



## Aktivitas Penghambatan Enzim Xantin Oksidase Ekstrak dan Fraksi Daun Nipah (*Nypa fruticans*. Wurmb)

Danang Raharjo<sup>1</sup>, Desy Ayu Irma Permatasari<sup>2</sup>, Rusmiati<sup>3</sup>

<sup>1,2,3</sup>Program Studi S1 Farmasi, Universitas Duta Bangsa Surakarta

### Abstract

Received: 27 November 2023

Revised: 08 Desember 2023

Accepted: 15 Desember 2023

Xantin oksidase adalah enzim yang berperan dalam mengkatalisis oksidasi hipoxantin menjadi xantin dan menjadi asam urat. Hiperurisemia adalah peningkatan kadar asam urat diatas batas normal (7,0 mg/dL dan 6,0 mg/dL untuk wanita). *Nypa fruticans* adalah tanaman plantae yang sering dikelompokkan sebagai mangrove/bakau, termasuk famili Araceae. Nipah merupakan tumbuhan sejenis palma yang tumbuh di lingkungan hutan bakau atau daerah pasang surut di daerah mangrove yang payau (brachish). Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas ekstrak etanol dan fraksi daun Nipah (*Nypa fruticans*) dalam menghambat aktivitas enzim xantin oksidase menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis serta dihitung nilai  $IC_{50}$ . Ekstrak dibuat dengan metode maserasi menggunakan etanol 96% sebagai pelarut dan dilanjutkan dengan fraksi. Isolasi enzim dilakukan menggunakan susu sapi yang didapatkan aktivitas enzim sebesar 0,0013 U/mL untuk fraksi residu dan 0,0002 U/mL untuk fraksi supernatan. Hasil uji aktivitas penghambatan enzim xantin oksidase dari allopurinol, ekstrak etanol, fraksi n-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi etanol air dengan nilai  $IC_{50}$  4,705 ppm, 42,365 ppm, 10,245 ppm, 2,152 ppm dan 107,303 ppm. Berdasarkan hasil penelitian maka dapat disimpulkan bahwa hasil isolasi enzim xantin oksidase yang lebih tinggi adalah fraksi residu dan fraksi etil asetat memiliki efektivitas terbesar dalam menghambat enzim xantin oksidase dengan nilai  $IC_{50}$  sebesar 2,152 ppm.

**Keywords:** Enzim, fraksi, Isolasi, *Nypa fruticans*, Xantin Oksidase

(\*) Corresponding Author: [rusmia663@gmail.com](mailto:rusmia663@gmail.com)

**How to Cite:** Raharjo, D., Permatasari, D. A. I., & Rusmiati, R. (2023). Aktivitas Penghambatan Enzim Xantin Oksidase Ekstrak dan Fraksi Daun Nipah (*Nypa fruticans*. Wurmb). <https://doi.org/10.5281/zenodo.10420904>.

## PENDAHULUAN

Hiperurisemia merupakan suatu keadaan peningkatan kadar asam urat di atas normal. Konsentrasi asam urat yang normal adalah 7,0 mg/dL untuk pria dan 6,0 mg/dL untuk wanita. Hiperurisemia dapat terjadi akibat tingginya konsumsi makanan yang mengandung purin, seperti protein hewani dan konsumsi alkohol, bisa juga karena peningkatan produksi asam urat dalam tubuh atau berkurangnya ekskresi asam urat melalui ginjal. Hiperurisemia yang tidak diobati secara berkepanjangan dapat menyebabkan gout. Gout adalah penyakit akibat adanya penumpukan kristal monosodium urat pada suatu jaringan akibat peningkatan kadar asam urat (Nurul *et al.*, 2016).

Enzim yang berperan dalam asam urat adalah xantin oksidase, enzim ini berperan dalam mengkatalisis oksidasi hipoxantin menjadi xantin. Penghambatan xantin oksidase dapat menghalangi biosintesis asam urat yang menjadi salah satu pendekatan terapeutik untuk pengobatan hiperurisemia. Xantin oksidase adalah

enzim yang mereduksi  $O_2$  menjadi  $H_2O_2$  dalam sitosol dan faktor utama dalam cedera iskemia terutama pada sel mukosa usus (Nurul *et al.*, 2016).

