

**UJI INHIBISI ENZIM XANTIN OKSIDASE KOMBINASI EKSTRAK AIR  
DAN ETANOL DAUN BINAHONG (*Anredera cordifolia*) DAN DAUN  
SAMBILOTO (*Andrographis paniculata*) SECARA *IN VITRO***

**NURDINDA AGUSTIANI RACHMAT**

**H31116310**



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

**UJI INHIBISI ENZIM XANTIN OKSIDASE KOMBINASI EKSTRAK AIR  
DAN ETANOL DAUN BINAHONG (*Anredera cordifolia*) DAN DAUN  
SAMBILOTO (*Andrographis paniculata*) SECARA *IN VITRO***

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

**Oleh:**

**NURDINDA AGUSTIANI RACHMAT**

**H311 16 310**



**MAKASSAR**

**2021**

LEMBAR PENGESAHAN (TUGAS AKHIR)

UJI INHIBISI ENZIM XANTIN OKSIDASE KOMBINASI EKSTRAK AIR  
DAN ETANOL DAUN BINAHONG (*Anredera cordifolia*) DAN DAUN  
SAMBILOTO (*Andrographis paniculata*) SECARA *IN VITRO*

Disusun dan diajukan oleh:

NURDINDA AGUSTIANI RACHMAT W

H31116310

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka  
Penyelesaian Studi Program Srajana Program Studi Kimia Fakultas  
Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin  
pada tanggal 06 Agustus 2021  
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui,

Pembimbing Utama,



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

Pembimbing Pertama,



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

Ketua Departemen Kimia,



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

## PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Nurdinda Agustiani Rachmat W  
NIM : H311 16 310  
Program Studi : Kimia  
Jenjang : S1

Menyatakan dengan ini bahwa karya tulisan saya berjudul:

UJI INHIBISI ENZIM XANTIN OKSIDASE KOMBINASI EKSTRAK AIR  
DAN ETANOL DAUN BINAHONG (*Anredera cordifolia*) DAN DAUN  
SAMBILOTO (*Andrographis paniculata*) SECARA *IN VITRO*

Adalah karya tulisan saya sendiri dan bukan merupakan pengambilan alihan tulisan orang lain bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri.

Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan skripsi ini hasil karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 06 Agustus 2021  
nyatakan,



Nurdinda Agustiani Rachmat W

## PRAKATA

*Assalamu'alaikum Warahmatullahi Wabarakatuh*

Segala puji bagi Allah SWT, Tuhan Semesta Alam, Tuhan yang Maha Pengasih Lagi Maha Penyayang, yang Maha Mendengar, senantiasa 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 "Uji Inhibisi Enzim Xantin Oksidase Kombinasi Ekstrak Air dan Etanol Daun Binahong (*Anredera cordifolia*) dan Daun Sambiloto (*Andrographis paniculata*) Secara *In Vitro*".

Shalawat dan juga salam senantiasa tercurah kepada Junjungan kita semua Nabi Muhammad SAW yang mengantarkan kita dari zaman kegelapan ke zaman yang terang benderang. Penyusunan skripsi ini bertujuan untuk memenuhi syarat agar bisa mencapai gelar Sarjana di Departemen Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

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. Saya mengucapkan banyak terima kasih dan penghargaan yang tulus kepada Ibu **Dr. Hasnah Natsir, M.Si** dan Ibu **Dr. Rugaiyah A.Arifah, M.Si** selaku pembimbing utama dan pertama, yang senantiasa memberikan pengarahan, bantuan, perhatian, dan motivasi selama proses penyelesaian skripsi ini.

Saya juga mengucapkan rasa terima kasih kepada kedua orang tua tercinta, ayahanda **Muhammad Rachmat Willyanto Wello** dan ibunda **Siti Maimuna** untuk setiap semangat, bantuan, kasih sayang dan doa yang senantiasa tak henti-hentinya diberikan kepada saya. Terima kasih juga kepada kakak saya **Muhammad Farid** dan **Kak Diah**, adik saya **Nur Rezky** dan **Alif** juga **Tante Mona** dan **Eyang** yang selalu memberikan motivasi dan menghibur saya, serta kepada seluruh pihak keluarga yang

menjadi penyemangat bagi saya, semoga Allah senantiasa melindungi mereka di jalan kebenaran, Aamiin.

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

1. Ayahanda Dr. Eng Amiruddin, S.Si, M.Si selaku dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin beserta semua staf pegawai.
2. Ketua Departemen Kimia Bapak Dr. Abd. Karim, M.Si, Sekertaris Departemen Ibu Dr. St. Fauziah, M.Si dan seluruh dosen yang telah memberi ilmu dan arahan kepada penulis selama menempuh pendidikan serta staf Departemen Kimia yang telah banyak membantu.
3. Bapak Dr. Firdaus, M.S dan Bapak Dr. Maming, M.Si sebagai tim penguji yang telah memberikan masukan bagi penulis
4. Seluruh analis di Departemen Kimia FMIPA yang telah banyak membantu penulis selama melakukan penelitian terutama Kak Anti selaku analis Laboratorium Biokimia
5. Kak Akbar yang senantiasa memberikan saran dalam penelitian ini dan juga membantu dalam analisis dengan Spektorofotometer UV
6. Kak Rosida dan Kak Fajriah yang menjadi tempat meminta saran dan pengarahan selama penelitian.
7. Teman seperjuangan, tempat berbagi segala kesulitan dan kebahagiaan dalam menyelesaikan penelitian ini, saudari Dian Budiarti Kastian, terima kasih atas segala moment yang telah dilewati bersama.
8. Teman-teman KIMIA 2016 terkhusus KROMOFOR yang selama ini telah berjuang melewati masa studi dan yang masih berusaha untuk menyelesaikan studi di Departemen Kimia FMIPA Unhas
9. Teman-teman Biokim Squad izzah, bee, afiah, midin, awal, yang selalu berbagi saran dan pendapat, saling menyemangati dan memotivasi selama berjalannya penelitian ini
10. Teman-teman terdekat, penyemangat setelah keluarga tercinta, yang senantiasa membantu penulis, memberikan dukungan moral dan materil, tempat bagi

penulis berkeluh kesah dan membagi pengalaman bersama-sama. Terima kasih kepada kalian Ainun, Wiwi, Rahma, Liaw.

11. Teman-teman KKN 102 Awolagading inda, irma, dilla, amel, didil, kaspar, iqbal, catur
12. Semua pihak yang membantu penulis dalam penelitian dan penyelesaian skripsi. Terima kasih yang sebanyak-banyaknya. Semoga Allah SWT membalas kebaikan semua. Aamiin

Penulis menyadari bahwa skripsi yang penulis buat ini masih jauh dari kata sempurna karena terbatasnya pengetahuan dan pengalaman yang dimiliki penulis. Skripsi ini juga masih terdapat banyak kesalahan serta kekurangan sehingga penulis mengharapkan adanya saran dan masukan bahkan kritik yang membangun dari berbagai pihak. Semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi semua pihak yang membaca maupun bagi pengembangan ilmu pengetahuan.

*Wassalamu'alaikum Warahmatullahi Wabarakatuh*

Penulis

15 Juni 2021

## ABSTRAK

Hiperurisemia adalah kondisi lebihnya kadar asam urat dalam darah yang menjadi penyakit *gout*. Mekanisme yang dapat digunakan adalah dengan menghambat aktivitas enzim xantin oksidase. Daun binahong dan daun sambiloto memiliki potensi dalam menghambat aktivitas enzim xantin oksidase. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui golongan senyawa yang terdapat pada ekstrak etanol dan air daun binahong dan sambiloto, menentukan efektifitas inhibisinya, dan menentukan tipe penghambatan ekstrak kombinasi daun binahong dan daun sambiloto. Pengukuran persen inhibisi dilakukan dengan metode spektrofotometri pada panjang gelombang 285 nm. Hasil penelitian menunjukkan daya inhibisi terbaik pada daun sambiloto adalah ekstrak air dengan persen inhibisi sebesar 15,18%, daya inhibisi terbaik pada daun binahong adalah ekstrak etanol dengan persen inhibisi sebesar 9,94% dan kombinasi ekstrak terbaik adalah kombinasi ekstrak air dengan persen inhibisi sebesar 9,17%. Jenis kinetika inhibisi enzim xantin oksidase pada kombinasi ekstrak air dan etanol yaitu kompetitif dan unkompetitif.

