PEMANFAATAN FRAKSI ETANOL DAUN JARUM TUJUH BILAH (*Pereskia bleo* (Kunth) D.C) SEBAGAI INHIBITOR XANTIN OKSIDASE DALAM PEMBENTUKAN ASAM URAT

UTILIZATION OF ETHANOL FRACTION OF JARUM TUJUH BILAH LEAVES (*Pereskia bleo* (Kunth) D.C) AS XANTHINE OXIDASE INHIBITOR IN THE FORMATION OF URID ACID

Ade Putri Hawiyah Sarwawan*, Saibun Sitorus, Rahmat Gunawan
Program Studi S1 Kimia, Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Mulawarman
Jalan Barong Tongkok No. 4 Kampus Gunung Kelua, Samarinda, 75123
*E-mail: adeputrihs@gmail.com

Received: 07 January 2019, Accepted: 20 March 2019

ABSTRACT

This research was conducted to determine the content of secondary metabolite contained in the extract and ethanol fraction of "Jarum tujuh bilah" leaves (*Pereskia bleo* (Kunth) DC) and and inhibition of xanthine oxidase activity obtained from the isolation of cow's milk. The xanthine oxidase activity is measured at a wavelength of 290 nm. The results of this research indicate that in the ethanol extract and fraction of "jarum tujuh bilah" leaves have the secondary flavonoids, alkaloids and phenolic compounds. The highest inhibition of xanthine oxidase activity in the ethanol extract of "jarum tujuh bilah" leaves was 91.67%, while the inhibition of allopurinol was 50% and the ethanol fraction of "jarum tujuh bilah" leaves was seven blades by 90%.

Keywords: *Inhibition, Urid acid, Xanthine Oxidase*

PENDAHULUAN

Jumlah kasus hiperurisemia di Indonesia diperkirakan antara 2,3-17,6% sedangkan prevalensi kasus *gout* bervariasi antara 1,6-13,6% per seribu penduduk. Hiperurisemia merupakan keadaan yang terjadi meningkatnya kadar asam urat diatas normal. Konsentrasi asam urat yang normal adalah 7,0 mg/dL untuk pria dan 6,0 mg/dL untuk wanita [1]. Dalam mengurangi rasa sakit dari asam urat, sebagian besar masyarakat Indonesia menggunakan obat sintetik yaitu itu allopurinol. Namun mengkonsumsi allopurinol terlalu sering dapat menyebabkan efek samping yaitu hepatitis, gangguan pencernaan, timbulnya ruam di kulit, berkurangnya jumlah sel darah putih dan kerusakan hati [2].

Obat tradisional mulai berkembang pemanfaatannya dan secara luas diterima hampir di seluruh negara di dunia. Obat tradisional yang hampir sering digunakan oleh sebagian besar masyarakat adalah obat yang dianggap mampu menghilangkan rasa nyeri. Berdasarkan beberapa penelitian yang telah dilakukan banyak tanaman yang mampu menghilangkan rasa nyeri, salah satu tanaman yang mampu menghilangkan rasa nyeri atau berkhasiat sebagai analgesik adalah Jarum Tujuh Bilah (*Pereskia bleo* (Kunth) D.C). Daun dari tanaman Jarum Tujuh Bilah (*Pereskia bleo* (Kunth) D.C) secara empiris berkhasiat sebagai obat analgesik [3].

Penelitian ini dilakukan bertujuan untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder yang terdapat dalam ekstrak dan fraksi etanol daunjarum tujuh bilah (*Pereskia bleo* Kunth *DC*.) yang mempengaruhi penghambatan aktivitas xantin oksidase sehingga dapat berperan sebagaimana kerja obat sintetik. Tujuan lainnya mengetahui daya inhibisi aktivitas *xantin oksidase* yang diperoleh dari ekstrak etanol dan fraksi etanol daun jarum tujuh bilah. Dalam penelitian ini dapat menunjukkan beberapa metabolit sekunder yang berpengaruh pada penghambatan xantin oksidase.