Tanaman Nipah (*Nypa fruticans*. Wurmb) merupakan salah satu tanaman bakau berbentuk palem, umumnya tumbuh di lingkungan hutan Sumatera, Kalimantan, Sulawesi, Maluku, dan Papua. Nipah merupakan tumbuhan sejenis palma yang tumbuh di lingkungan hutan bakau atau daerah pasang surut di daerah mangrove yang payau. Tumbuhan Nipah (*Nypa fruticans*. Wurmb) biasa dimanfaatkan sebagai bahan obat tradisional seperti obat sakit perut, diabetes, obat penurun panas dalam, obat sakit gigi, penurun asam urat dan obat sakit kepala (Marcella L *et. al*, 2016).

Menurut Nikmat Sari BR Hutagalung (2021) menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun Nipah dengan dosis 20mg/g BB, 40mg/g BB dan 80 mg/g BB selama 2 hari dan 4 hari dapat meningkatkan presentase penyembuhan tukak dan pH cairan lambung, dosis optimum dalam menurunkan kadar rata-rata tukak lambung mencit (*Mus musculus*) adalah dosis 80 mg/kgBB. Menurut Juliana dan Fitriani (2022) menunjukkan bahwa Sediaan sirup ekstrak daun nipah memiliki aktivitas penurunan kadar asam urat pada tikus putih jantan. Dimana hewan uji yang digunakan adalah 25 ekor tikus putih jantan yang terbagi dalam 5 kelompok dan masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor tikus. Kelompok K1 (kontrol negatif) diberikan sirup tanpa ekstrak daun nipah, kelompok 2 (Kontrol positif) diberikan sirup allupurinol, kelompok 3 (kelompok perlakuan) diberikan sirup ekstrak daun nipah 250 mg/kgBB, kelompok 4 (kelompok perlakuan) diberikan sirup ekstrak daun nipah 500 mg/kgBB, kelompok 5 (kelompok perlakuan) diberikan sirup ekstrak daun nipah 750 mg/kgBB, dengan menggunakan analisa data metode Anova Satu Arah (*One Way Anova*) yang menunjukkan nilai signifikan = 0,002 < 0,05 Hal ini berarti ada pengaruh nyata setiap perlakuan terhadap proses penurunan kadar asam urat pada tikus putih jantan.

Berdasarkan uraian diatas, belum ada penelitian yang menguji aktivitas penghambatan enzim xantin oksidase menggunakan ekstrak daun Nipah (*Nypa fruticans*. Wurmb). Sehingga pada penelitian ini akan dilakukan pengujian aktivitas penghambatan enzim xantin oksidase ekstrak dan fraksi daun Nipah (*Nypa fruticans*. Wurmb).

## **METODE PENELITIAN**

Metode penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah penelitian eksperimental yang bertujuan untuk mengetahui aktivitas ekstrak dan fraksi daun Nipah (*Nypa fruticans*. Wurmb) dalam menghambat aktivitas enzim xantin oksidase menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Tahap penelitian dimulai dari pengambilan sampel, determinasi tumbuhan, pembuatan simplisia, pembuatan ekstrak dan fraksi, skrining fitokimia, pembuatan larutan uji, pengujian aktivitas penghambatan enzim xantin oksidase.

### **Alat dan Bahan**

Pompa vakum, labu ukur (*Pyrex*), corong buchner, rotary evaporator (*Aelab RE 100-pro*), waterbath (*Ctr7 str*), timbangan analitik (*Fujitsu*), chamber, lampu UV, flakon, pipa kapiler, pinset, oven (*Memert*), pipet tetes, sarung tangan (*One med*), masker (*One med*), spektrofotometer UV-Vis (*Hitachi 41*), mirkopipet

(Adjustable), hot plate, sentrifugasi (Gemmy PLC 3) dan alat-alat gelas (Pyrex), moisture balance (Ohaus). Serbuk daun Nipah (*Nypa fruticans*. Wurmb), etanol 96%, kertas saring whatman, aquadest, etil asetat, *n*-heksana, c, silica gel (Merck 60GF<sub>2540,25mm</sub>), silica gel (Silica with gypsum merck 7749), silica imegnasi (Merck keisel gel 60 GF<sub>2540,2-0,5mm</sub>), allopurinol, substrat xantin (Sigma), enzim xantin oksidase (Sigma), susu sapi segar, DMSO, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, NaCl 10%, asam asetat glasial, asam asetat anhidrat, asam sulfat pekat, AlCl<sub>3</sub> 10%, dragendof, mayer, HCl 1 N, kloroform, FeCl<sub>3</sub> 1%, magnesium, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, NaOH 0,2 N, kalium fosfat, amonium sulfat dan dapar fosfat.