**Kata kunci:** Asam urat, daun binahong, daun sambiloto, daya inhibisi, hiperurisemia, xantin oksidase.

## ABSTRACT

Hyperuricemia is a condition of higher levels of uric acid in the blood that becomes gout disease. Mechanisms that can be used is by inhibiting the activity of xanthine oxidase enzyme. Binahong and sambiloto leaves have the potential to inhibit the activity of xanthine oxidase enzymes. This study aims to determine the class of compounds contained in the ethanol and water extracts of the binahong and sambiloto leaves, determine the effectiveness of inhibition, and determine the inhibitory type of binahong leaf and sambiloto leaf combination extract. Measurement of percent inhibition is performed by spectrophotometry at a wavelength of 285 nm. The results showed the best inhibition value in sambiloto leaves is water extract with an inhibition percent of 15,18%, the best inhibition value in binahong leaves is ethanol extract with an inhibition percent 9,17%. The type of kinetic inhibition of xanthine oxidase enzyme in the combination of water and ethanol extracts is competitive and uncompetitive.

**Keywords:** uric acid, binahong leaves, sambiloto leaves, inhibition power, hyperuricemia, xanthine oxidase.

## DAFTAR ISI

	halaman
PRAKATA.....	vi
ABSTRAK.....	ix
ABSTRACT.....	x
DAFTAR ISI.....	xi
DAFTAR TABEL.....	xv
DAFTAR GAMBAR.....	xvi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xvii
DAFTAR SIMBOL & SINGKATAN.....	xviii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Maksud dan Tujuan Penelitian.....	5
1.3.1 Maksud Penelitian.....	5
1.3.2 Tujuan Penelitian.....	5
1.4 Manfaat Penelitian.....	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1 Asam Urat.....	6
2.2 Enzim.....	10
2.2.1 Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Aktivitas Enzim.....	12
2.2.2 Kinetika Reaksi Enzim.....	16
	xi

2.3 Enzim Xantin Oksidase .....	18
2.3.1 Inhibitor Enzim Xantin Oksidase .....	19
2.4 Tanaman Binahong.....	22
2.4.1 Klasifikasi dan Karakteristik Fisik Tanaman Binahong.....	22
2.4.2 Kandungan Kimia dan Manfaat Tanaman Binahong .....	24
2.5 Tanaman Sambiloto.....	25
2.5.1 Klasifikasi dan Karakteristik Fisik Tanaman Sambiloto.....	25
2.5.2 Kandungan Kimia dan Manfaat Tanaman Sambiloto .....	28
<b>BAB III METODE PENELITIAN .....</b>	<b>30</b>
3.1 Bahan Penelitian .....	30
3.2 Alat Penelitian .....	30
3.3 Waktu dan Tempat Pengambilan Sampel.....	30
3.4 Waktu dan Tempat Penelitian.....	31
3.5 Prosedur Penelitian .....	31
3.5.1 Penyiapan Larutan Uji .....	31
3.5.1.1 Pembuatan Larutan NaOH 0,1 M .....	31
3.5.1.2 Pembuatan Larutan HCl 0,1 M.....	31
3.5.1.3 Pembuatan Larutan Kalium Dihidrogen Fosfat 0,2 M .....	31
3.5.1.4 Pembuatan Larutan Dikalium Hidrogen Fosfat 0,2 M .....	32
3.5.1.5 Pembuatan Larutan FeCl <sub>3</sub> 1% .....	32
3.5.1.6 Pembuatan Reagen Dragendorf .....	32
3.5.1.7 Pembuatan Reagen Mayer .....	32
3.5.1.8 Pembuatan Larutan Substrat Xantin .....	32

3.5.1.9 Pembuatan Larutan Allopurinol .....	33
3.5.1.10 Pembuatan Larutan Standar Asam Urat .....	33
3.5.2 Preparasi Sampel .....	33
3.5.3 Ekstraksi Daun Sambiloto dan Daun Binahong dengan Pelarut Etanol dan Air Secara Maserasi .....	33
3.5.4 Identifikasi Komponen Aktif dalam Ekstrak Daun Sambiloto dan Daun Binahong dengan Uji Fitokimia .....	34
3.5.4.1 Uji Kandungan Flavonoid Ekstrak Daun Sambiloto dan Daun Binahong .....	34
3.5.4.2 Uji Kandungan Alkaloid Ekstrak Daun Sambiloto dan Daun Binahong .....	35
3.5.4.3 Uji Kandungan Steroid/Terpenoid Ekstrak Daun Sambiloto dan Daun Binahong .....	35
3.5.4.4 Uji Kandungan Saponin Ekstrak Daun Sambiloto dan Daun Binahong .....	35
3.5.4.5 Uji Kandungan Fenolik Ekstrak Daun Sambiloto dan Daun Binahong.....	36
3.5.5 Isolasi Enzim Xantin Oksidase dari Susu Sapi .....	36
3.5.6 Uji Aktivitas Inhibisi Enzim Xantin Oksidase oleh Ekstrak Daun Sambiloto dan Daun Binahong .....	36
3.5.7 Penentuan Kinetika Inhibisi Kombinasi Ekstrak Daun Sambiloto dan Daun Binahong.....	37
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>39</b>
4.1 Ekstraksi Daun Binahong dan Daun Sambiloto .....	39
4.2 Uji Fitokimia Daun Binahong dan Daun Sambiloto.....	40
4.3 Isolasi Enzim Xantin Oksidase dari Susu Sapi.....	46
4.4 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum.....	47

4.5 Uji Inhibisi Enzim Xantin Oksidase oleh Ekstrak Daun Binahong dan Daun Sambiloto .....	48
4.6 Penentuan Kinetika Inhibisi Ekstrak Kasar Enzim Xantin Oksidase Terhadap Kombinasi Ekstrak Air dan Etanol Daun Binahong dan Daun Sambiloto.....	52
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	57
5.1 Kesimpulan .....	57
5.2 Saran. ....	57
DAFTAR PUSTAKA .....	58
LAMPIRAN .....	66

## DAFTAR TABEL

Tabel	halaman
1. Hasil ekstraksi daun binahong dan daun sambiloto .....	40
2. Hasil uji fitokimia ekstrak air daun binahong dan daun sambiloto.....	41
3. Hasil uji fitokimia ekstrak etanol daun binahong dan daun sambiloto ..	42
4. Aktivitas inhibisi ekstrak kasar enzim XO dengan kombinasi ekstrak air daun binahong dan daun sambiloto terhadap variasi [xantin] .....	53
5. Aktivitas inhibisi ekstrak kasar enzim XO dengan kombinasi ekstrak etanol daun binahong dan daun sambiloto terhadap variasi [xantin]...	53
6. Hasil perhitungan nilai $V_{maks}$ dan $K_M$ kombinasi ekstrak air.....	54
7. Hasil perhitungan nilai $V_{maks}$ dan $K_M$ kombinasi ekstrak etanol .....	55
8. Perbandingan Jenis Kinetika Penelitian Sebelumnya .....	56

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	halaman
1. Struktur Asam Urat .....	7
2. Mekanisme Terbentuknya Asam Urat .....	10
3. Hubungan Konsentrasi Substrat dengan Laju Reaksi Enzim .....	13
4. Hubungan Suhu dengan Aktivitas Enzim .....	14
5. Struktur Allopurinol .....	22
6. Tanaman Binahong .....	24
7. Tanaman Sambiloto .....	27
8. Reaksi Uji Mayer .....	43
9. Reaksi Uji Dragendorff.....	43
10. Mekanisme Pembentukan Garam Flavilium.....	44
11. Reaksi Uji $\text{FeCl}_3$ dengan Tanin.....	45
12. Diagram % Inhibisi Aktivitas Enzim Xantin Oksidase Oleh Ekstrak Air dan Etanol Daun Binahong .....	49
13. Diagram % Inhibisi Aktivitas Enzim Xantin Oksidase Oleh Ekstrak Air dan Etanol Daun Sambiloto .....	50
14. Perbandingan % Inhibisi Kombinasi Ekstrak Air dan Etanol Daun Binahong dan Daun Sambiloto .....	51

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	halaman
1. Diagram Alir Penelitian .....	66
2. Preparasi Sampel dan Ekstraksi Sampel .....	67
3. Uji Fitokimia Ekstrak Daun Sambiloto dan Daun Binahong .....	68
4. Uji Aktivitas Inhibisi Enzim Xantin Oksidase oleh Ekstrak Daun Sambiloto dan Daun Binahong .....	69
5. Uji Kinetika Inhibisi Enzim Xantin Oksidase oleh Ekstrak Daun Sambiloto dan Daun Binahong .....	70
6. Perhitungan Pembuatan Allopurinol, Substrat dan Persen Rendamen Ekstrak Daun Binahong dan Daun Sambiloto .....	71
7. Perhitungan Konsentrasi Asam Urat, Aktivitas Enzim dan Persen Inhibisi .....	73
8. Tabel Perhitungan Aktivitas Enzim Xantin Oksidase dan Persen Inhibisi Pada Ekstrak Daun Binahong, Daun Sambiloto, Kombinasi Ekstrak dan Allopurinol .....	77
9. Perhitungan Penentuan Kinetika Inhibisi Ekstrak Kasar Enzim XO Terhadap Kombinasi Ekstrak Daun Binahong dan Daun Sambiloto....	79
10. Dokumentasi Penelitian .....	83

