

Potensi Fraksi Kayu Secang (*Caesalpinia sappan* L.) terhadap Penghambatan Xantin Oksidase dalam Menurunkan Kadar Asam Urat pada Hiperurisemia

Potential Use of Sappan Wood (*Caesalpinia sappan* L.) Fractions in the Treatment of Hyperuricemia by Inhibition of Xantine Oxidase

Rizky Arcinthy Rachmania, Dwitiyanti Dwitiyanti*, Qisthi Wulandari Iriansyah, Fitri Fergiana Putri

Department of Pharmacy, Faculty of Pharmacy and Science
Universitas Muhammadiyah Prof. Dr. Hamka (UHAMKA)
Islamic Center Jln. Delima II/IV Klender, Jakarta Timur 13460, Indonesia

*Corresponding author email: dwity.farmasi@gmail.com

Received 06-08-2020 Accepted 27-03-2021 Available online 17-09-2021

ABSTRAK

Hiperurisemia adalah kondisi peningkatan kadar asam urat di atas normal sehingga dapat menyebabkan penumpukan kristal asam urat di jaringan. Xantin oksidase merupakan enzim yang berperan dalam mengkatalisis oksidasi hipoxantin menjadi xantin dan asam urat. Kayu secang (*Caesalpinia sappan* L.) secara tradisional digunakan secara empiris untuk menurunkan asam urat. Kayu secang memiliki kandungan antara lain brazilin, alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, dan terpenoid. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menguji aktivitas fraksi n-heksan dan fraksi etil asetat kayu secang terhadap penghambatan enzim xantin oksidase. Pengujian penghambatan dilakukan dengan menggunakan *microplate reader* pada panjang gelombang 570 nm. Hasil inhibisi dari pengujian yang didapatkan pada allopurinol adalah IC₅₀ sebesar 2,2095 µg/ml, sedangkan pada fraksi n-heksan dan etil asetat kayu secang secara berturut-turut didapatkan IC₅₀ sebesar 51.331,32 µg/ml, dan 9.236 µg/ml. Berdasarkan hasil di atas dapat disimpulkan bahwa fraksi etil asetat kayu secang lebih berpotensi menghambat xantin oksidase dalam menurunkan kadar asam urat pada hiperurisemia dibandingkan fraksi n-heksan.

Kata kunci: etil asetat, hiperurisemia, kayu secang, n-heksan, xantin oksidase

ABSTRACT

Hyperuricemia is a condition of increased uric acid level that lead to the accumulation of uric crystals in the tissues. Xanthine oxidase is an enzyme that plays a role in catalyzing

the oxidation of hypoxanthine to xanthine and uric acid. One of plants empirically used to reduce uric acid is sappan wood (Caesalpinia sappan L.). Sappan wood contains, among others, brazilin, alkaloids, flavonoids, saponins, tannins, and terpenoids. The purpose of this study was to evaluate the inhibitory activity of n-hexane and ethyl acetate fractions of sappan wood against the xanthine oxidase. Enzyme inhibitory assay was conducted spectrophotometrically using a microplate reader at a wavelength of 570 nm. The IC₅₀ of allopurinol was of 2.2095 µg/ml, while those of the n-hexane and ethyl acetate fractions of sappan wood were 51,331.32 and 9,236 µg/ml, respectively. Based on the above results, it can be concluded that the ethyl acetate fraction of sappan wood was more potential to inhibit xanthine oxidase than the n-hexane fraction.

Keywords: ethyl acetate, hyperuricemia, n-hexane, sappan wood, xanthine oxidase

Pendahuluan

Hiperurisemia adalah suatu kondisi kadar asam urat dalam darah lebih besar dari nilai normal. Pada laki-laki yang dikatakan hiperurisemia apabila kadar asam uratnya di atas 7 mg/dL dan pada perempuan di atas 6 mg/dL. Hiperurisemia apabila dibiarkan akan memicu terjadinya kerusakan ginjal seperti nefrolitiasis, nefropatiuratur, dan nefropati asam urat (Cendrianti *et al.*, 2013). Keseimbangan produksi dan ekskresi asam urat merupakan kunci kendali asam urat dalam darah. Kelebihan produksi dan kurangnya ekskresi asam urat menyebabkan kadar asam urat dalam darah meningkat (Dipiro *et al.*, 2011). Obat sintetik yang digunakan untuk hiperurisemia adalah allopurinol.