### **Determinasi Tumbuhan**

Sampel daun Nipah (*Nypa fruticans*. Wurmb) di ambil dari petani daerah Palembang Provinsi Sumatra Selatan. Determinasi tumbuhan daun Nipah (*Nypa fruticans*. Wurmb) dilakukan di Laboratorium Biologi, Fakultas Sains Terapan Universitas Ahmad Dahlan Yogyakarta.

### **Preparasi Simplisia**

Daun Nipah (*Nypa fruticans*. Wurmb) sebanyak 4 kg dicuci hingga bersih, kemudian dilakukan perajangan dan dikeringkan dengan sinar matahari langsung atau pengeringan dalam oven. Simplisia daun Nipah (*Nypa fruticans*. Wurmb) yang telah kering didapatkan bobot 1 kg. Daun yang telah kering diserbukan dan diayak menggunakan ayakan no 40, setelah itu dilakukan standarisasi simplisia.

### **Pembuatan Ekstrak Etnaol Daun Nipah (*Nypa fruticans*. Wurmb)**

Pembuatan ekstrak etanol 96% daun Nipah (*Nypa fruticans*. Wurmb) dilakukan dengan cara maserasi. Sebanyak 500 g serbuk daun Nipah (*Nypa fruticans*. Wurmb) dimaserasi dengan pelarut etanol 96% sebanyak 3500 mL (1:7). Maserasi dilakukan 3x24 jam dengan pengadukan beberapa kali dan disaring. Residu dari penyaringan maserasi dimaserasi kembali atau remaserasi dengan menggunakan etanol 96% sebanyak 1500 mL selama 2x24 jam dan disaring. Filtrat yang diperoleh dikumpulkan menjadi satu dan dipekatkan dengan rotary evaporator pada suhu 40°C – 60°C dan dikentalkan diatas waterbath sehingga diperoleh ekstrak kental. Kemudian ekstrak kental daun Nipah (*Nypa fruticans*. Wurmb) dihitung % rendemen ekstrak (Rahmawati dkk., 2012).

### **Skrining Fitokimia**

Skrining fitokimia ekstrak daun Nipah (*Nypa fruticans*. Wurmb) pada penelitian ini dilakukan secara kualitatif menggunakan metode uji tabung dan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) diantaranya yaitu flavonoid, alkaloid, fenolik/tanin, steroid/triterpenoid dan saponin.

### **Pembuatan Fraksi Daun Nipah (*Nypa fruticans*. Wurmb)**

Pembuatan fraksi *n*-heksana, etil asetat dan air dilakukan dengan menimbang ekstrak kental etanol daun Nipah (*Nypa fruticans*. Wurmb) sebanyak 10 gram kemudian dilarutkan dalam 75 mL air hangat kemudian dimasukkan dalam corong pisah kemudian difraksinasi dengan *n*-heksana sebanyak 75 mL. kemudian digojog dan didiamkan sampai terbentuk 2 lapisan (lapisan aquadest dibawah dan lapisan *n*-heksana diatas), lalu diambil lapisan *n*-heksana (replikasi 3 kali). Fraksi selanjutnya dilakukan penambahan etil asetat sebanyak 75 mL kedalam lapisan kemudian digojog dan didiamkan sampai terbentuk 2 lapisan (lapisan aquadest dibawah dan lapisan etil asetat diatas). Lalu diambil etil asetat (replikasi 3 kali).

Fraksi etanol air, fraksi etil asetat dan fraksi *n*-heksana selanjutnya dipekatkan dengan *rotary evaporator* dan dikentalkan diatas *water bath* (Abdillah, 2020).

#### **Preparasi Sampel**

Larutan ekstrak, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi etanol air dibuat variasi konsentrasi yang berbeda. Konsentrasi larutan ekstrak 300 ppm, 200 ppm, 100 ppm, 50 ppm, 5 ppm dan konsentrasi larutan fraksi 50 ppm, 25 ppm, 10 ppm, 5 ppm, 1 ppm.

