktivitas enzim XO yang diisolasi dari susu sapi, dan oleh Novitasari (2015) bahwa ekstrak etanol daun bambu tali berpengaruh terhadap penurunan kadar AU darah mencit jantan. Lebih lanjut belum ada penelitian mengenai pemanfaatan daun *Bambusa vulgaris* sebagai obat AU.

Daun *Bambusa vulgaris* juga berpotensi sebagai antioksidan karena dapat menangkal radikal bebas DPPH (2,2-difenil-1-pikrihidrazil), hal ini

disebabkan karena komponen aktif dalam daun bambu cukup tinggi yaitu flavonoid, phenol, dan terpenoid (Apridamayanti dkk, 2021). Penelitian pada ekstrak etanol daun *Bambusa vulgaris* menunjukkan aktivitas antioksidan sebesar 398,23 u/ml (Tripati dkk, 2015). Antioksidan merupakan molekul yang dapat menstabilkan atau menonaktifkan radikal bebas sebelum menyerang sel dan dapat menghambat oksidasi sebuah substrat (Pribadi dan Ernawati, 2010; Yuyun, 2016).

Senyawa target dalam penelitian ini yaitu flavonoid yang didapatkan dari proses ekstraksi menggunakan proses maserasi. Kelebihan dari proses ini lebih efisien dan mudah untuk dilakukan menggunakan pelarut yang sesuai dengan kelarutan senyawa target. Suatu senyawa akan larut pada pelarut yang mempunyai kepolaran yang sama. Flavonoid merupakan senyawa polar, sehingga pelarut yang cocok digunakan adalah pelarut yang bersifat polar yaitu etanol dan air yang lebih umum digunakan dibandingkan jenis pelarut organik lainnya (Chen dkk., 2008; Sudarmadji, 2003).

Penelitian ini ditunjang dengan pencarian senyawa analog sebagai inhibitor XO sehingga diperlukan ketersediaan enzim XO dalam jumlah dan kadar kemurnian yang cukup. Enzim ini tersedia di pasaran, tetapi harganya relatif mahal, sehingga perlu dilakukan isolasi dan pemurnian enzim XO dari sumber bahan alam salah satunya adalah rebung. Penelitian ini juga dilakukan pengujian ekstrak etanol dan air dari daun *Bambusa vulgaris* dengan kategori daun muda, tua, dan sangat tua yang diambil serumpun dengan rebung bambu dalam menghambat aktivitas enzim XO sehingga dapat menurunkan kadar asam urat pada penderita hiperurisemia.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. bagaimana karakteristik enzim XO dari rebung?
2. bagaimana aktivitas antioksidan ekstrak etanol dan air daun *Bambusa vulgaris*?
3. bagaimana efektifitas inhibisi ekstrak etanol dan air daun *Bambusa vulgaris* terhadap enzim XO?

4. bagaimana tipe penghambatan ekstrak etanol dan air daun *Bambusa vulgaris* terhadap enzim XO?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. menentukan karakteristik enzim XO dari rebung
2. menguji aktivitas antioksidan ekstrak etanol dan air daun *Bambusa vulgaris*
3. menentukan efektifitas inhibisi ekstrak etanol dan air daun *Bambusa vulgaris* terhadap enzim XO.
4. menentukan tipe penghambatan ekstrak etanol dan air daun *Bambusa vulgaris* terhadap enzim XO.

1.4 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan mampu memberikan informasi berkaitan dengan sumber dan karakteristik enzim XO dari rebung, sumber inhibitor enzim XO, tipe penghambatan, dan antioksidan ekstrak etanol dan air daun *Bambusa vulgaris* terhadap aktivitas enzim XO untuk keperluan pencarian senyawa analog obat hiperuresemia.

BAB II

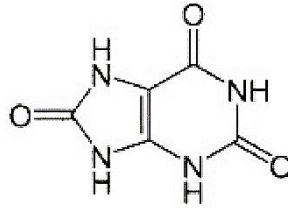
TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Asam Urat

Tubuh memproduksi AU melalui jalur metabolisme yang menggunakan makanan dan minuman sebagai substrat. Konsentrasi AU yang normal adalah 7,0 mg/dL untuk pria dan 6,0 mg/dL untuk wanita. Walaupun batasan normal kadar AU pada pria lebih besar dari pada wanita, tetapi resiko pria terkena hiperurisemia lebih tinggi. Penyakit hiperurisemia lebih besar 2% pada pria berusia 30 tahun dan wanita pada usia 50 tahun (Yulian, 2014), AU diproduksi dari proses metabolisme purin yang menghasilkan kristal dan mengendap pada daerah persendian. Hal ini memberikan efek nyeri, kaku, dan bengkak. Jika kadar AU 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 & Susanti, 2014).

Penelitian menunjukkan bahwa 90% dari AU merupakan hasil katabolisme purin yang dibantu oleh enzim XO (Eff dkk., 2016), AU dibentuk di dalam hati dan terutama diekskresikan oleh ginjal (65%-75%) dan usus (25%-35%). Konsumsi makanan yang kaya purin, obesitas, dan penyakit ginjal yang dapat menyebabkan ketidak seimbangan antara produksi AU dan ekskresinya adalah faktor umum penyebab penyakit AU (Dai dkk., 2015). Apabila terjadi ketidak seimbangan antara produksi AU dan ekskresinya oleh ginjal, maka konsentrasi AU dalam darah dapat melebihi batas normalnya dan akan menumpuk di daerah persendian (Mardiningsih, 2017).

Rumus molekul AU 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 AU dalam tubuh 300-600 mg per hari yang berasal dari pemecahan purin endogen. Dua pertiga bagian total AU yang diproduksi berasal dari nukleotida purin (Nasrul & Sofitri, 2012). Struktur AU dapat dilihat pada Gambar 1.