## DAFTAR SIMBOL & SINGKATAN

dL	: desiliter
NAD	: Nikotinamida adenina dinukleotida
NADP	: Nikotinamida adenina dinukleotida fosfat
FAD	: Flavin adenina dinukleotida
XO	: Xantin Oksidase
IC <sub>50</sub>	: Inhibition Concentration 50%
rpm	: <i>rotation per minute</i>
M	: Molaritas
mM	: miliMolar
pH	: potensial hydrogen
mU/mL	: miliUnit/milliliter
$\lambda_{maks}$	: Panjang gelombang maksimum
$K_M$	: Tetapan Michaelis-Menten
$V_{maks}$	: Aktivitas Maksimum
B	: Binahong
S	: Sambiloto

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Hiperurusemia adalah kondisi lebihnya kadar asam urat dalam darah yang menjadi penyakit *gout*. Kadar asam urat dalam darah ditentukan oleh keseimbangan antara produksi dan ekskresi dalam tubuh manusia. Bila terjadi gangguan pada keseimbangan kedua proses tersebut, maka terjadi keadaan hiperurisemia yang menimbulkan hipersaturasi asam urat sehingga menyebabkan *gout* (Katzung, 2002). Penyakit *gout* adalah salah satu penyakit inflamasi sendi yang paling sering ditemukan, ditandai dengan penumpukan kristal monosodium urat di dalam ataupun di sekitar persendian. Asam urat yaitu penyakit yang disebabkan oleh penumpukan asam urat yang berlebih dan menyerang persendian (Zahara, 2013).

Faktor yang menyebabkan seseorang terserang penyakit asam urat antara lain usia, obat-obatan tertentu (terutama diuretika), asupan senyawa purin yang berlebih, gangguan fungsi ginjal, konsumsi alkohol yang berlebihan, obesitas (kegemukan), kurangnya aktivitas fisik, hipertensi dan penyakit jantung (Sholihah, 2014). Kasus kejadian asam urat di Indonesia mencapai 65% dan penderita yang mengidap asam urat antara perempuan lebih banyak dibandingkan laki-laki (Sucipto dan Fadillah, 2018). Produksi asam urat dapat dikurangi dengan menghambat aktivitas enzim xantin oksidase (XO) (Iswantini dkk., 2012).

Xantin oksidase (XO) merupakan enzim yang berperan penting dalam sintesis asam urat dan sangat aktif bekerja di dalam hati, usus halus dan ginjal. Enzim ini

mengkatalisis oksidasi hiposantin dan xantin menjadi asam urat. Xantin oksidase termasuk golongan enzim *oksidoreduktase* (Yulian, 2014). Enzim XO terdapat pada jaringan mamalia, susu sapi, susu domba, dan susu kambing (Ho dan Clifford, 1976). Fajriah (2020) melakukan isolasi enzim XO dari susu sapi dengan kondisi pH 6,5, suhu 35 °C, substrat xantin 0,10 mM dan menggunakan ekstrak etanol biji aren dalam menghambat aktivitas enzim XO dengan persen inhibisi sebesar 56,04% pada konsentrasi 160 ppm. Penelitian ini menggunakan pelarut etanol yang sifatnya semipolar sehingga memungkinkan untuk mengikat semua senyawa metabolit sekunder dan pelarut air yang bersifat polar untuk membandingkan ekstrak mana yang lebih baik.

Salah satu pendekatan terapi untuk mengobati asam urat yaitu dengan menggunakan penghambat xantin oksidase yang dapat mengurangi produksi asam urat. Allopurinol merupakan penghambat xantin oksidase yang secara klinis digunakan pada tiga dekade terakhir, namun dosis yang disarankan tidak lebih dari 100 mg/harinya (Kong, dkk., 2000). Hasil penelitian Mardianingsih (2017), allopurinol pada konsentrasi tertinggi 100 µg/mL mampu menghambat aktivitas xantin oksidase dengan persen inhibisi sebesar 94,35±2,17%. Akan tetapi, penggunaan allopurinol memiliki efek samping seperti hipersensitivitas, sindrom Steven-johnson dan toksisitas ginjal (Umamaheswari dkk., 2009). Adapun upaya pencarian pengobatan asam urat secara alami, yaitu dengan menggunakan bahan yang berasal dari alam. Djakad (2020), melakukan penelitian untuk menghambat enzim xantin oksidase menggunakan daun kelor dan daun jeruk nipis dengan hasil penelitian yang diperoleh adalah ekstrak daun kelor memiliki daya inhibisi sebesar 35,42% dan daun jeruk nipis sebesar 40,27%

dengan allopurinol sebagai kontrol positif yang memiliki daya inhibisi sebesar 62,11%. Beberapa peneliti juga telah menyebutkan bahwa aktivitas XO dapat dihambat dengan adanya metabolit sekunder berupa flavonoid (Ahmad dkk., 2017). Seperti salah satunya adalah tanaman sambiloto (*Andrographis paniculata*, Ness.).

Tanaman sambiloto (*Andrographis paniculata*, Ness.) merupakan salah satu tanaman yang mengandung flavonoid. Ditemukan bahan kimia andrographolide (beserta beberapa analognya), paniculide, farnesol, protein arabinogalactan, flavonoid, saponin, alkaloid, phenol, dan tannin dari ekstrak daun sambiloto (Patin, dkk., 2018). Sambiloto secara farmakologis mempunyai sifat antara lain antiradang, analgesik, antiinflamasi, antibakteri, antimalaria, hepatoprotektif, penawar racun, menstimulasi sistem imun, menghambat sel tumor, serta untuk pengobatan antara lain pengobatan untuk penyakit hepatitis, radang paru, TBC paru, diare, kencing nanah, dan tipus abdominalis (Arief, dkk., 2017). Hasil penelitian Septianingsih dkk (2012), menunjukkan bahwa ekstrak etanol akar sambiloto dapat menghambat aktivitas enzim XO hingga 63,11% pada rentang konsentrasi 10-20 ppm dan memiliki nilai  $IC_{50}$  sebesar  $16,82 \mu\text{g mL}^{-1}$ . Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol sambiloto berpotensi sebagai inhibitor XO dan berfungsi sebagai *antigout*. Selain daun sambiloto, daun binahong juga memiliki kandungan flavonoid.

Binahong adalah jenis tanaman merambat yang sering dijadikan tanaman hias atau tumbuh liar di pekarangan. Komponen tanaman binahong terdiri dari alkaloid, polifenol, flavonoid dan mono polisakarida termasuk L-arabinosa, D-galaktosa, L-ramnosa, D-glikosa yang merupakan komponen paling umum dari rantai yang terpasang. Tanaman ini juga mempunyai komponen paling tinggi pada daun, batang,

umbi dan bunga. Hasil uji fitokimia menunjukkan ekstrak daun binahong ditemukan senyawa polifenol, alkaloid dan flavonoid (Anwar dan Soleha, 2016). Laksmiawati dan Simbolon (2017) menyebutkan bahwa hasil uji aktivitas *in vitro* memperlihatkan bahwa ekstrak daun binahong 100 bpj mempunyai potensi penghambatan xantin oksidase sebesar 24,33%. Uji aktivitas antihiperurisemia ekstrak menunjukkan kemampuan menurunkan kadar asam urat yang paling tinggi terdapat pada dosis 800 mg/kgBB dengan persentase penurunan sebesar 60,88% dibandingkan dengan kontrol hiperurisemia. Berdasarkan hal tersebut, dilakukan penelitian uji inhibisi enzim xantin oksidase terhadap ekstrak daun sambiloto dan daun binahong serta kombinasinya. Hasil penelitian ini diharapkan dapat digunakan untuk penderita penyakit *gout*.

## **1.2 Rumusan Masalah**

Rumusan masalah dari penelitian ini, yaitu:

1. Golongan senyawa apakah yang terdapat pada ekstrak etanol dan air daun binahong dan daun sambiloto?
2. bagaimana efektivitas inhibisi ekstrak daun binahong, daun sambiloto dan kombinasi ekstrak terhadap xantin oksidase?
3. bagaimana tipe penghambatan ekstrak kombinasi daun binahong dan daun sambiloto terhadap enzim xantin oksidase?