#### **Pengujian Aktivitas Penghambatan Enzim Xantin Oksidase**

##### **Isolasi enzim xantin oksidase susu sapi**

Prosedur isolasi enzim kasantin oksidase dari susu sapi berdasarkan penelitian Corran, H.S and Green, D.E, (1939) dan Sari dkk (2018). Sebanyak 250 mL susu sapi segar dipanaskan hingga mencapai suhu 30°C. Kemudian ditambahkan 81,68 g NaCl dan disentrifugasi pada kecepatan 3000 rpm selama 30 menit. Supernatan yang diperoleh kemudian difraksinasi menggunakan amonium sulfat dengan konsentrasi 0-40 % pada suhu 4°C menggunakan penangas es kemudian disentrifugasi pada kecepatan 8000 rpm suhu 4°C selama 20 menit menggunakan ultra sentrifuge. Supernatan dan residu yang diperoleh digunakan sebagai sampel enzim xantin oksidase. Fraksi residu dilarutkan dalam buffer kalium fosfat 0,05 M pH 7,5 hingga 250 mL (Raharjo dan Haryoto, 2019).

##### **Uji aktivitas enzim xantin oksidase**

Sebanyak 1 mL residu dan supernatan xantin 0,15 mM ditambahkan 1,8 mL buffer kalium fosfat 0,05 M pH 7,5. Campuran tersebut diukur serapannya pada 290 nm hingga konstan. Selanjutnya, ditambahkan 0,2 mL xantin oksidase diinkubasi pada suhu kamar (25°C) dan diukur serapannya pada 290 nm setiap 10 menit, larutan buffer-xantin digunakan sebagai blanko. Konsentrasi asam urat yang dihasilkan dari reaksi enzim xantin oksidase dan substrat xantin dapat ditentukan dengan persamaan Lambert-Beer dengan koefisien ekstingsi molar asam urat pada 290 nm pH 7,5 adalah 12,2 Mm<sup>-1</sup>cm<sup>-1</sup> dan lebar kuvet 1 cm. Sedangkan aktivitas enzim diperoleh dari persamaan regresi linier antara waktu versus konsentrasi asam urat. Aktivitas enzim ditunjukkan oleh nilai *b* pada persamaan garis pada grafik (Raharjo dan Haryoto, 2019).

##### **Penentuan panjang gelombang**

Penentuan panjang gelombang maksimum dilakukan dengan mengukur sebanyak 2,9 mL larutan dapar fosfat pH 7,5 0,05 M selanjutnya ditambahkan 2 mL larutan substrat xantin 0,15 mM, pra inkubasi pada suhu 25°C selama 15 menit, lalu ditambahkan 0,1 mL larutan xantin oksidase dan diinkubasi pada suhu 25°C selama 25 menit lalu segera ditambahkan 1 mL HCl 1 N untuk menghentikan reaksi. Absorbansi diukur menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 250-300 nm (Raharjo dan Haryoto, 2019).

##### **Penentuan operating time**

Penentuan operating time dilakukan dengan menguku Sebanyak 2,9 mL dapar fosfat pH 7,5 0,05 M, kemudian ditambahkan 2 mL larutan substrat xantin 0,15 Mm, selanjutnya dilakukan pra inkubasi pada suhu 25°C selama 15 menit, lalu ditambahkan 0,1 mL larutan xantin oksidase kemudian dibaca absorbansi pada menit ke 0 sampai 40 menit interval 2 menit lalu catat hasil absorbansi dan tentukan nilai absorbansi paling konstan (Raharjo dan Haryoto, 2019).

### **Pengujian larutan blanko**

Sebanyak 3,9 mL larutan dapar fosfat 0,05 M diambil dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan dengan larutan substrat xantin sebanyak 2 mL, prainkubasi selama 15 menit. Kemudian ditambahkan larutan enzim xantin oksidase sebanyak 0,1 mL dan diinkubasi pada suhu 30°C selama 25 menit. Reaksi dihentikan dengan penambahan HCl 1 N sebanyak 1 mL, diukur serapannya pada panjang gelombang maksimal (Raharjo dan Haryoto, 2019).

### **Pengujian kontrol blanko**

Sebanyak 3,9 mL larutan dapar fosfat 0,05 M diambil dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan dengan larutan substrat xantin sebanyak 2 mL, dilakukan prainkubasi selama 15 menit. Kemudian ditambahkan 0,1 mL dapar fosfat dan diinkubasi pada suhu 30°C selama 25 menit dan ditambahkan HCl 1 N sebanyak 1 mL untuk menghentikan reaksi dan diukur serapannya pada panjang gelombang maksimal (Raharjo dan Haryoto, 2019).