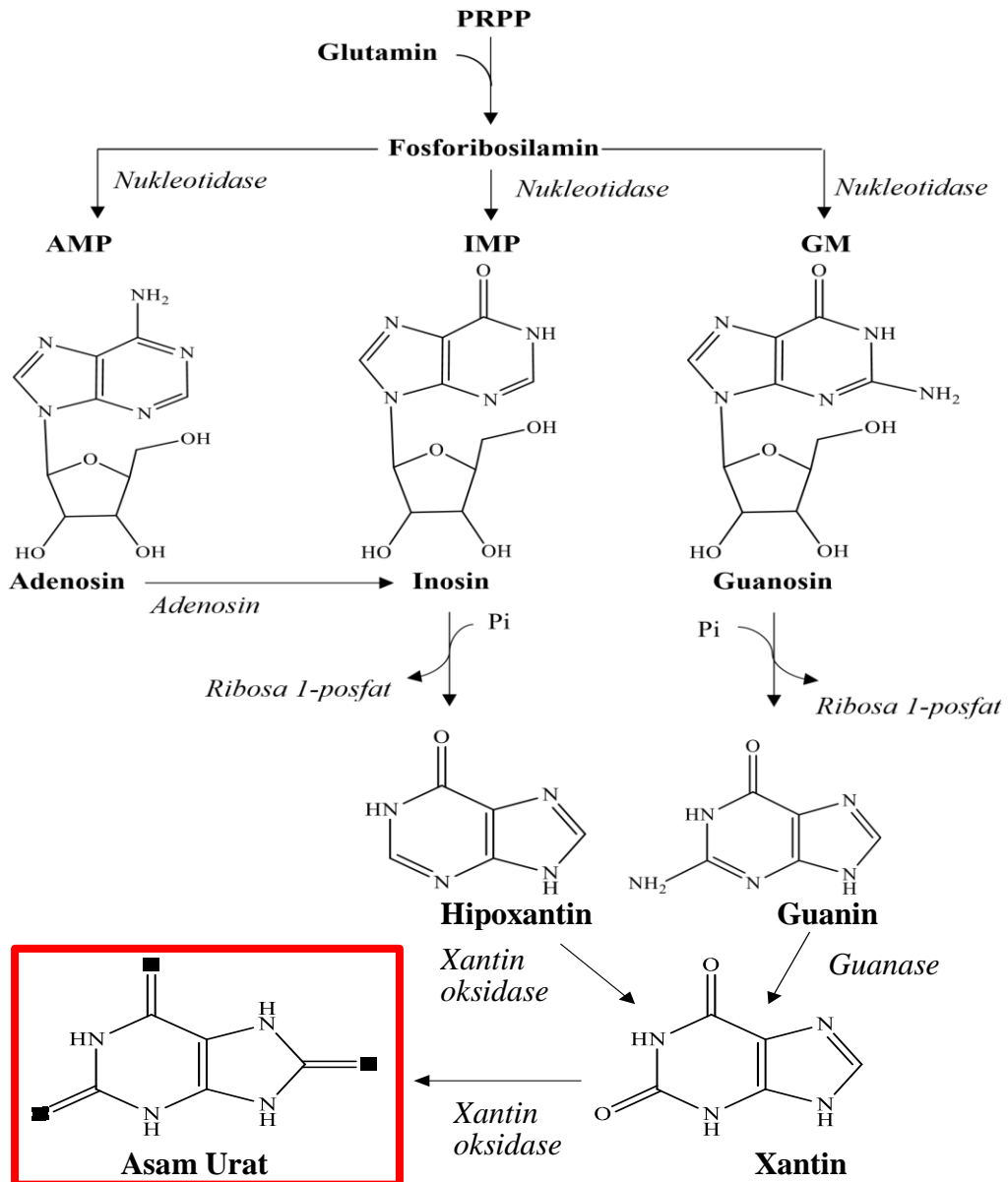


Gambar 1. Struktur Asam Urat (Nasrul & Sofitri, 2012)

Kandungan AU dalam darah dapat meningkat tergantung bagaimana cara pola hidup. Beberapa faktor yang dapat meningkatkan kadar AU diantaranya adanya gangguan metabolisme purin bawaan, kelainan pembawa sifat atau gen, kelebihan mengonsumsi makanan berkadar purin tinggi serta efek dari penyakit seperti leukemia, kemoterapi dan radioterapi (Eff dkk., 2016). Dapat juga disebabkan oleh faktor kelebihan produksi AU 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 AU (Nadinah, 2008). Makanan berkadar purin tinggi seperti daging, jeroan, kerang, kepiting, keju, gorengan, tape, bayam, buncis, kacang tanah, petai, alpukat, dan alkohol (Eff dkk., 2016).

Pembentukan AU dimulai dari pembentukan purin dari 5-phosphoribosyl-1-pirophosphat (PRPP) berasal dari ribosa 5 fosfat yang disintesis dengan ATP (Adenosine triphosphate). Dengan bantuan enzim PRPP glutamil amidotranferase 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 AU (Nasrul & Sofitri, 2012). Mekanisme pembentukan AU dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Mekanisme terbentuknya Asam Urat (Murray dkk., 2006)

Pengobatan AU dapat digolongkan menjadi dua jenis golongan obat, yaitu obat golongan urikostatik dan obat golongan urikosurik. Obat golongan urikostatik bekerja sebagai inhibitor XO (T. K. Dewi, 2012). Salah satu jenis obat

urikostatik ini adalah allopurinol. Allopurinol merupakan suatu analog AU yang bekerja menghambat pembentukan AU dari prekursornya (xantin dan hipoxantin) dengan menghambat aktivitas XO. Sedangkan obat AU golongan urikosurik, memiliki mekanisme kerja menurunkan kadar AU dengan cara menginhibisi reabsorpsi AU. Contoh obat golongan urikosurik yaitu probenecid (Ernawati & Susanti, 2014).

Fungsi asam urat dalam tubuh adalah sebagai antioksidan dan juga berfungsi dalam meregenerasi sel. Setiap peremajaan sel tubuh membutuhkan AU. Jika tubuh kurang antioksidan, akan banyak radikal bebas yang membunuh sel-sel dalam tubuh, sehingga apabila kekurangan kandungan AU dapat menyebabkan kulit menjadi kusam (Djakad, 2020).

2.2 Tinjauan Umum *Bambusa vulgaris*

Bambu dapat tumbuh di berbagai tempat, baik di dataran rendah maupun dataran tinggi, di daerah sangat kering atau lembab, dan di daerah yang tergenang air 2-3 bulan. Selain itu, bambu dapat tumbuh pada beragam jenis tanah, bahkan tetap berkembang sekalipun pada lahan tandus. Namun, untuk memperoleh pertumbuhan bambu yang maksimal dan kualitas rebung yang tinggi, pada tanah yang marginal atau tandus perlu dilakukan manipulasi tempat tumbuh (Widjaja, 2001). Bambu tergolong famili Poaceae (rumput-rumputan) disebut juga Giant Grass (rumput raksasa), berumpun dan terdiri dari sejumlah batang (buluh) yang tumbuh secara bertahap, dari mulai rebung, batang muda dan sudah dewasa pada umur 3-4 tahun. Batang bambu berbentuk silindris, berbuku-buku/beruas-ruas berongga, berdinding keras, pada setiap buku terdapat mata tunas atau cabang (Handoko, 2003).