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

#### **1.3.1 Maksud Penelitian**

Penelitian ini dimaksudkan untuk mengetahui golongan senyawa yang terdapat pada ekstrak etanol dan air daun sambiloto dan daun binahong, menganalisis proses inhibisi enzim xantin oksidase terhadap ekstrak tersebut, serta mengetahui tipe inhibisinya.

#### **1.3.2 Tujuan Penelitian**

Tujuan dari penelitian ini, yaitu:

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

### **1.4 Manfaat Penelitian**

Manfaat dari penelitian ini yaitu memberikan informasi kepada masyarakat mengenai jenis metabolit sekunder yang terkandung di dalam daun sambiloto dan daun binahong yang dapat menghambat aktivitas enzim xantin oksidase sehingga masyarakat dapat memanfaatkan daun sambiloto dan daun binahong sebagai alternatif obat asam urat dan upaya dalam pencegahan penyakit *gout*.

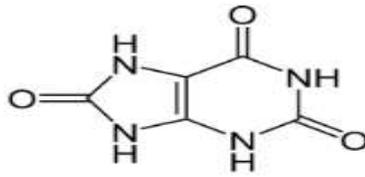
## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 Asam Urat**

Asam urat merupakan asam yang berbentuk kristal yang merupakan produk akhir dari metabolisme purin, dimana purin merupakan salah satu komponen asam nukleat yang terdapat pada inti sel tubuh. Kadar asam urat dalam darah adalah hasil keseimbangan antara produksi dan ekskresi. Ketika terjadi ketidakseimbangan kedua proses tersebut, maka terjadi keadaan hiperurisemia yang menimbulkan hipersaturasi asam urat sehingga menyebabkan *gout* (Katzung, 2002).

Asam urat diproduksi oleh hati dan usus kecil, dihasilkan oleh sel yang mengandung xantin oksidase. Kadar normal asam urat dalam tubuh adalah sebesar 7 mg/dL. Jika melebihi kadar normal asam urat maka akan 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). Penderita diabetes hiperinsulinemia dapat mengakibatkan peningkatan reabsorpsi asam urat di tubulus proksimal ginjal. Oleh karena itu, deteksi awal pada hiperurisemia merupakan salah satu pemeriksaan sederhana sebagai penanda prognostic pra diabetes. Struktur asam urat dapat dilihat pada Gambar 1 (Nasrul dan Sofitri, 2012):



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

Makanan dan minuman dapat menjadi faktor penyebab tingginya kadar asam urat dalam darah. Minuman yang mengandung kafein seperti kopi dan teh mengandung purin yang dapat menjadi faktor pemicu meningkatnya asam urat dalam darah. Jika kadar xantin dalam darah cukup tinggi maka mampu memicu terbentuknya asam urat yang lebih banyak karena kerja dari xantin oksidase (Carter, 2005). Purin bisa didapatkan pada semua makanan yang berasal dari tanaman sayur, buah, kacang-kacangan dan makanan yang bersumber dari hewan seperti udang, cumi, kerang, kepiting dan ikan teri (Musfira, 2014).

Golongan pengobatan asam urat digolongkan menjadi dua jenis obat yaitu golongan urikostatik dan obat golongan urikosurik. Alopurinol merupakan obat golongan urikostatik karena bekerja sebagai inhibitor xantin oksidase. Alopurinol merupakan obat yang telah diakui sebagai penghambat pembentukan asam urat dari prekursornya, yaitu xantin dan hipoxantin. Probenesid dan sulfinpirazon merupakan obat golongan urikosurik yang biasa digunakan karena dapat menurunkan kadar asam urat dengan cara meningkatkan ekskresi asam urat dan menghambat reabsorpsi asam urat di tubulus ginjal (Wilmana, 2007).

Hiperurisemia merupakan keadaan dimana kadar asam urat darah berada di atas normal. Hiperurisemia yang berkepanjangan dapat menyebabkan penyakit *gout* atau

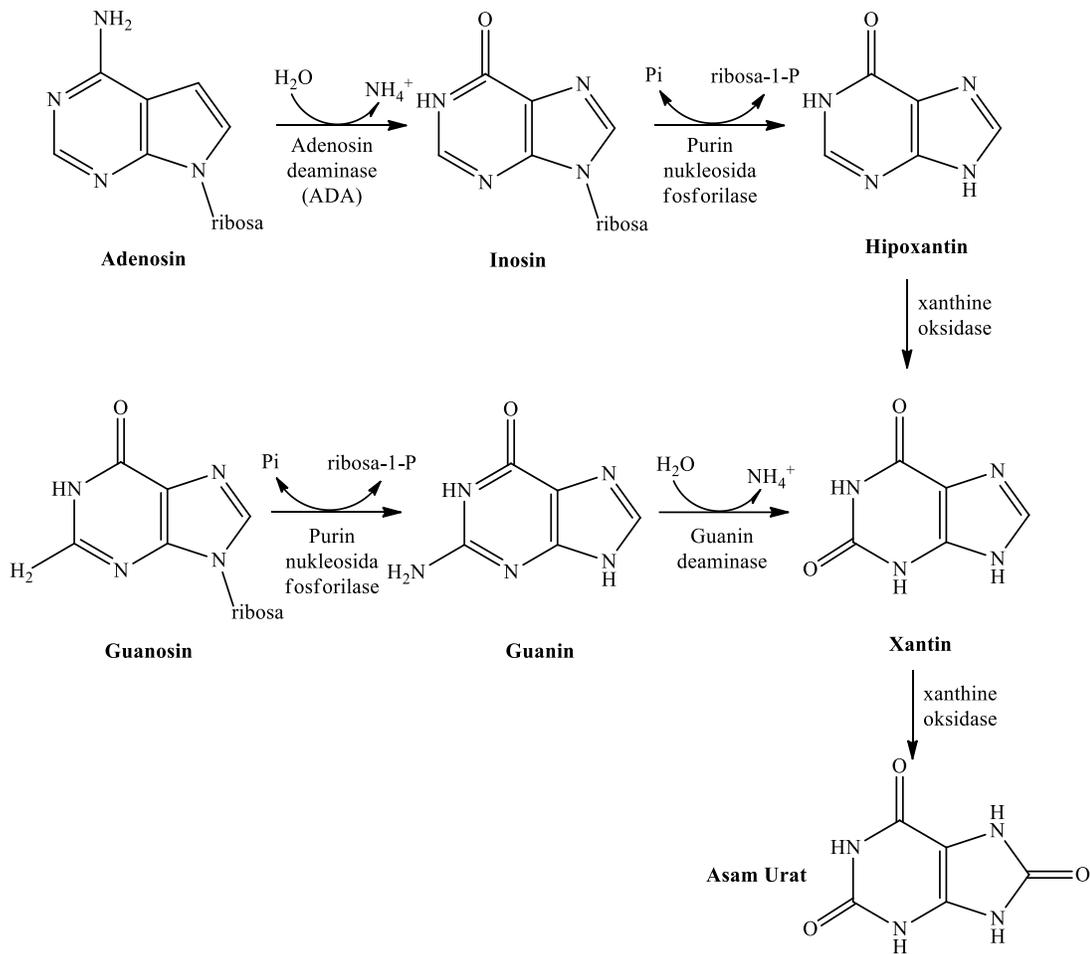
pirai. Penyakit *gout* merupakan salah satu tipe dari artritis yang disebabkan banyak atau tidak normalnya kadar asam urat di dalam tubuh karena tubuh tidak bisa men ekskresikan asam urat secara normal. *Gout* atau pirai adalah penyakit akibat adanya penumpukan kristal monosodium urat pada jaringan akibat peningkatan kadar asam urat (Misnadiarly, 2008). Hiperurisemia dan asam urat adalah kondisi patologis yang ditandai oleh produksi berlebih atau ekskresi asam urat yang kurang, produk katabolisme purin yang diekskresikan secara fisiologis dalam urin. Kedua kondisi ini sering dikaitkan dengan penyakit kronis seperti hipertensi, diabetes mellitus, sindrom metabolik, penyakit ginjal dan kardiovaskular (Gliozzi, dkk., 2016)

Hiperurisemia dibedakan menjadi hiperurisemia primer, hiperurisemia sekunder dan hiperurisemia idiopatik. Hiperurisemia primer terjadi tanpa disebabkan penyakit atau penyebab lain. Hiperurisemia sekunder terjadi karena adanya penyakit lain atau penyebab lain. Hiperurisemia idiopatik adalah hiperurisemia yang tidak jelas penyebab primer, kelainan genetik dan tidak ada kelainan fisiologis atau anatomi yang jelas (Sudoyo, dkk., 2006).