### **Pengujian sampel**

Sebanyak 1 mL larutan sampel tambahkan 2,9 mL dapar fosfat pH 7,5 0,05 M, kemudian ditambahkan 2 mL larutan substrat xantin 0,15 mM, selanjutnya dilakukan prainkubasi pada suhu 25°C selama 15 menit, lalu ditambahkan 0,1 mL larutan xantin oksidase dan diinkubasi pada suhu 25°C selama 25 menit lalu segera ditambahkan 1 mL HCl 1 N untuk menghentikan reaksi. Serapan diukur pada panjang gelombang maksimal (Raharjo dan Haryoto, 2019).

### **Pengujian kontrol sampel**

Sebanyak 1 mL larutan sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan dengan larutan dapar fosfat 0,05 M sebanyak 2,9 mL dan larutan substrat xantin sebanyak 2 mL dilakukan prainkubasi selama 15 menit. Kemudian ditambahkan 0,1 mL dapar fosfat dan diinkubasi pada suhu 25°C selama 25 menit dan ditambahkan HCl 1 N sebanyak 1 mL untuk menghentikan reaksi, diukur serapannya pada panjang gelombang maksimal (Raharjo dan Haryoto, 2019).

## **ANALISI DATA**

Aktivitas penghambatan enzim xantin dihitung sebagai persen penghambatan yang kemudian dibuat analisis regresi yang menyatakan hubungan antara konsentrasi larutan uji dengan persen penghambatan. Selanjutnya, dari persamaan regresi linier terselait nilai IC<sub>50</sub> dapat ditentukan, Perhitungan nilai IC<sub>50</sub> (Inhibitory Concentration 50%) menunjukkan besarnya konsentrasi senyawa larutan uji yang mampu menghambat aktivitas enzim  $\alpha$ -amilase sebesar 50%. Semakin kecil nilai IC<sub>50</sub>, maka aktivitas penghambatan senyawa atau ekstrak semakin baik (Shoffiyanti et al., 2019).

Perhitungan nilai IC<sub>50</sub> (*Inhibitory Concentration 50%*) menunjukkan besarnya konsentrasi senyawa larutan uji yang mampu meredam 50%, melalui persamaan regresi linier yang menyatakan hubungan antara konsentrasi larutan uji (x) dengan % inhibisi (y) sehingga didapatkan persamaan regresi linier  $y = bx + a$ . Nilai IC<sub>50</sub> dihitung menggunakan rumus persamaan regresi linier antara konsentrasi versus % penghambatan. Nilai IC<sub>50</sub> didapatkan dari nilai x setelah mengganti y = 50 (Raharjo et al., 2022). Perhitungan nilai IC<sub>50</sub> dapat dapat dihitung dengan rumus sebagai berikut :

$$y = bx + a$$
$$50 = bx + a$$
$$IC_{50} = \frac{50-a}{b}$$

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Determinasi

Determinasi dilakukan untuk mengetahui kebenaran dari sampel daun Nipah (*Nypa fruticans*. Wurmb) yang akan digunakan untuk penelitian demi menghindari kesalahan dalam pengumpulan bahan dan kemungkinan tercampurnya dengan tanaman yang lain. Hasil dari determinasi yang telah dilakukan diperoleh hasil bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah benar Daun Nipah (*Nypa fruticans*. Wurmb).

### Skrining Fitokimia

Berdasarkan hasil skrining fitokimia dapat diketahui bahwa ekstrak etanol daun Nipah (*Nypa fruticans*. Wurmb) mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, fenolik/tanin dan steroid/triterpenoid. Senyawa triterpenoid akan mengalami dehidrasi saat pembentukan asam kuat  $H_2SO_4$  dan juga asam anhidrida asetat yang menyebabkan terbentuknya cincin pada dua perbatasan pelarut. Steroid menunjukkan terbentuknya cincin violet berwarna keunguan dan positif triterpenoid terbentuk warna merah kehijauan.