Bambusa vulgaris merupakan salah satu jenis bambu yang tersebar luas dikawasan tropik maupun subtropik seperti Afrika, Asia hingga polinesia. Batang bambu biasa dimanfaatkan menjadi perabot rumah tangga maupun bahan bangunan lainnya. ada *Bambusa vulgaris* terdapat empat varietas yang berbeda yang dilihat berdasarkan warna buluh batangnya, (Musa dkk., 1989) varietas tersebut diantaranya yaitu :

1. **Varietas viridis:** bambu yang memiliki karakteristik buluh dengan warna hijau dan memiliki nama lokal haur hejo, haur geulis atau bambu ampel Rumpun tidak terlalu rapat. Rebung berukuran besar, kuncup rebung berwarna hijau

kekuningan dengan miang berwarna hitam, bentuk kuncup bulat meruncing. Batang berwarna hijau pucat, tinggi batang diperkirakan mencapai 5-13 m dari permukaan tanah sampai pucuk batang, permukaan batang mengkilap licin, panjang ruas 22-42 cm, diameter batang 2,4-5 cm, ketebalan batang 5-10 mm. Percabangan satu lebih besar daripada cabang lainnya dengan jumlah cabang 4-7 cabang dalam satu ruas. Pelepah warna miang hitam, mudah luruh, panjang bulu kejur 1,5-3,4 mm, memiliki ligula dengan bentuk tepi ligula bergerigi, posisi daun pelepah tegak. Daun berwarna hijau, panjang daun 15-33 mm, lebar daun 2-3,2 cm, panjang bulu kejur 1,2-3,2 mm, panjang ligula 2-3 mm dengan bentuk tepi ligula bergerigi (Hastuti dkk., 2018).



Gambar 3. Morfologi *Bambusa vulgaris var. Viridis* (Widiarti, 2013)

2. **Varietas lutea** : bambu yang memiliki karakteristik buluh dengan warna kuning seluruhnya dan hanya beberapa saja yang memiliki sedikit garis hijau, bambu ini juga biasa dikenal dengan sebutan haur kuning atau bambu kuning. (Sujarwanta & Zen, 2020).
3. **Varietas striata**: bambu yang memiliki karakteristik buluh berwarna kuning dan selalu terdapat garis hijau, bambu ini juga biasa dikenal dengan sebutan haur seah atau bambu kuda (Musa dkk., 1989).
4. **Varietas maculata**: bambu yang memiliki karakteristik buluh dengan warna hijau dan berubah menjadi tutul coklat jika sudah tua, bambu ini juga biasa dikenal dengan sebutan bambu tutul (Musa dkk., 1989).

Taksonomia *Bambusa vulgaris* adalah sebagai berikut:

Tabel 1. Taksonomi *Bambusa vulgaris*

Regnum	Plantae
Divisio	Tracheophyta
Classis	Magnoliopsida
Ordo	Poales
Familia	Poaceae
Genus	Bambusa
Spesies	<i>Bambusa vulgaris</i> Schrad. ex J.C. Wendl

(Indriana & Saifuddin, 2021)

2.3 Rebung

1. Gambaran Umum

Rebung merupakan tunas bambu yang masih muda yang muncul dipermukaan dasar rumpun yang dipenuhi oleh gugut atau rambut bambu (Silaban dkk., 2017). Selama musim hujan, rebung bambu tumbuh dengan pesatnya, dalam beberapa minggu tunas tersebut sudah tinggi. Dalam waktu 9-10 bulan rebung telah mencapai tinggi maksimal 25- 30 cm. Beberapa jenis rebung terbentuk pada permulaan musim hujan, selain itu ada yang terbentuk pada akhir musim hujan. Musim panen rebung biasanya jatuh sekitar bulan Desember hingga Februari atau Maret (Angkat, 2018).

Rebung berwarna hijau atau kuning, tertutup miang (bulu pelepah) berwarna coklat hingga hitam. Pelepah buluh mencapai 12,5 – 37 × 18,5 – 53 cm, mudah luruh, kuping membulat dengan ujung melengkung ke luar, tinggi 1 – 1,5 mm, dengan bulu kejur 5 – 7 mm panjangnya; ligula mengerigi, tinggi 1 – 3 mm, bulu kejur 1 mm panjangnya; daun pelepah buluh tegak, menyegitiga dengan pangkal melebar, 9,4 – 12,5 × 2,5 – 9 cm. Daun memita, 17,8 – 27 × 1 – 3,4 cm, permukaan bagian bawah daun tidak terdapat bulu balig; kuping kecil berukuran 1 – 2 mm dengan bulu kejur 1 – 2 mm panjangnya; ligula rata dengan tinggi 1 – 2 mm (Damayanto dkk., 2019). Morfologi dan bentuk rebung dapat dilihat pada gambar 4:



Gambar 4. Rebung *Bambusa vulgaris* (Widiarti, 2013)

2. Kandungan Kimia

Komposisi kimia rebung per 100 gram bahan sebagaimana ditunjukkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Komposisi kimia rebung per 100 gram

Komposisi	Jumlah
Air	85,63 g
Protein	2,50 g
Lemak	0,20 g
Glukosa	2,00 g
Serat	9,10 g
Fosfor	50,00 mg
Kalsium	28,00 mg
Vitamin	0,10 mg
Vitamin	1,74 mg

(Handoko, 2003)

3. Manfaat

Rebung bermanfaat untuk kesehatan karena mengandung senyawa alkaloid mampu menurunkan kadar gula darah, mencegah obesitas, obat antiepilepsi. Rebung hasil fermentasi juga mengandung BAL sebagai sumber bakteri probiotik (Chongtham dkk., 2011) Secara umum rebung bambu memiliki kandungan yang penting bagi kesehatan diantaranya protein, asam amino, karbohidrat, vitamin dan mineral, serta kandungan lemak yang rendah (Das, 2019).

2.4 Daun *Bambusa vulgaris*

1. Gambaran Umum

Daun *Bambusa vulgaris* memiliki warna hijau berbentuk lanset dengan panjang 27,5 cm, lebar 4,5 cm, memiliki struktur urat daun yang lebih jelas, ukuran kuping pelepah sekitar 0,1 cm, dan memiliki bulu kejur tegak berukuran 0,3 cm serta bentuk ligula yang rata (Murtodo & Setyati, 2015). Daun tua umumnya digunakan untuk keperluan herbal. Akan tetapi apabila daun terlalu tua, kandungan zat aktif yang ada di dalamnya dikhawatirkan telah menurun, begitupun dengan daun yang terlalu muda yang masih mengandung zat aktif yang sedikit. Para praktisi pengobatan dan industri herbal biasanya memilih daun pada posisi ke 4-6 dari pucuk. Ketuaan daun memengaruhi aktivitas antioksidan (Felicia dkk., 2017). Daun muda berasal dari daun nomor 1-3 dari pucuk daun dan daun tua berasal dari daun nomor 4-6 dari pucuk daun (Gultom dkk., 2012).