Kandungan asam urat dalam darah dapat meningkat bergantung dengan bagaimana cara pola hidup. Faktor-faktor yang dapat meningkatkan kadar asam urat diantaranya adalah kelebihan mengkonsumsi makanan berkadar purin tinggi seperti daging, jeroan, kerang, kepiting, keju, gorengan, tape, bayam, buncis, kacang tanah, petai, alpukat, dan alkohol, efek dari penyakit seperti leukemia, kemoterapi dan radioterapi adanya gangguan metabolisme purin bawaan, kelainan pembawa sifat atau gen, (Eff, dkk., 2016). Factor kelebihan produksi asam urat dalam tubuh, obesitas, diabetes yang disertai tekanan darah tinggi juga dapat menyebabkan kadar asam urat

meningkat. Pada kasus diabetes dan obesitas sebagian besar glukosa dipecah menjadi asetil co-A, dilanjutkan dengan pembentukan  $\alpha$ -ketoglutarat dan pembebasan sejumlah energi dalam siklus krebs. 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-pirophosphat (PRPP) berasal dari ribosa 5 fosfat yang disintesis dengan ATP (*Adenosine triphosphate*). Dengan bantuan enzim PRPP glutamil amidotranferas yang mengkatalis reaksi PRPP dengan glutamin membentuk fosforibosilamin cincin sembilan. Inosine monophosphat (IMP) dibentuk dari gugus glisin dan dan cikal bakal terbentuk basa nukleotida adenin dan guanin. Adenosin monophosphate (AMP) terbentuk dari substitusi gugus amino aspartat pada 6 cincin IMP dengan bantuan guanin triphosphat. GMP atau guanin monophosphat terbentuk dari substitusi amino glutamin pada karbon dua cincin purin dan melibatkan ATP. Adenosin monofosfat mengalami deaminasi menjadi inosin, kemudian IMP dan GMP mengalami defosforilasi menjadi inosin dan guanosin. Basa hipoxantin terbentuk dari IMP yang mengalami defosforilasi dan diubah oleh xantin oksidase menjadi xantin serta guanin akan mengalami deaminasi untuk menghasilkan xantin juga. Xantin akan diubah oleh xantin oksidase menjadi asam urat. Mekanisme pembentukan asam urat dapat dilihat pada Gambar 2 (Nasrul dan Sofitri, 2012):



**Gambar 2.** Mekanisme Terbentuknya Asam Urat (Birge, 2015).

## 2.2 Enzim

Enzim adalah benda tak hidup yang diproduksi oleh sel hidup. Enzim menyusun sebagian besar total protein dalam sel. Enzim berfungsi sebagai biokatalisator yaitu mempercepat laju suatu reaksi kimia tanpa ikut terlibat dalam reaksi tersebut. Maksudnya, enzim tidak ikut berubah menjadi produk tetapi akan kembali ke bentuk asalnya setelah reaksi kimia selesai. Enzim mengubah molekul substrat menjadi hasil reaksi (produk) yang molekulnya berbeda dari substrat. Enzim

merupakan katalisator (protein katalitik) untuk reaksi-reaksi kimia di dalam sistem biologi (Susanti dan Fibriana, 2017).

Enzim oksidoreduktase 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).

Aktivitas enzim dipengaruhi oleh beberapa faktor, diantaranya konsentrasi substrat, pH, suhu, dan inhibitor (penghambat). Pengaruh tersebut dapat mengganggu stabilitas enzim dan stabilitas merupakan sifat penting enzim dalam aplikasinya sebagai biokatalis. Stabilitas enzim dapat didefinisikan sebagai kestabilan aktivitas enzim selama penyimpanan, penggunaan, dan kestabilan terhadap senyawa tertentu (asam, basa) serta pengaruh temperatur dan pH ekstrim (Susanti dan Fibriana, 2017).

Menurut Shahib (2005), enzim digolongkan menurut reaksi yang diikutinya, sedangkan masing-masing enzim diberi nama menurut substratnya. *Commission on Enzymes of the international Union of Biochemistry* membagi enzim menjadi enam golongan besar, yaitu :

1. Oksidoreduktase, enzim golongan ini dibagi dalam dua bagian yaitu dehidrogenase dan oksidase. Dehidrogenase bekerja pada reaksi dehidrogenasi yaitu reaksi pengambilan atom hydrogen dari suatu senyawa. Sedangkan

oksidase bekerja sebagai katalis pada reaksi pengambilan hydrogen dari suatu substrat.

2. Transferase, enzim golongan ini bekerja sebagai katalis pada reaksi pemindahan suatu gugus dari suatu senyawa kepada senyawa lain. Beberapa contoh enzim golongan ini yaitu metiltransferase, hidrosimetiltransferase, karboksiltransferase, asiltransferase dan aminotransferase.
3. Hidrolase, enzim golongan ini bekerja sebagai katalis pada reaksi hidrolisis. Beberapa contoh ialah lipase, phospatase, amilase, pepsin, tripsin dan kimotripsin.
4. Liase, enzim golongan ini mempunyai peranan penting dalam reaksi pemisahan suatu gugus dari suatu substrat atau sebaliknya. Contoh enzim golongan ini yaitu dekarboksilase, aldose dan hidratase.
5. Isomerase, enzim golongan ini bekerja pada reaksi perubahan intramolekuler, misalnya reaksi perubahan glukosa menjadi fruktosa.
6. Ligase, enzim golongan ini bekerja pada reaksi penggabungan dua molekul. Contoh enzim golongan ini antara lain glutamin sintetase dan piruvat karboksilase.

### **2.2.1 Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Aktivitas Enzim**

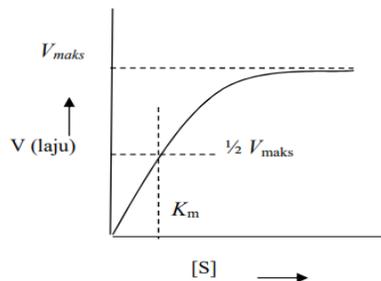
Menurut poedjadi (1994) terdapat beberapa faktor-faktor utama yang dapat mempengaruhi kerja enzim, diantaranya adalah:

### 1. Konsentrasi enzim

Konsentrasi enzim secara langsung mempengaruhi kecepatan laju reaksi enzimatik. Pada suatu konsentrasi substrat tertentu, laju reaksi bertambah dengan bertambahnya konsentrasi enzim.

### 2. Konsentrasi substrat

Laju reaksi enzimatik akan meningkat dengan bertambahnya konsentrasi substrat rendah, bagian aktif enzim hanya menampung substrat sedikit. Bila konsentrasi substrat diperbesar, makin banyak substrat yang berhubungan dengan enzim pada bagian aktif, sehingga konsentrasi enzim-substrat makin besar dan menyebabkan besarnya laju reaksi. Namun pada batas konsentrasi substrat tertentu, semua bagian aktif telah dipenuhi substrat. Dalam kondisi ini, bertambahnya konsentrasi enzim-substrat, sehingga jumlah hasil reaksinya pun tidak bertambah. Hubungan antara konsentrasi substrat dengan laju reaksi enzim ditunjukkan dalam Gambar 3.

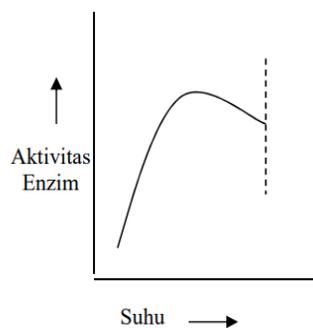


**Gambar 3.** Hubungan konsentrasi substrat dengan laju reaksi enzim (Shahib, 2005)

### 3. Suhu

Suhu dapat meningkatkan laju reaksi enzimatik sampai batas tertentu. Reaksi yang menggunakan katalis enzim dapat dipengaruhi oleh suhu. Oleh karena

itu, reaksi kimia dapat dipengaruhi oleh suhu. Pada suhu yang tinggi, reaksi akan berlangsung cepat. Akan tetapi, pada suhu yang rendah reaksi kimia berlangsung lambat. Suhu yang terlalu tinggi (jauh dari suhu optimum suatu enzim) akan menyebabkan enzim terdenaturasi. Bila enzim terdenaturasi, maka bagian aktifnya akan terganggu dan dengan demikian konsentrasi efektif enzim menjadi berkurang (Gambar 4). Hal ini menyebabkan laju reaksi enzimatik menurun. Kenaikan suhu sebelum proses denaturasi dapat menaikkan kecepatan reaksi.