### Hasil Isolasi Enzim

Prinsip isolasi enzim xantin oksidase dari susu sapi adalah memecahkan sistem emulsi susu sapi kemudian dilanjutkan dengan fraksinasi dan pengendapan. Aktivitas enzim diukur berdasarkan absorbansi dari produk asam urat yang terbentuk dari reaksi antara enzim dan substrat. Hasil isolasi enzim xantin oksidase diperoleh dari fraksinasi amonium silfat yang didapatkan hasil residu dan supernatan. Perhitungan konsentrasi ditentukan berdasarkan hukum Lambert-Beer dapat dihitung konsentrasi asam urat pada  $\lambda$  290 nm dengan rumus berikut :

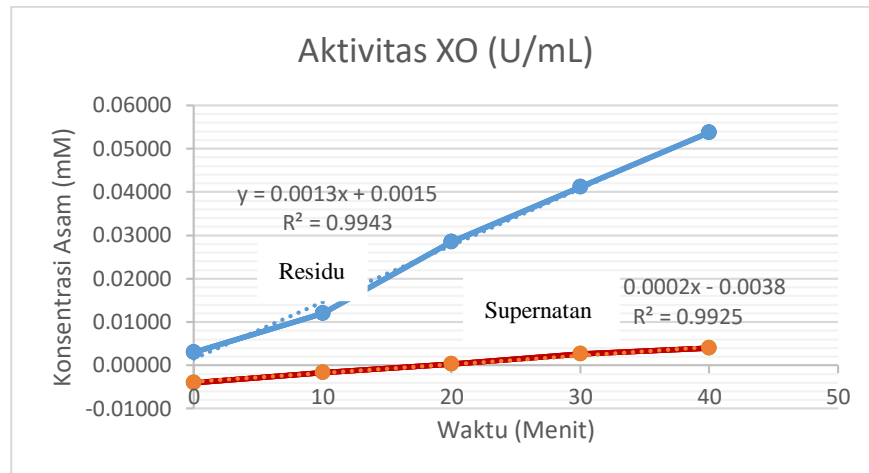
$$A = \epsilon \cdot b \cdot C$$

Keterangan : A : absorbansi asam urat pada  $\lambda$  290 nm  
 $\epsilon$  : koefisien ekstingsi molar asam urat pada  
pH 7,5 dan  $\lambda$  290 nm sebesar  $12,2 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$

b : lebar kuvet 1 cm

c : konsentrasi asam urat (mM)

Aktivitas enzim xantin oksidase yang terisolasi dapat ditentukan dengan persamaan regresi linier waktu vs konsentrasi asam urat. Konsentrasi enzim xantin oksidase ditunjukkan oleh nilai b pada persamaan garis  $y = bx + a$  pada grafik.

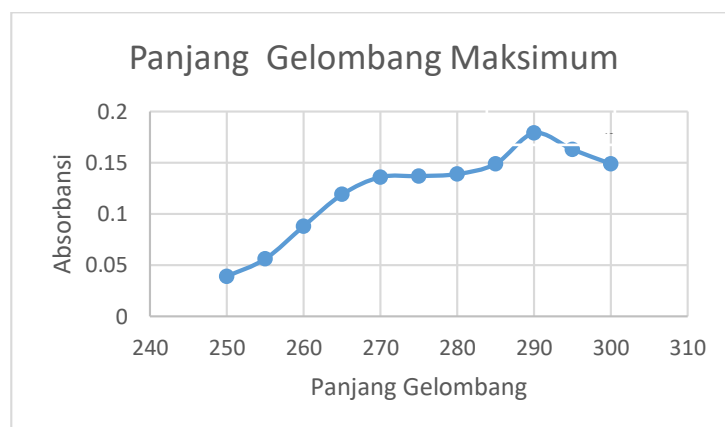


**Gambar 1. Grafik Regresi Linier Pengukuran Aktivitas Enzim Xantin**

Hasil isolasi enzim dari susu sapi diperoleh dari fraksi residu sebesar 0,0013. Fraksi residu lebih tinggi karena telah dilakukan fraksinasi menggunakan amonium sulfat. Semakin tinggi konsentrasi amonium sulfat yang digunakan, maka semakin efektif dalam mengendapkan protein. Semakin banyak protein yang mengendap maka kadar protein semakin tinggi. Semakin tinggi konsentrasi amonium sulfat yang ditambahkan maka, semakin tinggi juga kadar protein totalnya (Fitriana dkk., 2016).