METODOLOGI PENELITIAN

Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah tabung reaksi, rak tabung, corong kaca, gelas ukur, pipet tetes, neraca analitik, serangkaian alat *rotary evaporator*, bejana maserasi, spatula, labu ukur, blender, beaker glass, penangas air,

spektrometer UV, sentrifugasi, hot plate, *magnetic stirer* dan lain-lain.

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun jarum tujuh bilah (*Pereskia bleo* (Kunth) DC), akuades, etanol 96%, serbuk Mg, HCl pekat, pereaksi *Dragendroff*, pereaksi *Liebermann Buchard*, larutan $FeCl_3$ 1%, telur udang *Artemia salina* L, air laut, larutan buffer fosfat, larutan subsrat xantin, larutan buffer kalium fosfat, susu sapi segar, ammonium sulfat dan allupurinol, larutan $BaCl_2$, larutan HCl 0,1 M dan bahan-bahan lain.

Prosedur Penelitian

Persiapan penelitian

Daun tumbuhan jarum tujuh bilah (*Pereskia bleo* (Kunth) DC) yang akan digunakan untuk penelitian diambil beberapa daun yang berada 2 atau 3 helai dari pucuk tanaman. Daun yang telah diperoleh tersebut dikeringkan pada suhu ruangan tanpa terpapar sinar matahari langsung. Setelah beberapa hari proses pengeringan daun dihaluskan dengan menggunakan alat penghalus.

Ekstraksi

Sampel daun jarum tujuh bilah (*Pereskia bleo* (Kunth) DC) yang telah dihaluskan tersebut ditimbang kemudian dimasukkan ke dalam bejana maserasi. Sampel dimaserasi menggunakan etanol 96%. Pelarut dimasukkan ke dalam bejana maserasi hingga sampel terendam pelarut. Ekstraksi dilakukan dalam kondisi suhu ruang. Setelah didiamkan beberapa hari filtrat disaring menggunakan kertas saring untuk memisahkan ekstrak yang diperoleh dari residu tumbuhan daun jarum tujuh bilah (*Pereskia bleo* (Kunth) DC). Hasil ekstraksi dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak yang kental. Pelarut kemudian dimasukkan kembali ke dalam bejana maserasi untuk proses maserasi selanjutnya. Ekstraksi dilakukan secara berulang hingga diperoleh warna pelarut memudar.

Fraksinasi

Fraksinasi esktrak kasar etanol dilakukan dengan menggunakan n-heksana (1:1) sehingga diperoleh dua fraksi. Fraksi etanol akan berada di bawah dan fraksi n-heksana berada diatas. Kemudian fraksi etanol tersebut dipekatkan dengan *rotary evaporator* dan disebut sebagai ekstrak fraksi etanol.

Uji fitokimia

Flavonoid

Ekstrak daun jarum tujuh bilah (*Pereskia bleo* (Kunth) DC) sebanyak 0,1 g ditambahkan 2 mg sebuk Mg dan 3 tetes HCl pekat. Uji positif ditunjukkan oleh terbentuknya warna merah, kuning atau jingga.

Alkaloid (Dragendroff)

Ekstrak etanol dan fraksi tumbuhan daun jarum tujuh bilah (*Pereskia bleo* (Kunth) DC) ditotolkan di kromatografi kertas. Selanjutnya disemprotkan dengan pereaksi *Dragendroff* (campuran $Bi(NO_3).5H_2O$ dalam asam nitrat dan larutan KI. Adanya alkanoid ditunjukkan dengan timbulnya bercak coklat jingga berlatar kuning [4].

Saponin

Ekstrak tumbuhan daun jarum tujuh bilah (*Pereskia bleo* (Kunth) DC) ditambah air panas dikocok kuat, jika timbul busa ditambahkan 1 tetes HCl pekat. Ekstrak positif menagndung saponin jika timbul busa dengan ketinggian 1-3 cm yang bertahan selama 15 menit.