2. Kandungan senyawa aktif

Daun *Bambusa vulgaris* sendiri memiliki beberapa kandungan senyawa aktif diantaranya yaitu saponin, flavonoid, alkaloid dan tanin (Daryatmo & Widiarso, 2016).

a. Saponin

Saponin merupakan senyawa aktif yang bersifat polar dan biasa ditemukan pada tanaman termasuk pada daun bambu. Senyawa saponin adalah suatu glikosida alami yang berasal dari steroid atau triterpen yang dapat menimbulkan busa. Senyawa saponin memiliki molekul kompleks yang terdiri dari aglikon dan non-gula dengan tambahan unit rantai gula. Saponin terbagi menjadi dua kelas utama yaitu triterpenoid dan steroid yang bersala dari 30 atom karbon yang mengandung prekursor oxidosqualene (Haralampidis dkk., 2002).

Perbedaan antara saponin triterpenoid dan saponin steroid yaitu dari jumlah atom C yang terkandung. Pada steroid memiliki 27 atom C sedangkan triterpenoid memiliki 30 atom C Saponin memiliki satu atau lebih linier atau bercabang rantai gula yang mengandung glukosa, galaktosa, asam glukuronat, xilosa, rhamnose atau methylpentose yang dilekatkan pada aglikon melalui ikatan glikosid eter atau ester. Saponin dapat berupa monodesmoid (rantai gula tunggal) maupun bidesmosid (rantai gula ganda) (Sun dkk., 2009).

b. Flavonoid

Flavonoid merupakan salah satu senyawa aktif yang bersifat polar dan umum ditemukan pada tanaman. Flavonoid adalah senyawa metabolit sekunder polifenolik yang dikategorikan menjadi 6 subkelompok utama yaitu isoflavon, flavon, flavonol, flavandioliol, antosianidins dan juga flavanon (Li, 2014). Senyawa flavonoid memiliki 15 atom carbon yang tersusun dengan konfigurasi C6-C3-C6 yang berarti bahwa kerangka dari carbon terdiri atas 2 gugus C6 (cincin benzena tersubstitusi) yang disambungkan dengan rantai alifatik 3 carbon (Wang dkk., 2018).

Flavonoid termasuk sebagai senyawa polar yang dapat larut dengan baik dalam pelarut polar seperti etanol, metanol, butanol, aseton seta dimetilformamida maupun pelarut polar lainnya. Hal ini karena flavonoid terikat dalam bentuk glikosida sehingga pelarut tersebut dapat menjadi pelarut yang baik untuk flavonoid glikosida, sedangkan yang berbentuk aglikon lebih mudah terlarut dalam kloroform dan eter (Arifin & Ibrahim, 2018).

c. Alkaloid

Senyawa alkaloid merupakan senyawa aktif yang bersifat polar dan umum ditemukan pada tanaman. Alkaloid termasuk dalam senyawa metabolit sekunder yang mengandung atom nitrogen sekunder, tersier dan kuarter yang bersifat basa dan termasuk dari bagian cincin heterosiklik. Senyawa alkaloid berbentuk padatan kristal dan juga berbentuk amorf atau berupa cairan (Hammado & Illing, 2015).

d. Tanin

Senyawa tanin merupakan senyawa aktif yang bersifat polar dan biasanya ditemukan pada tanaman. Tanin merupakan salah satu senyawa yang termasuk dalam golongan senyawa flavonoid dengan struktur 2 cincin aromatik yang terikat oleh 3 atom carbon (Hayati dkk., 2010). Senyawa tanin merupakan polimer yang mudah larut dalam air yang kaya akan gugus fenolik dengan kemampuan mengikat atau mengendapkan protein yang larut dalam air (Hagerman & Butler, 1989).

Senyawa tanin terbagi menjadi dua yaitu tanin terkondensasi dan tanin terhidrolisis. Tanin yang terkondensasi terdiri dari ikatan karbon yang bergabung dengan monomer flavonoid dan tidak rentan terhadap hidrolisis tapi dapat terdegradasi untuk menghasilkan antosianidin. Tanin yang terhidrolisis terdiri dari

ester glukosa atau heksahidroksidifenat dan mudah dipecah menjadi asam galat (Hagerman & Butler, 1989).

2.5 Enzim XO

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 XO (Susanti & Fibriana, 2017).

Enzim XO (XO) merupakan suatu kompleks enzim yang terdiri dari molekul-molekul protein yang tiap molekulnya tersusun atas 2 mol FAD (Flavin Adenin Dinucleotide), 2 mol atom Mo dan 8 mol atom Fe. Enzim ini terdapat pada hati dan otot tubuh manusia, satu unit XO dapat mengkonversi satu μmol substrat (xantin) menjadi AU tiap satu menit pada pH optimum (pH 7,5) dan suhu optimum (25 °C) (Mardiningsih, 2017). Enzim XO adalah enzim yang berperan sebagai katalisator dalam proses oksidasi hipoxantin menjadi xantin dan kemudian menjadi AU yang merupakan jalur degradasi purin (Pertamawati & Hardhiyuna, 2015).

Enzim XO terdapat pada berbagai jenis makhluk hidup, dimulai dari bakteri, jaringan mamalia hingga manusia. Enzim XO 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 XO 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 AU, 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).

2.5.1. Faktor-Faktor yang Memengaruhi Aktivitas Enzim XO

Aktivitas enzim sering digunakan dalam satuan unit (U) yaitu jumlah enzim yang mampu mengkatalisis perubahan 1 μmol substrat per menit pada kondisi tertentu. Bila substratnya merupakan suatu senyawa polimer seperti protein atau peptin, maka 1 μmol substrat diganti 1 mikro ekivalen gugus penting senyawa tersebut (Saryono, 2011). Menurut (Poedjiadi & Supriyanti, 1994) terdapat beberapa faktor-faktor utama yang dapat memengaruhi kerja enzim, diantaranya adalah:

1. Konsentrasi enzim

Kecepatan reaksi enzimatik bertambah pada saat bertambahnya konsentrasi enzim dan konsentrasi substrat konstan. Menurut (T. K. 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

Hasil eksperimen menunjukkan bahwa dengan konsentrasi enzim yang tetap, maka penambahan konsentrasi substrat akan menaikkan kecepatan reaksi. Akan tetapi pada batas konsentrasi tertentu, tidak terjadi kenaikan kecepatan reaksi walaupun konsentrasi substrat diperbesar. Keadaan ini telah diterangkan oleh Michaelis-Menten dengan hipotesis mereka tentang terjadinya kompleks enzim substrat. Pada konsentrasi substrat rendah, bagian aktif enzim hanya menampung substrat sedikit. Bila konsentrasi substrat diperbesar, makin banyak substrat yang dapat berhubungan dengan enzim bagian aktif. Dengan demikian, konsentrasi substrat makin besar dan hal ini menyebabkan makin besarnya kecepatan reaksi.