**Gambar 4.** Hubungan suhu dengan aktivitas enzim

#### 4. Derajat Keasaman (pH)

Struktur ion enzim bergantung pada pH lingkungan. Enzim dapat berbentuk ion positif dan ion negatif (zwitter ion). Dengan demikian perubahan pH akan mempengaruhi efektivitas bagian aktif enzim dalam membentuk kompleks enzim–substrat. Selain itu, pH yang tinggi dapat menyebabkan terjadinya proses denaturasi dan ini akan mengakibatkan menurunnya aktivitas enzim. Enzim menunjukkan aktivitas maksimum pada kisaran pH 4,5-8,0 (Winarno, 1986).

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

Inhibitor merupakan molekul atau ion yang menghambat reaksi enzimatik. Inhibitor akan menyerang sisi aktif enzim sehingga enzim tidak dapat berikatan dengan substrat sehingga fungsi katalitiknya terganggu. 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, 1986).

### 2.2.2 Kinetika Reaksi Enzim

Konstanta Michaelis-Menten ( $K_m$ ) dan laju reaksi maksimum ( $V_{maks}$ ) merupakan parameter dalam kinetika reaksi enzim. Kinetika enzim adalah salah satu cabang enzimologi yang membahas faktor-faktor yang mempengaruhi kecepatan reaksi enzimatik. Salah satu faktor yang mempengaruhi aktivitas enzim adalah konsentrasi substrat. Konsentrasi substrat ini dapat divariasikan untuk mempelajari mekanisme suatu reaksi enzim, yakni bagaimana tahap-tahap terjadinya pengikatan substrat oleh enzim maupun pelepasan produknya (Suhartono, 1989).

Berdasarkan postulat Michaelis dan Menten pada suatu reaksi enzimatik terdiri dari beberapa fase yaitu pembentukan kompleks enzim substrat (ES), dimana E adalah enzim dan S adalah substrat, modifikasi dari substrat membentuk produk (P) yang masih terikat dengan enzim (EP), dan pelepasan produk dari molekul enzim. Terjadinya pelepasan antara substrat dengan enzim dapat dilihat pada persamaan (1) (Shahib, 2005).



Setiap enzim memiliki sifat dan karakteristik yang spesifik seperti yang ditunjukkan pada sifat spesifisitas interaksi enzim terhadap substrat yang dinyatakan dengan nilai tetapan Michaelis Menten ( $K_m$ ). Nilai  $K_m$  didefinisikan sebagai konsentrasi substrat tertentu pada saat enzim mencapai kecepatan setengah kecepatan maksimum. Setiap enzim memiliki nilai  $V_{maks}$  dan  $K_m$  yang khas dengan substrat spesifik pada suhu dan pH tertentu (Kamelia, dkk., 2005). Nilai  $K_m$  yang kecil menunjukkan bahwa kompleks enzim-substrat sangat mantap dengan afinitas tinggi

terhadap substrat, sedangkan jika nilai  $K_m$  suatu enzim besar maka enzim tersebut memiliki afinitas rendah terhadap substrat (Page, 1989).

Suatu enzim hanya mampu mengkatalisis untuk reaksi tertentu saja. Oleh karena itu atas dasar spesifitas katalitiknya, ada enzim yang dapat mengkatalisis pada satu substrat saja dan ada pula yang daya katalisisnya bersifat stereospesifik. Secara klasik terjadinya reaksi enzimatik diawali dengan terbentuknya ikatan kompleks antara enzim-substrat (ES) dalam keseimbangan, diikuti dengan dihasilkannya intermediate yang berupa ikatan kompleks antara enzim dengan produk (EP) serta diakhiri dengan dihasilkan produk atau metabolit dan enzim kembali (Lehninger, 1978).

Tetapan Michaelis ( $K_m$ ) merupakan suatu karakteristik bagi tiap enzim. Makin kecil harga  $K_m$  maka makin besar afinitas enzim terhadap substratnya dan demikian pula sebaliknya. Berdasarkan asas keseimbangan Michaelis-Menten, kompleks enzim-substrat makin cepat terbentuk bila kadar substrat [S] makin besar. Dalam kondisi kadar substrat cukup besar sehingga semua enzim terikat kepadanya, maka didapat laju reaksi maksimum ( $V_m$ ). Hubungan kuantitatif antara laju reaksi enzim dan kadar substrat ditunjukkan pada persamaan (2) (Murray, dkk., 1996):

$$v = \frac{V_m \times [S]}{K_m + [S]} \quad (2)$$

Pada molekul enzim terdapat dua tempat interaksi yaitu tempat pusat aktif dan tempat efektor. Pusat aktif adalah tempat interaksi antara molekul enzim dengan substrat, sedangkan untuk efektor masih dibagi dua lagi yaitu tempat aktivator dan tempat inhibitor. Oleh karena itu aktivitas enzim bisa ditingkatkan atau dihambat,

tergantung tempat efektor mana yang diduduki oleh suatu molekul (Ganellin and Roberta, 1993).

### 2.3 Enzim Xantin Oksidase

Xantin oksidase (XO) adalah enzim penting yang mengkatalisis hidroksilasi hipoksantin menjadi xantin dan xantin menjadi asam urat yang diekskresikan oleh ginjal. Produksi berlebihan atau ekskresi asam urat yang tidak cukup dapat menyebabkan terjadinya hiperurisemia. Pada tahun 1902, Schardinger menunjukkan bahwa susu mengandung enzim yang mampu mengoksidasi aldehida menjadi asam, disertai dengan reduksi metilen biru; Enzim ini kemudian biasa disebut "Schardingerenzyme". Pada 1922, Morgan dan rekannya., menunjukkan bahwa susu mengandung enzim yang mampu mengoksidasi xantin dan hipoxantin, dengan reduksi  $O_2$  menjadi  $H_2O_2$  secara bersamaan, dan enzim ini dikenal dengan istilah xantin oksidase (XO) (Kostic, dkk., 2015).

Xantin oksidase (XO) berperan penting dalam katabolisme purin. Di dalam tubuh, XO ditemukan di sel hati dan otot. XO merupakan suatu kompleks enzim yang terdiri atas 1332 residu asam amino, molibdenum ( $HO_2SMo$ ), FAD, dan  $Fe_2S_2$  sebagai pusat reaksi redoks, dengan bobot molekul sebesar 275000 dalton. XO mengkatalisis oksidasi hiposantin menjadi xantin dan xantin menjadi asam urat yang berperan penting pada penyakit *gout*. Pada saat bereaksi dengan xantin untuk membentuk asam urat, atom oksigen ditransfer dari molibdenum ke xantin (Cos, dkk., 1998).

Enzim xantin oksidase merupakan enzim golongan *oksidoreduktase* yang mengkatalisis reaksi oksidasi xantin menjadi asam urat. Dalam reaksi oksidasi, enzim

xantin oksidase mengkatalisis pengeluaran elektron dari substrat dengan menggunakan oksigen sebagai akseptor hidrogen atau elektronnya. Keberadaan xantin oksidase menjadi sangat penting dalam metabolisme purin, karena dapat mengubah hipoxantin menjadi xantin yang kemudian diubah menjadi asam urat. Namun tingginya kadar asam urat dapat menimbulkan reaksi inflamasi yaitu *gout* (Wahyudi, dkk., 2012). Aktivitas XO endotel meningkat lebih dari 200% pada pasien yang mengalami penyakit kronis gagal jantung (Ironi dkk., 2016).

### **2.3.1 Inhibitor Xantin Oksidase**

Mekanisme penghambatan (inhibisi) dari inhibitor dapat berlangsung secara kompetitif, unkompetitif atau nonkompetitif. Pada jenis inhibisi kompetitif, terjadi kompetisi antara substrat dengan inhibitor dalam memperebutkan sisi aktif dari enzim. Reaksi akan terjadi dan produk akan dihasilkan, walaupun enzim bereaksi dengan inhibitor. Produk yang dihasilkan dari inhibitor akan berbeda jenisnya dengan produk yang dihasilkan dari substrat. Pada jenis penghambatan ini, adanya inhibitor dapat menyebabkan perubahan nilai  $K_m$  (konstanta Michaelis-Menten) menjadi lebih besar dari nilai  $K_m$  semula tanpa mengubah nilai  $V_{maks}$ -nya (kecepatan maksimum reaksi enzimatis).  $V_{maks}$  pada jenis inhibisi kompetitif tetap dapat tercapai, namun membutuhkan waktu yang lebih lama dari kondisi normalnya dan untuk mempercepatnya dapat dilakukan penambahan konsentrasi substrat yang akan memperbesar peluang bagi substrat untuk berikatan dengan sisi aktif enzim, yang pada akhirnya dapat membantu meningkatkan  $V_{maks}$  (Thenawidjaja, 1995).