Fenolik

Ekstrak tumbuhan daun jarum tujuh bilah (*Pereskia bleo*) ditambahkan larutan besi (III) klorida ($FeCl_3$) 1% beberapa tetes, ekstrak positif mengandung fenolik apabila menghasilkan warna hijau, merah, ungu, biru atau hitam [4].

Uji inhibisi aktivitas xantin oksidase

Isolasi xantin oksidase dari susu sapi segar

Susu sapi segar sebanyak 250 mL dipanaskan hingga suhu 30^{o}C. Setelah itu susu sapi ditambahkan 80 gr NaCl dan disentrifugasi pada kecepatan 3000 rpm selama 30 menit. Terbentuk dua fase yaitu residu dan supernatan, supernatan difraksinasi amonium sulfat 0-40% pada suhu 4^{o}C, kemudian disentrifugasi kembali pada kecepatan 8000 rpm pada suhu 4^{o}C selama 20 menit. Hasil sentrifuge ini supernatan dan residu yang didapatkan digunakan sebagai sampel xantin oksidase. Fraksi residu didialisis dengan dilarutkan dalam buffer fosfat 0,05 M pH 7,5 hingga 250 mL dan diaduk menggunakan *stirrer* pada suhu ± 4^{o}C selama beberapa jam. Buffer perendam diganti secara berulang sampai semua garam terpisah. Dialisis dihentikan apabila semua garam amonium sulfat telah keluar dari membran dengan mengujinya menggunakan larutan $BaCl_2$ dan HCl yang ditambahkan ke dalam larutan buffer hingga tidak membentuk endapan putih. Kemudian dilanjutkan uji aktivitas enzim yang diperoleh.

Uji aktivitas enzim

Substrat xantin 0,15 mM sebanyak 2 mL ditambahkan 3 mL buffer fosfat 0,05 M pH 7,5 untuk menguji aktivitas xantin oksidase. Campuran diukur

serapannya dengan panjang gelombang 290 nm. Kemudian ditambahkan 0,2 mL xantin oksidase hasil isolasi diinkubasi pada suhu ruang 25^{o}C dan diukur serapannya 290 setiap 10 menit selama 40 menit. Larutan buffer dan xantin digunakan sebagai blanko. Aktivitas enzim diperoleh dari persamaan linier kurva waktu terhadap konsentrasi xantin oksidase.

Inhibisi xantin oksidase ekstrak dan fraksi etanol daun jarum tujuh bilah

Ekstrak etanol diencerkan hingga konsentrasi 100 ppm dalam buffer fosfat 0,05 M pH 7,5. Sebanyak 0,2 mL ekstrak dan larutan buffer fosfat 0,05 M pH 7,5 sebanyak 3 mL kemudian ditambahkan 2 mL xantin 0,15 mM dan 0,2 mL enzim. Campuran tersebut dihomogenkan dan diinkubasi pada suhu kamar 25^{o}C serta diukur serapannya berdasarkan panjang gelombang 290 nm yang diperoleh setiap 10 menit selama 40 menit. Perhitungan daya inhibisi diperoleh dari persamaan linier kurva waktu terhadap konsentrasi xantin oksidase. Diulang untuk menghitung inhibisi fraksi etanol daun jarum tujuh bilah.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi dan Fraksinasi

Dalam penelitian ini daun diambil dari batangnya. Dalam pengambilan daun ini, daun-daun dipilih 2-3 helai daun dari pucuk bunga. Untuk tahap pengeringan, daun jarum tujuh bilah (*Pereskia bleo*) dikeringkan dalam ruangan tanpa terpapar sinar matahari langsung dengan kondisi suhu ruang. Pengeringan dilakukan untuk menghambat pertumbuhan jamur atau bakteri yang dapat menyebabkan simplisia membusuk. Sampel yang diperoleh dihaluskan sebanyak 230 gram. Dari beberapa metode ekstraksi dalam penelitian ini digunakan metode maserasi untuk menarik suatu zat dalam daun jarum tujuh bilah. Metode maserasi dipilih karena maserasi memiliki cara pengerjaan dan peralatan yang sederhana. Pelarut yang digunakan etanol 96% sebagai pelarut karena sifatnya yang semi polar, sehingga senyawa metabolit sekunder yang bersifat semi polar maupun polar dapat terekstraksi. Filtrat yang diperoleh dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator*. Ekstrak pekat etanol diperoleh sebanyak 46,39 gram dengan rendemen ekstrak sebesar 20,17%.