Allopurinol bekerja mengurangi sintesis asam urat dengan cara menghambat aktivitas enzim xantin oksidase. Hipoxantin dan xantin dirombak oleh xantin oksidase menjadi asam urat, tetapi dengan adanya allopurinol xantin oksidase melakukan aktivitasnya terhadap obat ini sebagai

pengganti purin (Kato *et al.*, 2016). Allopurinol merupakan obat yang umum untuk menghambat pembentukan asam urat, tetapi tidak dapat dihindari bahwa obat ini memiliki beberapa efek samping yang merugikan (Goicoechea *et al.*, 2010). Efek samping utama dari allopurinol adalah ruam kulit, urtikaria, leukopenia, sakit kepala, dan berpotensi meningkatkan frekuensi serangan gout akut dengan inisiasi terapi. Oleh karena itu perlu penelitian lebih lanjut untuk menemukan adjuvant allopurinol sebagai inhibitor xantin oksidase (Rustamsyah *et al.*, 2016).

Xantin oksidase merupakan enzim yang berperan dalam mengkatalisis oksidasi hipoxantin menjadi xantin dan menjadi asam urat. Enzim xantin oksidase termasuk kelompok enzim oksido reduktase yang merupakan enzim flavoprotein dan terdapat di dalam susu, beberapa organ dan jaringan. Enzim ini berasal dari tubuh manusia yang disintesis menjadi bentuk dehidrogenase, akan tetapi dapat mudah diubah menjadi bentuk oksidase oleh proses oksidasi residu

sufridil atau oleh enzim proteolisis (Patcher, 2006). Pada penelitian sebelumnya, xantin oksidase dapat dihambat oleh ekstrak kayu secang (*Caesalpinia sappan* L.) (Pertamawati dan Mutia, 2015).

Secang termasuk suku Leguminosae yang tersebar di Indonesia. Bagian tanaman kayu secang yang digunakan sebagai obat ialah kayu. Kayu secang secara empiris dimanfaatkan sebagai bahan untuk pengobatan penyakit asam urat. Kulit kayu secang mengandung berbagai macam zat antara lain brazilin, alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, fenil propanoid, dan terpenoid. Kandungan lain dari kayu secang yaitu asam galat brasilein, delta-a *phellandrene*, *oscimene*, resin, dan resorcin (Pertamawati dan Hardhiyuna, 2015). Penelitian kulit kayu secang yang dilakukan oleh Pertamawati dan Hardhiyuna (2015) menyatakan kayu secang memiliki kemampuan sebagai anti asam urat. Hasil penelitian yang telah dilakukan memperlihatkan bahwa ekstrak etanol kulit kayu secang mampu menghambat aktivitas enzim xantin oksidase sampai 56,47 %, sementara allopurinol mampu menghambat aktivitas enzim xantin oksidase sampai 87,47% (Pertamawati dan Mutia, 2015). Berdasarkan data tersebut perlu dilakukan eksplorasi tentang pemanfaatan kayu secang sebagai antihiperurisemia dimana pada penelitian ini akan dilakukan pada tahap fraksi etil asetat dan framksi n-heksan secara in vitro untuk membuktikan

bahwa kayu secang memiliki kemampuan sebagai antihiperurisemia.

Metode Penelitian

Alat dan Bahan

Peralatan yang digunakan pada penelitian ini yaitu blender, timbangan, tabung maserasi, kain flanel, *rotary evaporator*, oven, *waterbath*, pipet mikro, mikro *tip*, *microplate reader*, *ice box*, dan peralatan umum di laboratorium.

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah serbuk kayu secang yang didapat dari Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat (BALITRO) Bogor. Etanol 70%, n-heksan, Etil asetat, Dragendrof, Mayer, HCl, H₂SO₄, logam Mg, Dimetil Sulfoksida (DMSO), Kit Xantin Oksidase dari Sigma Aldrich, Akuades dan Allopurinol U.S.P Harman Finochem Ltd.

Jalannya Penelitian

1. Penyiapan simplisia

Simplisia yang digunakan serbuk kering kayu secang sebanyak 1500 gram. Serbuk diayak dengan pengayak nomor 40 lalu diperoleh bobot 1000 gram serbuk halus simplisia yang disimpan dalam wadah tertutup rapat.