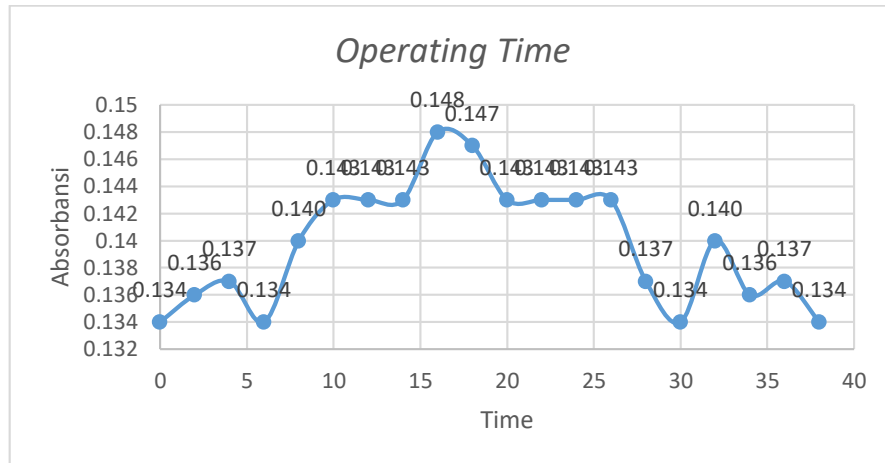
#### Uji Penghambatan Enzim Xantin Oksidase

Uji penghambatan aktivitas enzim xantin oksidase dilakukan oleh blanko, kontrol blanko, sampel, kontrol sampel. Sampel yang digunakan terdiri dari ekstrak etanol, fraksi (fraksi etil asetat, fraksi n-heksana dan fraksi etanol air) serta allopurinol. Penggunaan allopurinol sebagai pembanding karena allopurinol merupakan inhibitor kompetitif terhadap enzim xantin oksidase dalam mengubah xantin menjadi asam urat. Tahapan pengujian dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 250-300 nm dengan jarak interval 5 dan didapatkan panjang gelombang maksimum 290 dengan nilai absorbansi 0,179.



**Gambar 2. Grafik Panjang Geombang Maksimum**

Penentuan *operating time* bertujuan untuk menentukan waktu pengukuran yang stabil yaitu ketika sampel bereaksi antara larutan substrat xantin dengan agen yaitu xantin oksidase (satria dkk.,2022). *Operating time* dilakukan dengan menggunakan larutan dapar fosfat dan substrat xantin. Interval waktu yang digunakan adalah 2 menit selama 0-40 menit. Hasil *operating time* yang telah diperoleh dapat dilihat pada tabel menit yang paling stabil terdapat pada menit ke 20-26.



Gambar 3. Grafik *Operating Time*

Hasil pengujian penghambatan aktivitas enzim xantin oksidase terhadap allopurinol sebagai standar pembandingan menunjukkan bahwa allopurinol memiliki efek penghambatan aktivitas xantin oksidase dengan nilai  $IC_{50}$  4,705 ppm. Hasil pengukuran penghambatan aktivitas enzim xantin oksidase pada sampel daun Nipah (*Nypa fruticans*. Wurmb) menunjukkan hasil sebagai berikut. Ekstrak etanol diperoleh nilai  $IC_{50}$  sebesar 42,365 ppm, fraksi etanol air diperoleh sebesar 10,245 ppm, fraksi etil asetat dieproleh sebesar 2,152 ppm, fraksi *n*-heksana diperoleh sebesar 107,303.

Tabel 1. Tabel 4.14 Hasil Rata-rata Aktivitas Penghambatan Dari Allopurinol, Ekstrak Daun Nipah Dan Fraksi

Sampel	Konsentrasi (ppm)	% Penghambatan	$IC_{50}$ ( $\mu$ /mL)
Allopurinol	0,625	23,057	4,705
	1,25	31,952	
	2,5	38,946	
	5	52,036	
	10	80,743	
Esktrak Etanol	5	42,055	42,365
	50	51,123	
	100	62,003	
	200	72,971	
	300	86,097	

Fraksi Etanol Air	1	33,679	10,245
	5	45,423	
	10	53,972	
	25	67,444	
	50	98,964	
Fraksi Etil Asetat	1	46,287	2,152
	5	52,368	
	10	60,967	
	25	70,121	
	50	95,682	
Fraksi <i>n</i> -heksana	1	20,380	107,303
	5	22,021	
	10	24,266	
	25	27,029	
	50	34,370	

Dari hasil pengukuran tersebut menunjukkan bahwa fraksi etil asetat mempunyai aktivitas penghambatan enzim xantin oksidase tertinggi dengan nilai  $IC_{50}$  sebesar 2,152 ppm. Hal ini dikarenakan senyawa yang terkandung dalam fraksi etil asetat merupakan senyawa yang bersifat polar atau semi polar seperti fenol, tanin dan flavonoid yang bekerja secara sinergi untuk menghambat aktivitas enzim xantin oksidase. Efek penghambatan mengandung sampel senyawa flavonoid. Flavonoid berperan seperti allopurinol yaitu sebagai inhibitor kompetitif yang bekerja dengan cara berkompetisi dengan substrat xantin untuk mengikat sisi aktif enzim (Van Hoorn dkk., 2002).