Ekstrak pekat etanol yang telah diperoleh difraksinasi dengan menggunakan n-heksan dan etanol. Pengulangan dilakukan hingga 7 kali hingga 2 fase larutan dalam corong pisah terlihat jelas perbedaannya. Fase atas yang merupakan fraksi n-heksana menjadi lebih bening dan fase bawah merupakan fraksi etanol berwarna lebih hijau kegelapan. Hasil fraksi etanol diperoleh sebanyak 27,84 gram.

Uji Fitokimia

Uji fitokimia dilakukan untuk memastikan senyawa fitokimia yang berpotensi memiliki peran sebagai penghambat *xantin oksidase*. Uji fitokimia yang diuji dalam penelitian ini adalah senyawa alkaloid, flavonoid, fenolik dan saponin. Uji fitokimia ini dilakukan untuk mengetahui metabolit sekunder apa saja yang terkandung dalam ekstrak etanol dan fraksi etanol daun jarum tujuh bilah (*Pereskia bleo*). Dalam penelitian ini, keberadaan senyawa metabolit sekunder pada ekstrak etanol dan fraksi etanol daun jarum tujuh bilah memiliki potensi sebagai penghambat *xantin oksidase*. Flavonoid merupakan senyawa yang memiliki kemiripan struktur dengan xantin. Inhibitor yang memiliki mekanisme penghambatan kompetitif adalah senyawa yang memiliki struktur menyerupai struktur substrat [5]. Selain golongan senyawa flavonoid, alkaloid, fenolik dan saponin juga mampu menghambat kerja xantin oksidase [6].

Tabel 1. Hasil uji fitokimia

Uji Fitokimia	Hasil Uji	
	Ekstrak Etanol	Fraksi Etanol
Alkaloid	++	++
Flavonoid	++	+
Fenolik	+++	+++
Saponin	-	-

Isolasi *Xantin Oksidase* dari Susu Sapi

Xantin oksidase dapat diisolasi dari berbagai macam sumber seperti susu, mikroorganisme dan *buttermilk.* Penelitian ini digunakan susu sapi sebagai sumber utama *xantin oksidase* untuk analisis *in vitro* dalam pembentukan asam urat. Perlakuan dilanjutkan dengan fraksinasi ammonium sulfat 0-40%. Penambahan senyawa elektrolit ke dalam larutan enzim ini akan menyebabkan menurunnya kelarutan enzim, sehingga terbentuknya endapan dari protein enzim. Supernatan yang diperoleh disentrifugasi kembali dengan penambahan $(NH_4)_2SO_4$ 0 - 40%, penambahan $(NH_4)_2SO_4$ hingga 40%, karena menurut Corran *et all* (1998) *xantin oksidase* akan mengendap pada kejenuhan $(NH_4)_2SO_4$ 35% atau 45%, sehingga dilakukan pada 40% karena enzim yang diharapkan akan berada pada endapan [7]. Menurut Sri Wulandari (2012) bahwa pada fraksinasi ammonium

sulfat 0-40% digunakan selain terbentuknya enzim pada endapan, fraksinasi ini pula untuk menjaga kestabilan enzim yang terdapat dalam sampel [8]. Dialisis dilakukan sebagai pemurnian enzim dengan melarutkan endapan yang mengandung enzim dengan larutan buffer fosfat 0,05 M pH 7,5 hingga mencapai volume 250 mL dengan pengadukan menggunakan *magnetic stirer* pada suhu ± 4°C. Pemurnian enzim dilakukan sebelum uji aktivitas enzim, pemurnian ini bertujuan untuk mengendapkan amonium sulfat, karena keberadaan garam amonium sulfat maupun molekul-molekul lain non-protein dapat mengganggu sisi aktif dari enzim, sehingga dapat mempengaruhi aktivitas enzim. Dialisis dihentikan hingga garam amonium sulfat telah keluar dari membran.