3. Suhu

Reaksi kimia dapat dipengaruhi oleh suhu. Oleh karena itu, reaksi yang menggunakan katalis enzim dapat dipengaruhi oleh suhu. Pada suhu rendah, reaksi kimia berlangsung lambat, sedangkan pada suhu yang lebih tinggi reaksi berlangsung lebih cepat. Di samping itu, karena enzim itu adalah suatu protein, sehingga kenaikan suhu dapat menyebabkan terjadinya proses denaturasi. Apabila terjadi proses denaturasi, maka bagian aktif enzim akan terganggu dan dengan demikian konsentrasi efektif enzim menjadi berkurang dan kecepatan reaksinya pun akan menurun. Kenaikan suhu sebelum proses denaturasi dapat menaikkan kecepatan reaksi.

4. Derajat Keasaman (pH)

Seperti protein pada umumnya, struktur ion enzim tergantung pada pH lingkungannya. Enzim dapat berbentuk ion positif, ion negatif atau ion bermuatan ganda (*zwitter ion*). Dengan demikian perubahan pH lingkungan akan berpengaruh terhadap efektivitas bagian aktif enzim dalam membentuk kompleks enzim substrat. Di samping pengaruh terhadap struktur ion pada enzim, pH rendah atau pH tinggi dapat pula menyebabkan terjadinya proses denaturasi dan ini mengakibatkan menurunnya aktivitas enzim dengan pH tersebut.

Molekul atau ion yang dapat menghambat reaksi tersebut dinamakan inhibitor. Hambatan yang dilakukan oleh inhibitor dapat berupa hambatan tidak reversibel atau hambatan reversibel. Hambatan tidak reversibel pada umumnya disebabkan oleh terjadinya proses destruksi atau modifikasi sebuah gugus fungsi atau lebih yang terdapat pada molekul enzim. Hambatan reversibel dapat berupa hambatan bersaing atau hambatan tidak bersaing. Hambatan bersaing disebabkan karena ada molekul yang mirip dengan substrat, yang dapat pula membentuk kompleks enzim inhibitor. Sedangkan hambatan tidak bersaing tidak dipengaruhi oleh besarnya konsentrasi substrat dan inhibitor yang melakukannya tidak bersaing.

5. Inhibitor dan Aktivator

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 mikro-mol substrat per menit pada kondisi tertentu. Sedangkan kemurnian enzim dinyatakan dalam aktivitas spesifik yaitu jumlah unit aktivitas per miligram protein (Winarno, 1995).

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:

- a. 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).
- b. 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).

- c. Inhibitor unkompetitif/inkompetitif dalam kaitannya dengan substrat pada reaksi multisubstrat. Inhibitor ini hanya berikatan dengan kompleks enzimsubstrat (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).
- d. 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).

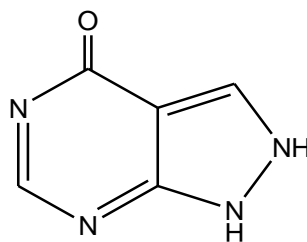
Aktivitas beberapa enzim bekerja optimum dengan bantuan aktivator. Komponen diluar enzim ini berupa molekul non-protein yang disebut kofaktor. Kofaktor dibutuhkan pada sisi substrat sehingga enzim dapat aktif. Kofaktor dapat berupa molekul organik yang memiliki gugus prostetik ataupun anorganik seperti ion logam (Susanti & Fibriana, 2017)

2.5.2. Inhibitor Enzim XO

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

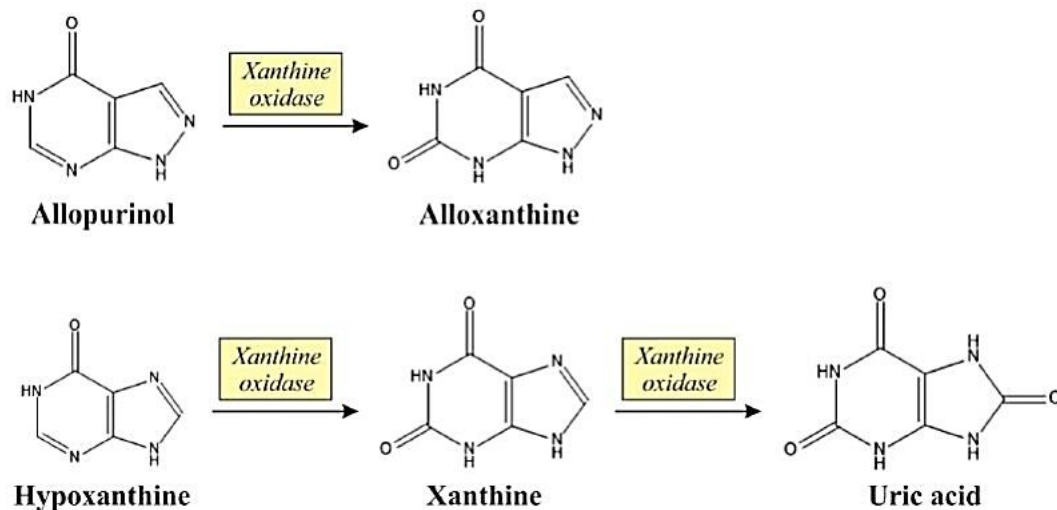
Inhibitor XO adalah suatu zat yang mampu menghambat XO, terlibat dalam metabolisme purin. Pada manusia, penghambatan XO dilakukan dengan cara mereduksi produksi AU atau mengonsumsi beberapa obat yang mampu menghambat XO. Inhibitor XO terdiri dari dua macam, analog purin dan bentuk yang lain. Analog purin termasuk allopurinol, oxypurinol, dan tisopurin. Sedangkan bentuk lainnya termasuk febuxostat dan inositol (T. K. Dewi, 2012).

Allopurinol adalah salah satu inhibitor XO, berbentuk serbuk halus berwarna putih dan berbau lemak dengan berat molekul 136,11 g/mol, serta bersifat sangat sukar larut dalam air dan etanol, praktis tidak larut dalam kloroform dan eter, larut dalam kalium dan natrium hidroksida dengan rumus empiriknya $C_5H_4N_4O$. Obat ini bekerja dengan menghambat XO, yang mengubah hipoxantin menjadi xantin dan selanjutnya menjadi AU. Mekanisme umpan balik allopurinol menghambat sintesis purin yang merupakan prekursor xantin (T. K. Dewi, 2012).



Gambar 5. Struktur Allopurinol (T. K. Dewi, 2012)

Allopurinol merupakan suatu analog hipoxantin (dengan atom N dan C pada posisi 7 dan 8 saling bertukar). Mekanisme kerja allopurinol pada awalnya bertindak sebagai substrat dan kemudian sebagai inhibitor XO. Oksidase ini akan menghidroksilasi allopurinol menjadi aloksantin (oksipurinol). Sintesis AU dari hipoxantin dan xantin segera menurun setelah pemberian allopurinol. Xantin dan hipoxantin ini lebih mudah larut dalam urin dan keluar melalui sistem ekskresi (T. K. 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).