2. Pembuatan ekstrak kayu secang

Ditimbang 1 kg serbuk simplisia, kemudian diekstraksi dengan menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 70% sebanyak 30 Liter. Ekstrak yang diperoleh dipekatkan dengan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental.

3. Fraksinasi ekstrak kayu secang

Setelah diperoleh ekstrak kental 327,5091 gram dilakukan fraksinasi dengan menggunakan pelarut n-heksan pada perbandingan 1:1 dalam corong pisah, kemudian dihomogenkan dengan cara dikocok sampai terbentuk dua lapisan yaitu lapisan n-heksan dan residu etanol. Lapisan residu etanol yang telah dipisahkan dengan n-heksan kemudian difraksinasi dengan pelarut etil asetat pada

Fraksi ekstrak kayu secang yang sudah disiapkan ditotolkan pada lempeng (jarak antar totolan sekitar 1-1,5 cm) jarak 1,5 hingga 2 cm dari tepi bawah lempeng. Lempeng dimasukkan ke dalam bejana (yang sudah dijenuhkan dengan fase gerak eluen) dengan posisi tegak dan bagian tepi bawah tercelup dalam fase gerak eluen. Fase gerak atau eluen yang digunakan seperti kloroform, etil asetat, metanol, n-heksan. Lempeng dikeluarkan dan dikeringkan di udara kemudian perhatikan bercak yang timbul dengan sinar tampak, ultraviolet pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm. Selanjutnya diukur dan dicatat jarak rambat setiap bercak yang timbul dan fase gerak dari titik penotolan sehingga diperoleh nilai Rf atau Rx (Rx= jarak rambat bercak dibagi jarak rambat pembanding) (Hanani, 2015).

5. Pembuatan larutan enzim xantin oksidase

Enzim yang ada dalam vial diencerkan dengan 220 µl aquadest,

perbandingan 1:1 dalam corong pisah, kemudian dihomogenkan dengan di kocok sampai terbentuk dua lapisan, yaitu lapisan etil asetat dan etanol. Lapisan etil asetat yang telah dipisahkan dari etanol disebut fraksi etil asetat. Masing-masing fraksi diuapkan dengan *rotary evaporator*, kemudian diuapkan pada suhu 50°C. Hasilnya digunakan untuk pengujian selanjutnya (Nurshiam, 2016).

4. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

kemudian dihomogenkan dan terbentuk larutan enzim.

6. Pembuatan substrat xantin oksidase

Substrat yang ada dalam vial di encerkan dengan 220 µl aquadest, kemudian dihomogenkan dan terbentuk larutan substrat.

7. Pengujian kontrol blangko

Substrat xantin 2 µl, dapar 46 µl, dan 2 µl enzim xantin oksidase dicampur ke dalam lempeng mikro, lalu diinkubasi selama 20 menit pada suhu 25°C. Penambahan enzim dilakukan di atas *ice box* untuk menyambungkan waktu dari tiap plate. Pengujian kontrol blangko ini merujuk pada modifikasi Sigma Aldrich 2017, pada panjang gelombang 570 nm larutan kontrol blangko diukur serapannya menggunakan *microplate reader* setelah inkubasi selesai.

8. Pengujian kontrol allopurinol

Ditimbang allopurinol 10 mg dilarutkan terlebih dahulu dengan 5 tetes DMSO hingga larut dan dicukupkan volumenya menggunakan

air bebas karbondioksida sampai 100 ml, sehingga didapat konsentrasi 100 µg/ml. Pengujian kontrol allopurinol ini dibuat 6 konsentrasi (1, 2, 4, 6, 8, dan 10 µg/ml). Sebelumnya, substrat xantin 2 µl, larutan allopurinol 2 µl, 44 µl dapar, kemudian ditambahkan enzim xantin oksidase 2 µl lalu dicampurkan ke dalam masing-masing lempeng mikro, lalu diinkubasi selama 20 menit pada suhu 25°C. Pengujian kontrol allopurinol ini merujuk pada modifikasi Sigma Aldrich (2017), pada panjang gelombang 570 nm larutan kontrol allopurinol diukur serapannya menggunakan *microplate reader* setelah inkubasi selesai.