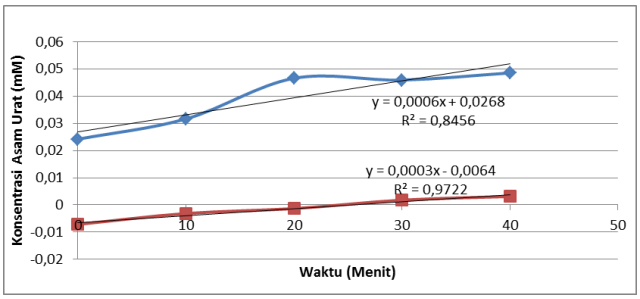
Uji Aktivitas Xantin Oksidase

Uji aktivitas xantin oksidase diukur menggunakan spektorofotometer, absorbansi dikoversi menjadi produksi asam urat yang terbentuk. Hasil isolasi berupa supernatan dan endapan enzim, keduanya diuji aktivitasnya dengan panjang gelombang 290 nm. Perhitungan konsetrasi ditentukan berdasarkan hukum *Lambert-Beer* yang dapat dihitung konsentrasi asam urat dari absorbansi asam urat pada 290 nm. Pada uji aktivitas *xantin oksidase*, absorbansi yang diukur adalah jumlah produksi asam urat yang terbentuk. Hal ini pula yang yang menyebabkan konsentrasi yang terbentuk merupakan nilai konsentrasi asam urat.

Tabel 2. Aktivitas xantin oksidase

Hasil	Aktivitas (U/mL)
Residu	0,0006
Supernatan	0,0003

Data hasil pengukuran aktivitas *xantin oksidase* dari hasil fraksinasi seperti pada tabel 2, berdasarkan data tersebut bahwa aktivitas yang paling tinggi adalah residu. Sedangkan supernatan memiliki aktivitas yang cenderung lebih kecil. Dari kedua aktivitas tersebut dapat diputuskan residu yang digunakan sebagai sampel enzim yang akan dihambat kerjanya dengan ekstrak etanol, fraksi etanol daun jarum tujuh bilah dan dibandingkan dengan allopurinol.



Gambar 1. Grafik aktivitas residu dan supernatan

Inhibisi *Xantin oksidase* secara *in vitro* pada Ekstrak Etanol, Fraksi Etanol Daun Jarum Tujuh Bilah (*Pereskia bleo*) serta Allopurinol

Prinsip dari pengukuran uji inhibisi aktivitas xantin oksidase adalah mengukur jumlah asam urat yang terbentuk pada reaksi yang dikatalisis oleh *xantin oksidase*. Dalam uji inhibisi aktivitas xantin oksidase dilakukan pada ekstrak etanol, fraksi etanol daun jarum tujuh bilah serta allopurinol sebagai pembanding nilai aktivitas yang akan diperoleh. Kemampuan sampel yang diuji sebagai penghambat aktivitas xantin oksidase dapat dilihat dari perubahan nilai aktivitas xantin oksidase dengan penambahan sampel sebagai inhibitor atau tanpa inhibitor. Ada 3 sampel yang diuji sebagai penghambat aktivitas xantin oksidase. Allopurinol yang digunakan dalam penelitian ini bertindak sebagai kontrol positif, karena allopurinol merupakan obat yang biasa dikonsumsi dan berpotensi mampu menghambat xantin oksidase.