Gambar 6. Reaksi Enzimatis Xanthin Oxidase dalam Mengkonversi Hipoxantin dan Allopurinol (Goodman and Gilman, 2012)

2.5.3. Kinetika Enzim

Kinetika enzim merupakan perhitungan kuantitatif dari kecepatan reaksi katalisis enzim dan faktor-faktor yang memengaruhinya. Kinetika enzim menginvestigasi bagaimana enzim mengikat substrat dengan mengubahnya menjadi produk. Analisis kinetika reaksi enzimatis meliputi laju reaksi maksimum (V_{maks}) dan konstanta Michaelis-Menten (K_M). Kecepatan reaksi hidrolisis, penguraian atau reaksi katalisasi lain dalam reaksi enzim dikenal dengan *velocity* (V). Harga V dari suatu reaksi enzimatis akan meningkat dengan bertambahnya konsentrasi substrat $[S]$, akan tetapi setelah $[S]$ meningkat lebih lanjut akan sampai pada kecepatan yang tetap. Pada konsentrasi enzim tetap (tertentu) harga V hampir linier dengan $[S]$. Kondisi dimana V tidak dapat bertambah lagi dengan bertambahnya $[S]$ disebut kecepatan maksimum (V_{maks}) yang merupakan salah satu parameter kinetika enzim. Parameter kinetika enzim yang lain adalah konstanta *Michaelis-Menten*, yang lebih dikenal dengan K_M yang merupakan konsentrasi substrat yang separuh dari lokasi aktifnya telah terisi, yaitu bila kecepatan reaksi enzim telah mencapai $\frac{1}{2} V_{maks}$ (Wiseman, 1989).

2.5.4. Pemurnian Enzim XO

Pemurnian enzim sangat erat kaitannya dengan pemurnian protein. Dasar dari pemisahan ini adalah memisahkan protein dari semua protein lain yang tidak

diperlukan yang semuanya berada pada material yang sama (Dennison, 2002). Jumlah dari protein yang dimurnikan tidak hanya bergantung pada material awal tetapi juga proses karena ada protein yang hilang pada setiap tahapan pemurnian. Selain itu, beberapa penelitian melaporkan terdapat sekitar 5-10% atau lebih hasil pemurnian mengandung kontaminasi dengan protein lain, sehingga perlu tahapan pemurnian yang lebih tinggi untuk meningkatkan kemurnian sampel (Wingfield, 2015). Pemurnian enzim bertujuan untuk memisahkan enzim yang diinginkan dari enzim lain yang tidak dikehendaki. Beberapa tahap pemurnian enzim antara lain ekstraksi dan isolasi, pemisahan enzim seperti presipitasi, penyaringan, sentrifugasi, fraksinasi dengan amonium sulfat, dialisis, pengeringan beku, dan ultrafiltrasi. Secara umum, pemurnian protein dapat digolongkan dalam tiga tahapan yaitu: ekstraksi, fraksinasi dengan salting out dan dialisis.

1. Ekstraksi

Material yang memiliki aktivitas enzim diperlakukan untuk memindahkan protein ke dalam bentuk terlarut sehingga dapat dimanipulasi. Bila material awal merupakan sel hewan atau tanaman, maka metode penghancuran sel dan melepaskan enzim ke dalam larutan ekstrak jernih dapat diperoleh dengan melakukan filtrasi atau sentrifugasi untuk memisahkan material yang tidak larut, sehingga didapatkan homogenat (Palmer, 1991). Enzim-enzim yang terdapat dalam sitoplasma dapat diekstrak dengan penghancuran membran plasma sel sehingga enzim dapat keluar ke dalam medium ekstraksi. Dari material berupa sereal atau tepung enzim dapat diekstrak dengan menempatkannya dalam medium cair dan pengadukan (Scopes, 1994).

Medium ekstraksi (larutan buffer) dimana enzim akan keluar setelah sel mengalami pemecahan harus dijaga temperaturnya di bawah 4°C agar enzim dalam sel hidup tidak aktif sehingga meminimalkan kehilangan aktivitas. Selain itu, pH yang dipakai adalah pH dimana enzim tersebut stabil serta harus jauh dari titik isoelektrik enzim karena pada titik ini kelarutan protein paling rendah (Scopes, 1994).

2. Fraksinasi dengan Salting out

Enzim seringkali berikatan erat dengan molekul lain yakni lipid dan karbohidrat. Penggumpalan protein perlu dilakukan untuk memperoleh enzim yang lebih murni. Proses penggumpalan enzim dapat dilakukan dengan

menambahkan pelarut organik dan garam. Penggunaan pelarut organik memperbesar kemungkinan terjadinya denaturasi terutama pada temperatur yang tinggi. Kerugian lain dalam penggunaan pelarut organik adalah sifatnya yang mudah terbakar dan harganya mahal. Penggunaan garam sebagai presipitasi telah banyak dilakukan. Penggunaan garam amonium sulfat sebagai presipitan memiliki keunggulan yaitu kelarutannya tinggi, harganya murah dan umumnya tidak memengaruhi struktur protein (Lintas, 2015). Metode fraksinasi enzim yang paling banyak dipakai adalah fraksinasi dengan menggunakan garam amonium sulfat (Palmer, 1991).

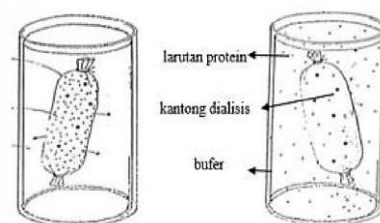
Prinsip pengendapan dengan amonium sulfat berdasarkan pada kelarutan protein yang merupakan interaksi antara gugus polar dengan molekul air, interaksi ionik protein dengan garam dan daya tolak-menolak protein yang bermuatan sama. Kelarutan protein pada pH dan suhu tertentu akan meningkat saat konsentrasi garam meningkat sampai pada konsentrasi tertentu (salting in). Selanjutnya, pada penambahan garam dengan konsentrasi tertentu, kelarutan protein akan menurun (salting out), karena molekul air yang berikatan dengan ionion garam semakin banyak sehingga terjadi penarikan selubung air yang mengelilingi permukaan protein. Peristiwa pengendapan dengan garam amonium sulfat mengakibatkan protein saling berinteraksi, beragregasi dan kemudian mengendap (Scopes, 1994). Ikatan hidrogen antara protein dengan air menstabilkan protein dalam larutan, namun di samping itu, terbentuk pula interaksi antara yang bersifat nonpolar antara sesama molekul protein. Interaksi ini membentuk suatu daerah non-polar tunggal yang memaksa air keluar dan membentuk suatu lingkaran yang hidrofobik (Palmer, 1991).