Enzim ini akan mengoksidasi hipoxantin menjadi xantin dan xantin menjadi asam urat. Sehingga, jika enzim ini dihambat tidak akan terjadi peningkatan kadar asam urat dalam tubuh (Al Fauzi, 2019). Hiperurisemia dapat dikaitkan dengan asam urat, karena deposisi asam urat pada sendi yang menyebabkan peradangan yang menyakitkan. Dengan demikian, penggunaan penghambat XOD yang menghambat sintesis asam urat dalam tubuh harus menjadi salah satu pendekatan terapeutik untuk pengobatan hiperurisemia. Enzim xantin oksidase berperan dalam metabolisme purin yang berasal dari dalam tubuh dan juga dari luar tubuh (makanan dan minuman yang mengandung purin). Metabolisme purin tersebut menghasilkan produk akhir yaitu berupa adenilik acid (AMP: Adenosin Monofosfat), inosinik acid (IMP: Inosini Monofosfat), dan guanilik acid (GMP: Guanosen Monofosfat) (Al Fauzi, 2019).

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan terhadap isolasi enzim dari susu sapi dan uji aktivitas penghambatan enzim xantin oksidase maka dapat disimpulkan bahwa Ekstrak etanol daun Nipah (*Nypa fruticans*. Wurmb) mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, fenolik/tanin dan steroid/triterpenoid. Ekstrak etanol dan fraksi etil asetat, fraksi *n*-heksana dan fraksi etanol air memiliki aktivitas penghambatan enzim xantin oksidase yang dilihat dari persen inhibisi. Nilai  $IC_{50}$  dari ekstrak

etanol daun Nipah (*Nypa fruticans*. Wurmb) dan fraksi etil asetat, fraksi *n*-heksana dan fraksi etanol adalah 42,365 ppm, 2,152 ppm, 107,303 ppm dan 10,245 ppm.

#### REFERENSI

- Abdillah, A. N. (2020). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol, Dan Fraksi Dari Bonggol Pisang Kepok (*Musa Balbisiana Colla.*) Terhadap Bakteri *Pseudomonas Aeruginosa*. 21(1), 1–9. [Http://Journal.Um-Surabaya.Ac.Id/Index.Php/Jkm/Article/View/2203](http://Journal.Um-Surabaya.Ac.Id/Index.Php/Jkm/Article/View/2203)
- Al Fauzi, J. (2019). Uji Aktivitas Inhibisi Xantin Oksidase Ekstrak Metanol Kulit Dan Biji Meliinjoo Secara In-Vitro. *Jurnal Farmasi*, 1–10.
- Fitriana Novita Sari\*, Ana Indrayati, P. R. S. P. F. (2016). Uji Aktivitas Enzim Superoksida Dismutase (Sod) Ekstrak Daun Salam (*Syzygium Polyanthum*) Dengan Metode Water Soluble Tetrazolium Salt-1 (Wst-1) Fitriana. *Jurnal Insan Farmasi Indonesia*, 6(1), 1–23. <https://doi.org/10.36387/jifi.v5i2.1270>
- Raharjo, D. (2022). Efektivitas Penghambatan Enzim Xantin Oksidase Ekstrak Etanol Dan Fraksi Etanol, Fraks Etil Asetat Serta Fraksi *n*-heksana Kulit Batang Mangrove Merah (*Rhizophora Mucronata*). *Jurnal Ilmiah Kesehatan*, 15(1), 63–70. <https://doi.org/10.48144/jiks.v15i1.869>
- Raharjo, D., & Haryoto. (2019). Antioxidant Activity Of Mangrove Sonneratia Caseolaris L Using The FRAP Method. *International Summit On Science Technology And Humanity*, 623–629.
- Rahmawati, N., Bakhtiar, A., & Putra, P. (2012). Isolasi Katekin Dari Gambir (*Uncaria Gambir (Hunter). Roxb*) Untuk Sediaan Farmasi Dan Kosmetik. *Jurnal Penelitian Farmasi Indonesia*, 1(1), 6–10.