Besarnya daya hambat kompetitif suatu inhibitor sangat dipengaruhi oleh kadar inhibitor, kadar substrat serta afinitas relatif inhibitor dan substrat terhadap enzim. Kekuatan hambat suatu inhibitor pada reaksi enzimatik dinyatakan dengan harga  $IC_{50}$ .  $IC_{50}$  adalah kadar inhibitor yang diperlukan untuk menghambat aktivitas enzim sebesar 50% (Smith and Williams, 1988). Apabila dalam sistem reaksi enzimatik ditambahkan inhibitor, sehingga berdampak pada perubahan harga  $K_m$  dan  $V_m$ , maka model hambatan yang terjadi adalah un-kompetitif. Model hambatan ini jarang terjadi pada reaksi enzimatik substrat tunggal, biasanya sering terjadi pada reaksi enzimatik multisubstrat. Contohnya S-adenosilmetionin sebagai inhibitor un-kompetitif pada katalisis ATP oleh enzim S-adenosilmetionin sintase (Price and Dwek, 1979).

Inhibitor kompetitif, umumnya memiliki struktur yang serupa dengan substrat. Sebagai contoh adalah allopurinol, yang strukturnya hampir sama dengan xantin atau substrat asli. Allopurinol dapat berikatan dengan enzim xantin oksidase pada sisi aktifnya membentuk ikatan yang terdiri dari kombinasi ikatan kovalen, elektrostatik, dan ikatan hidrogen. Allopurinol memiliki afinitas puluhan kali lebih kuat terhadap enzim xantin oksidase dibandingkan xantin. Oleh karena itu, apabila dalam lingkungan terdapat inhibitor ini bersama-sama dengan substrat (xantin), maka allopurinol yang akan lebih bereaksi dengan xantin oksidase membentuk produk (oksipurinol) dibandingkan dengan substratnya sendiri, sehingga efek penghambatan pembentukan asam urat dapat berlangsung terus selama masih terdapat allopurinol dalam lingkungan (Voet dan Voet, 2001).

Pada jenis inhibisi unkompetitif, inhibitor terikat pada sisi allosterik enzim setelah terbentuk kompleks enzim-substrat. Pada jenis inhibisi ini, inhibitor tidak dapat

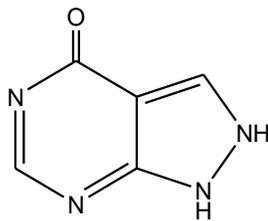
langsung berikatan dengan enzim dalam keadaan bebas, namun hanya dapat terikat jika telah terbentuk kompleks enzim-substrat. Dalam bentuk kompleks enzim-substrat, enzim akan kehilangan sifat katalisatornya (inaktif) dan produk tidak akan terbentuk. Produk hanya akan terbentuk, jika inhibitor terlepas dari kompleks enzim-substrat. Umumnya, inhibisi unkompetitif terjadi akibat adanya akumulasi produk dari reaksi enzim itu sendiri dan sangat jarang dijumpai pada reaksi enzim yang melibatkan hanya satu substrat dan satu produk. Pola kinetika yang terbentuk akibat adanya inhibitor pada jenis inhibisi unkompetitif ini adalah terjadinya penurunan nilai  $K_m$  dan  $V_{maks}$  dari keadaan normalnya (Yulian, 2014).

Adapun pada jenis inhibisi nonkompetitif, antara substrat dan inhibitor tidak terjadi kompetisi dalam memperebutkan sisi aktif enzim. Inhibitor dan substrat tidak memiliki kemiripan struktur. Inhibitor berikatan dengan enzim pada lokasi diluar sisi aktifnya. Efek penghambatan akan terjadi karena inhibitor berikatan dengan sisi allosterik enzim, dan akan mengubah bentuk sisi aktif enzim. Akibat dari jenis inhibisi ini adalah terjadinya penurunan  $V_{maks}$  tanpa mengubah nilai  $K_m$ -nya (Yulian, 2014).

Zat yang mampu menghambat xantin oksidase disebut inhibitor xantin oksidase. Penghambatan xantin oksidase pada manusia dilakukan dengan cara mengkonsumsi obat yang mampu menghambat xantin oksidase atau dengan cara mereduksi produksi asam urat. Inhibitor xantin oksidase terdiri dari dua macam, analog purin dan bentuk yang lain. Analog purin termasuk allopurinol, oxypurinol dan tisopurin. Sedangkan febuxostat dan inositol termasuk bentuk yang lain (Dewi, 2012).

Salah satu inhibitor xantin oksidase adalah allopurinol (Gambar 5). Allopurinol merupakan obat yang secara klinis digunakan untuk pengobatan *gout*. Saat ini,

allopurinol merupakan obat sintesis yang digunakan kebanyakan masyarakat dalam menghambat sintesis asam urat (Riches, 2009). Allopurinol bekerja dengan cara menghambat xantin oksidase dan enzim yang menukar hipoxantin menjadi xantin, dan xantin menjadi asam urat. Kemudian, obat tersebut akan menurunkan konsentrasi darah pada asam urat (Doha, 2008).



**Gambar 5.** Struktur Allopurinol (Dewi, 2012)

## **2.4 Tanaman Binahong**

### **2.4.1 Klasifikasi dan Karakteristik Fisik Tanaman Binahong**

Binahong merupakan tumbuhan menjalar yang berumur panjang (perennial) dan panjangnya bisa mencapai kurang lebih 5 m. Tanaman ini tumbuh baik di cuaca tropis dan sub-tropis. Binahong dengan nama latin *Anredera cordifolia*, adalah sebutan atau penaman tanaman yang agak aneh didengar. Tanaman ini family *Basellaceae*, di Indonesia secara umum dikenal dengan nama Binahong, sedangkan dalam bahasa Inggris di sebut *Heartleaf Madeiravine* atau *Madeira Vine* dan di negeri Cina di sebut *Deng San Chi* atau *Teng San Chi* (Narulita, 2017).

Binahong (*Anredera cordifolia*) adalah tanaman obat potensial yang dapat mengatasi berbagai jenis penyakit. Tumbuhan ini berasal dari Amerika Selatan dan sudah dikenal sebagai tanaman obat di negara asalnya semenjak ratusan tahun yang

lalu. Menurut Anwar dan Soleha., (2016) taksonomi binahong diklasifikasikan sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Sub kingdom	: Tracheobionta
Superdivisio	: Spermatophyta
Divisio	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Subkelas	: Hamamelidae
Ordo	: Caryophyllales
Familia	: Basellaceae
Genus	: <i>Anredera</i>
Species	: <i>Anredera cordifolia</i> (Tenore) Steenis

Binahong baru-baru saja dijadikan obat alternatif untuk berbagai macam penyakit di Indonesia, baik penyakit ringan maupun penyakit yang berat. Di negara Cina tanaman binahong juga dikenal dengan nama Dheng San Chi. Umumnya masyarakat di Cina juga sudah mengenal tanaman binahong sebagai tanaman yang dapat menyembuhkan berbagai macam penyakit semenjak ratusan tahun yang lalu. Daun Binahong (*Anredera cordifolia*) merupakan salah satu tanaman yang terdapat di Indonesia yang pemanfaatannya belum digali secara maksimal. Daun binahong (Gambar 6) diketahui dapat digunakan sebagai obat berbagai penyakit karena senyawa fitokimia yang ada di dalamnya (Narulita, 2017).



**Gambar 6. Tanaman Binahong**

Tanaman binahong memiliki batang yang lunak, silindris, saling membelit, berwarna merah, dan permukaannya halus. Pada ketiak daun membentuk semacam umbi yang merupakan ciri dari tumbuhan ini. Daunnya berjenis tunggal, bertangkai sangat pendek, tersusun berseling, berwarna hijau, berbentuk jantung (cordata), dengan Panjang 5-10 cm. Helaian daun tipis lemas, ujung runcing, pangkal berlekuk, tepi rata, dan permukaan licin mengkilap. Bunganya majemuk berbentuk tandan, bertangkai Panjang, muncul di ketiak daun, mahkota berwarna krem keputih-putihan berjumlah lima helai tidak berlekatan, Panjang helai mahkota 0,5-1 cm, dan berbau harum. Akarnya berbentuk rimpang dan berdaging lunak. Tanaman ini mudah dipelihara dan tumbuh baik di daerah beriklim tropis maupun subtropis (Papyrus, 2014).