Daya inhibisi aktivitas *xantin oksidase* masing-masing sampel memiliki perbedaan, berdasarkan nilai aktivitas sampel pada allopurinol sebesar 50%, sedangkan pada ekstrak etanol lebih besar yaitu 91,67% dan aktivitas pada fraksi etanol adalah 90%.

Tabel 3. Inhibisi xantin oksidase

Sampel	Aktivitas (U/mL)	Daya Inhibisi (%)
Tanpa inhibitor	0,0006	0
Allopurinol	0,0003	50
Ekstrak etanol daun jarum tujuh bilah	0,00005	91,67
Fraksi etanol daun jarum tujuh bilah	0,00006	90

Menurut Noro e*et al*. (1983), ekstrak dikatakan berpotensi sebagai inhibitor xantin oksidase dan bisa dimanfaatkan sebagai obat asam urat bila memiliki daya inhibisi lebih besar dari 50%, serta penghambatan aktivitas xantin oksidase oleh suatu senyawa dikatakan aktif apabila memiliki nilai

penghambatan 50% [9]. Dapat disebutkan bahwa semakin tinggi daya inhibisi ekstrak etanol jarum tujuh bilah, semakin tinggi juga kesetaraannya dengan konsentrasi allopurinol. Sehingga semakin sedikit jumlah ekstrak yang dibutuhkan untuk menghasilkan senyawa yang mampu menginhibisi xantin oksidase.

KESIMPULAN

Dalam penelitian ini dilakukan empat uji fitokimia pada sampel yaitu uji alkaloid, uji flavonoid, uji fenolik dan uji saponin. Hasil yang diperoleh kandungan senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam fraksi etanol daun jarum tujuh bilah (*Pereskia bleo*) adalah senyawa alkaloid, flavonoid dan fenolik. Daya inhibisi yang diperoleh dari allopurinol, ekstrak etanol dan fraksi etanol berbeda-beda, persentase daya inhibisi yang paling besar diperoleh oleh ekstrak etanol sebesar 91,67%, sedangkan allopurinol sebesar 50% dan fraksi etanol memiliki inhibisi sebesar 90%.

DAFTAR PUSTAKA

[1] Putri, N.E dan Mauldina, M.G (n.d). *Uji Penghambatan Xantin Oksidase Secara In Vitro Ekstrak Kulit Rambutan*. Abstrak 12-20.

[2] Dira, D., Fitrianda, E., dan Sari N. 2015. Uji Antihiperurisemia Ekstrak Etanol Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.) dan Buah Asam Gelugur (*Garcinia atroviridis* Griff ex. T. Anders.) secara In Vitro *Scientia-Jurnal Farmasi dan Kesehatan*, 4(2), 66-70.

[3] Sari, N., Ahmad, I., dan Rijai, L. 2006. No Tittle, 40-44

[4] Harbone, J.B. 1987. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Bandung: Penerbit ITB

[5] Murray, R. 2006. Terjemahan oleh dr. Brahm U. Pendit. *Biokimia Harper* Edisi 27.Jakarta: Buku Kedokteran EGC

[6] Azmi, S.M dan Amid, A. 2012. Xanthine oxidase Inhibitory Activity from Potential Malaysian Medicinal Plantas Remedie for Gout. *International Food Research Journal*. 19.1: 159-165

[7] Corran, H.S., Dewan, J.G., Gordon. A.H & Green D.E. 1998. Xanthine Oxidaseand Milk Flavoprotein. *Journal of Biochemical*, 107 (2): 1693-1708

[8] Wulandari, S., Subandi, dan Muntholib. 2010. Inhibisi Xantin Oksidase oleh Ekstrak Etanol Kulit Melinjo (*Gnetum gnemon*) Relatif Terhadap. *Jurnal-Online.um.ac.id*

[9] Noro, T. Oda, Y. 1983. Inhibition of Xanthine oxidase from the Flowers and Buds of Daphne genkwa. *Chem Pharm Bull*. 31: 3984-3987.