Scopes (1994), menjelaskan bahwa amonium sulfat merupakan garam yang umumnya digunakan untuk mengendapkan protein karena mempunyai keuntungan yaitu:

- a. memiliki daya larut yang tinggi dalam air,
- b. tidak mengandung zat yang bersifat toksik,
- c. protein stabil di dalam larutan amonium sulfat 2-4 M,
- d. protein terlindungi dari denaturasi, dan
- e. membatasi pertumbuhan bakteri serta relatif murah.

3. Dialisis

Enzim yang telah dimurnikan pada tahap fraksinasi dengan amonium sulfat merupakan enzim semimurni, karena masih mengandung sisa-sisa garam sehingga perlu pemurnian lebih lanjut untuk menghilangkan sisa garam atau ion pengganggu lainnya yang dapat memengaruhi aktivitas enzim. Metode yang digunakan adalah metode dialisis (Lehninger, 1993). Prinsip dialisis adalah difusi zat terlarut melalui membran semipermeabel ketika membran menjadi batas antara dua larutan yang berbeda konsentrasi. Membran bertindak seperti saringan dengan ukuran pori tertentu. Molekul dengan jari-jari molekul yang lebih besar dari ukuran pori akan tertahan seluruhnya sedangkan yang berjari-jari lebih kecil akan lolos (Scopes, 1994). Untuk menghilangkan molekul pengganggu dapat dilakukan dengan cara suspensi protein yang mengandung garam dimasukkan ke dalam kantong dialisis yang memiliki pori ultra halus, digunakan air untuk melarutkan garam bebas melalui pori, sedangkan protein tertinggal dalam kantong dialisis. Proses dialisis dapat terjadi karena konsentrasi garam lebih tinggi di dalam membran dialisis daripada di luar membran, sehingga menyebabkan buffer atau air masuk ke dalam dialisat. Hal ini terjadi pada awal proses dialisis. Selanjutnya garam akan keluar melalui membran hingga tercapai kondisi kesetimbangan. Tetapi setelah proses dialisis kadang terjadi penurunan aktivitas enzim yang mungkin disebabkan oleh hilangnya ion yang dapat mengaktifkan enzim (Arfah, 2016). Proses dialisis dapat kita lihat pada gambar 7.



Gambar 7. Pemurnian Enzim Metode Dialisis

2.6 Hasil Penelitian Isolasi Enzim XO dan Penghambatannya

1. Isolasi Enzim XO dari berbagai sumber dan aktivitasnya

Hasil penelitian terkait isolasi enzim XO dari berbagai sumber dan aktivitas spesifiknya ditunjukkan pada Tabel 3.

Tabel 3. Isolasi Enzim XO dari berbagai sumber dan aktivitasnya

No	Sumber	Aktivitas Spesifik (U/mg)	Referensi
1	Hati tikus (<i>mouse liver</i>)	18,3	(Kadam & Iyer, 2007)
2	Hati tikus (<i>rat liver</i>)	20,8	(Kadam & Iyer, 2007)
3	<i>Arthrobacter</i> M3	22,2	(Zhang dkk., 2012)
4	<i>Arthrobacter</i> sp.	2,9	(Xin dkk., 2012)
5	Susu sapi (<i>Bovine Milk</i>)	31,04	(Beyaztaş & Arslan, 2015)
6	Hati kerbau (<i>Bubalus bubalis</i>)	10,4	(Ibrahim dkk., 2015)
7	<i>Bacillus pumilus</i> RL-2d	0,209	(Sharma dkk., 2016)
8	Susu kerbau (<i>Bubalus bubalis</i>)	0,86	(Masoud dkk., 2017)
9	Hati ikan putak (<i>Notopterus kاپirat</i>)	0,3818	(Jadhao dkk., 2018)
10	Hati domba (<i>Ovis aries</i>)	0,55	(Zaahkoug dkk., 2019)
11	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> RL2-M4	1,4	(Sharma dkk., 2019)

2. Inhibisi enzim XO dari berbagai sumber

Hasil penelitian terkait uji inhibisi enzim XO dari berbagai sumber beserta daya inhibisinya disajikan pada Tabel 4.

Tabel 4. Uji inhibisi enzim XO dari berbagai sumber beserta daya inhibisinya

No	Sumber	Daya Inhibisi (%)	Referensi
1	Buncis (<i>Phaseolus vulgaris</i> Papilionaceae)	9.3	(Roohbakhsh dkk., 2009)
2	Bunga Kamomil (<i>Matricaria chamomilla</i>)	25	(Roohbakhsh dkk., 2009)
3	Buah Manggis (<i>Garcinia mangostana</i> L)	67.051	(Dira & Novita, 2014)
4	Sambiloto (<i>Andrographis paniculata</i>)	54.13	(Hendriani dkk., 2014)
5	Putri Malu (<i>Mimosa pudica</i> L)	62.26	(Hendriani dkk., 2014)
6	Seleguri (<i>Sida rhombifolia</i>)	80.59	(Hendriani dkk., 2014)
7	Jamur Tiram Putih (<i>Pleurotus ostreatus</i>)	13,63	(Wahyudi dkk., 2017)
8	Jamur Kancing (<i>Agaricus bisporus</i>)	36,75	(Wahyudi dkk., 2017)
9	Daun Salam (<i>Syzygium polyanthum</i>)	100	(Setiawan & Nurjanah, 2018)
10	Daun Kelor (<i>Moringa oleifera</i>)	21,35	(Natsir dkk., 2022)

2.7 Antioksidan

Antioksidan adalah senyawa yang dapat menangkap radikal bebas. Radikal bebas dihasilkan karena beberapa faktor, seperti asap, debu, polusi, kebiasaan mengonsumsi makanan cepat saji yang tidak seimbang antara karbohidrat, protein, dan lemak. Senyawa antioksidan akan mendonorkan satu elektronnya pada pada radikal bebas yang tidak stabil sehingga radikal bebas ini bisa dinetralkan dan tidak lagi mengganggu metabolisme tubuh. Sumber