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

Komponen tanaman binahong terdiri dari alkaloid, polifenol, flavonoid dan mono polisakarida termasuk L-arabinosa, D-galaktosa, L-ramnosa, D-glikosa yang merupakan komponen paling umum dari rantai yang terpasang. Tanaman ini juga mempunyai komponen flavonoid paling tinggi pada daun, batang, umbi dan bunga (Laksmiawati dan Simbolon, 2017). Flavonoid memiliki peran langsung sebagai

fungsi antibiotik yang berspektrum luas. Daun binahong memiliki aktivitas antioksidan, asam askorbat, dan senyawa fenolik yang memiliki kemampuan melawan bakteri gram positif dan gram negatif yang lebih rentan terhadap efek penghambatan sebagai salah satu terapi nonfarmakologis *Acne vulgaris* (Anwar dan Soleha, 2016).

Tanaman binahong dipercaya memiliki khasiat antioksidan, antimikroba dan antiinflamasi, maka dapat menyembuhkan berbagai penyakit antara lain: untuk mempercepat penyembuhan luka, memperlancar peredaran darah, mengembalikan vitalitas dan daya tahan tubuh, mencegah stroke, ambeien, rematik, diabetes, kanker, menormalkan tekanan darah, kolesterol, dan asam urat, serta menyembuhkan pusing, sakit perut, maag, pegal-linu, gatal, sariawan dan jerawat (Papyrus, 2014).

## **2.5 Tanaman Sambiloto**

### **2.5.1 Klasifikasi dan Karakteristik Fisik Tanaman Sambiloto**

Berikut ini adalah klasifikasi dari tanaman sambiloto menurut Ratnani, dkk., (2012) adalah sebagai berikut :

Divisi	: Spermatophyta
Sub Divisi	: Angiospermae
Classis	: Dicotyledoneae
Ordo	: Solanaceae
Familia	: Acanthaceae
Genus	: <i>Andrographis</i>
Species	: <i>Andrographis paniculata</i> Ness.

Sambiloto (*Andrographis paniculate* Ness.) dikenal sebagai “*King of Bitters*”. Tumbuhan Sambiloto bukanlah tumbuhan asli Indonesia, tetapi berasal dari India dan Cina. Sambiloto termasuk dalam jenis tumbuhan family *Acanthaceae* yang telah digunakan selama beberapa abad di Asia dalam sistem pengobatan. Dalam buku resmi tanaman obat Indonesia, herba sambiloto digunakan sebagai diuretika dan antipiretika. Secara alami, sambiloto mampu tumbuh mulai dari dataran pantai sampai dataran tinggi dengan kondisi jenis tanah dan iklim beragam (Ratnani, dkk., 2012). Menurut data spesimen yang ada di Herbarium Bogoriense di Bogor, sambiloto sudah ada di Indonesia sejak 1893. Tumbuhan ini kemudian menyebar ke daerah tropis Asia hingga sampai di Indonesia. Di beberapa daerah di Indonesia, tumbuhan sambiloto dikenal dengan berbagai nama, yaitu : ampadu tanah (Minang); pepaitan (Melayu); bidara, sambiroto, sandiloto, sadilata, takilo, paitan, sambiloto (Jawa); ki oray, takila, ki peurat (Sunda); samiroto (Bali) (Widyawati, 2007).

Sambiloto (Gambar 7) dikenal secara luas baik di kalangan pengguna tanaman obat, pembuat jamu, pengobat tradisional dan peneliti tanaman obat. Tanaman ini terdapat di seluruh Indonesia. Hal ini terbukti dengan adanya nama daerah yang berbeda-beda, seperti Sambilata (Melayu), Ampadu Tanah (Sumatra Barat), Ki Oray (Jawa Barat), Sambiloto (Jawa Tengah), dan Papaitan (Madura). Ditemukan bahan kimia andrographolide (beserta beberapa analognya), paniculide, farnesol, protein arabinogalactan, flavonoid, saponin, alkaloid, phenol, dan tannin dari ekstrak daun sambiloto (Patin, dkk., 2018). Beberapa senyawa flavonoid dan alkaloid dapat menghambat kerja enzim Xanthine Oxidase sehingga dapat menghambat pembentukan asam urat dalam tubuh (Cos, dkk., 1998).



**Gambar 7. Tanaman Sambiloto**

Tumbuhan berhabitus terna semusim, tumbuh tegak, tinggi dapat mencapai 90 cm, batang berbentuk segi empat dengan rusuk yang jelas, menebal di bagian buku-buku batang. Helaian daun merupakan daun tunggal, terletak bersilang berhadapan, helaian daun bentuk lanset, ukuran panjang 3-12 cm, lebar 1 -3 cm, panjang tangkai daun 0,2-0,5 cm, pangkal dan ujung helaian daun runcing, tepi daun rata, permukaan atas hijau tua, bagian bawah hijau muda. Perbungaan berupa bunga majemuk malai rata, di bagian ujung batang atau di bagian ketiak daun di bagian atas. Kelopak bunga berlekatan terbagi menjadi 5 helai. Daun mahkota 5, berlekatan membentuk tabung mahkota bunga, panjang tabung 6 mm, panjang helaian daun mahkota lebih dari panjang tabung mahkota, 2 helai daun mahkota di bagian atas (bibir atas) berwarna putih dengan garis kuning di bagian ujungnya, panjang helaian 7-8 mm, bibir bawah terdiri atas 3 helaian daun mahkota, putih atau putih disertai warna ungu. Tangkai sari 5, ukuran tangkai sari sepanjang mahkota bunga, tangkai sari melebar di bagian pangkal. Tangkai putik panjang, melebihi panjang mahkota bunga. Buah berbentuk

kapsul, berkatup dan berisi 3-7 biji berwarna coklat tua. Berbunga sepanjang tahun, semua bagian tanaman terutama daun sangat pahit (Zahrina, 2015).

### **2.5.2 Kandungan Kimia dan Manfaat Tanaman Sambiloto**

*Andrographis paniculata* mengandung diterpene, laktone, dan flavanoid. Flavanoid terutama ditemukan diakar tanaman, tetapi juga ditemukan pada bagian daun. Bagian batang dan daun mengandung alkana, ketone dan aldehyd. Meskipun di awal diduga bahwa senyawa yang menimbulkan rasa pahit adalah senyawa lakton andrographolide, lebih lanjut diketahui bahwa daun sambiloto mengandung dua senyawa yang menimbulkan rasa pahit yakni andrographolide dan senyawa yang disebut dengan kalmeghin. Empat senyawa lakton yang ditemukan dalam daun sambiloto (Akbar, 2011) adalah:

1. Deoxyandrographolide
2. Andrographolide
3. Neoandrographolide
4. 14-deoxy-11, 12-didehydroandrographolide

Sambiloto secara farmakologis mempunyai sifat antara lain antiradang, analgesik, antiinflamasi, antibakteri, antimalaria, hepatoprotektif, penawar racun, menstimulasi sistem imun, menghambat sel tumor, serta untuk pengobatan antara lain pengobatan untuk penyakit hepatitis, radang paru, TBC paru, diare, kencing nanah, dan tipus abdominalis (Jarukamjorn, 2008).

Beberapa penelitian tentang sambiloto sebagai antibakteri pernah dilakukan. Hasil penelitian Retnowati, dkk (2011), menyebutkan bahwa infus daun sambiloto

dapat memberikan efek penghambatan pertumbuhan pada bakteri *Staphylococcus aureus*. Selain itu, hasil penelitian Sawitti, dkk (2013), menyebutkan bahwa perasan daun sambiloto secara signifikan mampu menghambat pertumbuhan bakteri *E. Coli*. Namun, belum ada penelitian tentang pemanfaatan ekstrak daun sambiloto terhadap daya bunuh bakteri *Leptospira* sp. yang digunakan sebagai desinfektan alami.

Beberapa hasil penelitian tentang inhibisi xantin oksidase terhadap ekstrak tanaman telah banyak dilakukan, misalnya penelitian yang dilakukan oleh Fauzi (2019) tentang inhibisi xantin oksidase ekstrak metanol kulit dan biji melinjo menunjukkan hasil ekstrak yang mampu menghambat aktivitas XO sebesar 63,53% pada kadar 100 ppm. Setiawan dan Nurjanah (2018) menyebutkan bahwa ekstrak daun salam dapat menghambat enzim XO pada konsentrasi 5 ppm dengan % inhibisi sebesar 100%. Hasil penelitian yang dilakukan oleh Sari (2018) menunjukkan bahwa ekstrak pekat etanol mampu menghambat xantin oksidase sebesar 92,06% dan ekstrak pekat fraksi etil asetat mampu menghambat xantin oksidase sebesar 88,89%.