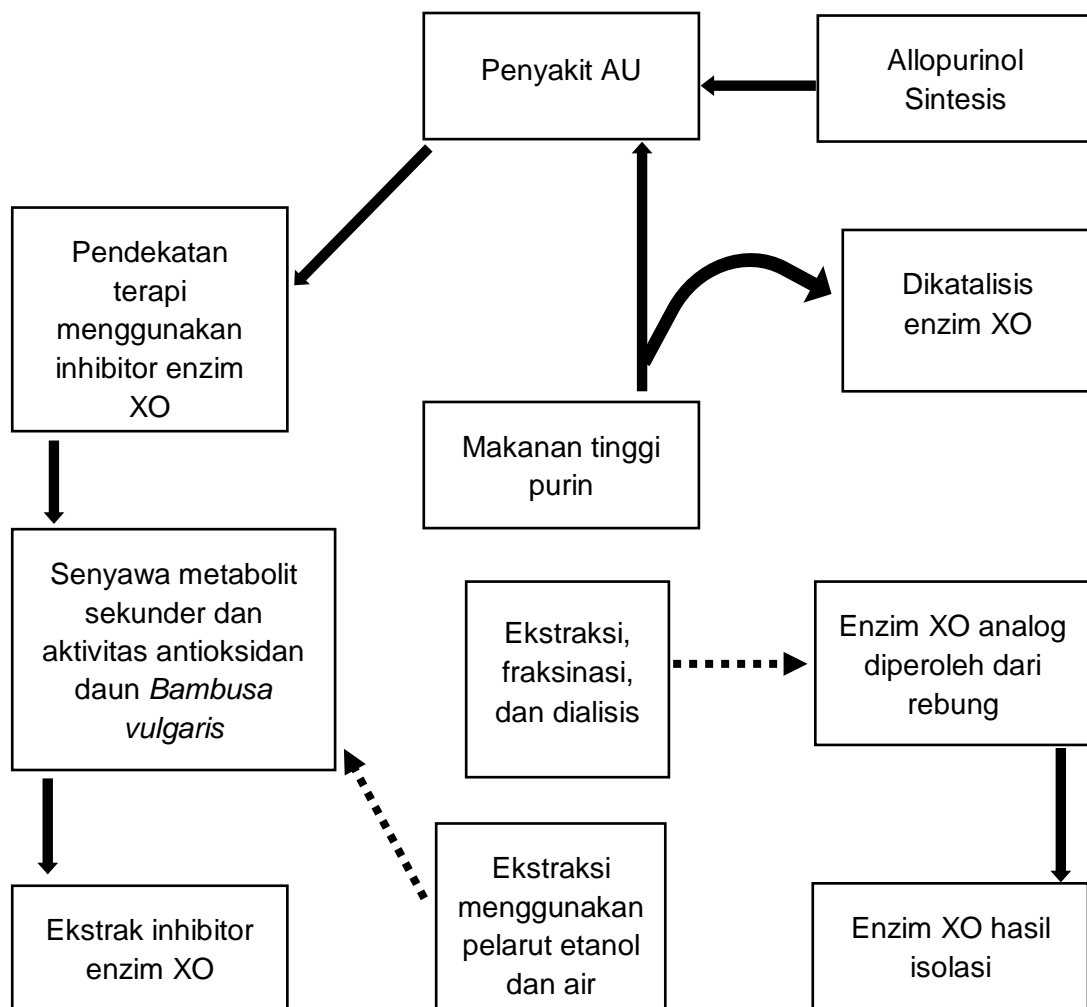
antioksidan alami banyak terdapat dalam bahan pangan misalnya buah-buahan, rempah-rempah, teh, coklat, dedaunan, biji-bijian, sayur-sayuran, enzim, dan protein. Pada umumnya aktivitas antioksidan disebabkan karena tumbuhan tersebut mengandung senyawa metabolit sekunder atau senyawa aktif, diantaranya adalah flavonoid, fenolik, tanin, dan antosianin (Winarsi, 2007).

Metode yang biasa digunakan untuk mengetahui aktivitas antioksidan tanaman yaitu dengan menggunakan metoda radikal bebas DPPH. Tujuan metoda ini adalah sebagai parameter konsentrasi yang ekuivalen memberikan efek 50% (IC_{50}). Karena adanya elektron yang tidak berpasangan, DPPH memberikan serapan kuat, ketika elektron menjadi berpasangan, absorbansi akan menurun. Keberadaan senyawa antioksidan dapat mengubah warna larutan DPPH dari ungu menjadi kuning (Dehpour, dkk. 2009). Aktivitas antioksidan dapat diketahui dengan nilai IC_{50} , semakin rendah nilai IC_{50} maka aktivitas antioksidannya semakin tinggi. Aktivitas antioksidan dari berbagai sumber buah-buahan pada umumnya diekstrak dengan pelarut air, etanol, metanol, eter, etil asetat, dan butanol. Aktivitas antioksidan pada buah belimbing wuluh Fraksi eter dan air memiliki aktivitas antioksidan terhadap radikal DPPH dengan nilai IC_{50} 50,36 ppm dan 44,01 ppm, dan sebagai pembanding memiliki nilai IC_{50} sebesar 7,00 ppm (Kuncahyo dan Sunardi, 2007).

2.8 Kerangka Pikir

Enzim XO merupakan enzim golongan oksidoreduktase yang mengkatalisis reaksi oksidasi xantin menjadi AU. Penderita AU meningkat setiap tahun disebabkan pola makan yang cenderung mengonsumsi makanan yang kaya purin. Purin merupakan prekursor dalam biosintesis AU yang dikatalisis oleh enzim XO. Enzim XO dapat diperoleh dari berbagai sumber yang berbeda diantaranya bakteri, susu, dan berbagai organ hewan dalam jumlah yang berbeda. Rebung memiliki kandungan AU 29 mg/100 g (Halevi, 2016), dengan demikian rebung berpotensi menjadi sumber enzim XO yang diperoleh dengan cara ekstraksi, fraksinasi, dan dialisis. Pengobatan AU umumnya dilakukan menggunakan allopurinol yang merupakan obat sintesis sebagai inhibitor XO, namun obat ini dapat memberikan dampak negatif terhadap penderita. Inhibitor

dari bahan alam sebagai penghambat enzim XO merupakan solusi yang dibutuhkan untuk menghindari dampak tersebut. Daun *Bambusa vulgaris* memiliki beberapa kandungan senyawa aktif seperti saponin, flavonoid, alkaloid dan tanin (Daryatmo & Widiarso, 2016), senyawa metabolit sekunder tersebut dapat menghambat aktivitas enzim XO (Chang dkk., 2018) dan berpotensi sebagai antioksidan (Apridamayanti dkk, 2021), dengan demikian dapat diasumsikan bahwa daun *Bambusa vulgaris* dapat dimanfaatkan sebagai inhibitor enzim XO.



Gambar 8. Kerangka Pikir Penelitian

2.9 Hipotesis

Hipotesis yang dirumuskan berdasarkan kajian pustaka adalah sebagai berikut:

1. karakteristik enzim XO dari rebung dapat ditentukan dengan melakukan optimasi suhu, waktu, pH, dan konsentrasi substrat
2. ekstrak etanol dan air daun *Bambusa vulgaris* memiliki aktivitas antioksidan
3. ekstrak etanol dan air daun *Bambusa vulgaris* efektif sebagai inhibitor enzim XO
4. ekstrak etanol dan air daun *Bambusa vulgaris* dapat digunakan sebagai inhibitor kompetitif terhadap enzim XO.