9. Pengujian larutan fraksi

Ditimbang 1000 mg kemudian dilarutkan terlebih dahulu dengan 5 tetes DMSO hingga larut dan dicukupkan volumenya menggunakan air bebas karbondioksida sampai 10,0 ml, sehingga diperoleh konsentrasi 100.000 µg/ml. Kemudian dibuat menjadi 5 konsentrasi (1, 10, 100, 1000, dan 10000 µg/ml). Sebelumnya, substrat xantin 2 µl, enzim xantin oksidase 2 µl, dan dapar 44 µl ditambahkan larutan fraksi n-heksan dan etil asetat sebanyak 2 µl dengan konsentrasi 1, 10, 100, 1000, dan 10000 µg/ml dicampurkan pada masing-masing lempeng mikro (Tabel 1).

Analisis Data

Perhitungan persentase penghambatan xantin oksidase dapat dihitung dengan rumus persamaan 1.

Dari persen inhibisi yang didapatkan kemudian dilakukan analisis probit untuk mendapatkan IC₅₀. Nilai IC₅₀ menunjukkan jumlah penghambatan yang dibutuhkan untuk mencapai penghambatan 50% enzim. IC₅₀ ditentukan melalui regresi linier dimana sumbu x menunjukkan konsentrasi sampel dan sumbu y menunjukkan % penghambatan dengan mendapatkan hasil a, b, dan r. Dari persamaan $y = a + bx$ dapat dihitung nilai IC₅₀ menggunakan rumus persamaan 2.

$$\text{Penghambatan Xantin Oksidase (\%)} = \frac{A-B}{A} \times 100\% \quad (1)$$

Keterangan: A = absorbansi larutan uji tanpa fraksi/blangko dan B = absorbansi larutan uji dengan fraksi

$$IC_{50} = \frac{50-a}{b} \quad (2)$$

Keterangan: Persamaan $y=a+bx$, dengan $y=50$.

Hasil dan Pembahasan

Pemilihan metode ekstraksi dengan maserasi merupakan metode yang sederhana dan cocok untuk senyawa-senyawa yang tidak tahan panas. Maserasi dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia kayu secang dalam cairan penyari. Cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif. Zat aktif akan larut karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan dan zat aktif di dalam sel dengan yang di luar sel (Depkes RI, 1995). Penggunaan cairan penyari etanol 70% karena mempunyai kelebihan yaitu aman, tidak beracun, netral, tidak

berbahaya bersifat sebagai antiseptik, dan absorpsinya baik karena merupakan pelarut polar yang memiliki sifat hidrofilik sehingga lebih mudah bercampur dengan air serta panas yang diperlukan untuk pemekatan lebih sedikit. Ekstrak kental yang diperoleh kemudian difraksinasi dengan pelarut non polar (n-Heksan) dan pelarut semi polar (Etil asetat). Penggunaan n-heksan dan etil asetat sebagai pelarut dalam fraksinasi bertujuan untuk mengetahui fraksi n-heksan dan Fraksi Etil asetat mempunyai aktivitas penghambatan terhadap enzim xantin oksidase. Selain itu, didasarkan pada tingkat keamanan dan kemudahan saat menguap (Al-Quais, 2015).

Analisis KLT bertujuan untuk mengetahui kandungan senyawa dari fraksi n-heksan kayu secang. Hasil yang didapatkan pada uji KLT menunjukkan

adanya senyawa saponin (Rf 0,51), alkaloid (Rf 0,30) dan terpenoid (Rf 0,45) yang terkandung dalam fraksi n-heksan kayu secang. Nilai Rf yang tinggi menunjukkan senyawa tanaman yang terkandung dalam fraksi n-heksan kayu secang cenderung memiliki sifat kepolaran yang rendah atau bersifat nonpolar dan nilai Rf yang rendah menunjukkan senyawa yang terkandung dalam fraksi n-heksan kayu secang cenderung memiliki sifat kepolaran yang tinggi atau bersifat polar. Berdasarkan uji KLT, fraksi n-heksan kayu secang cenderung memiliki sifat kepolaran yang rendah atau bersifat nonpolar karena pada senyawa saponin diperoleh nilai Rf (0,51). Hal tersebut dikarenakan fase diam yang dilewati bersifat polar, sehingga jika komponen kimia yang lewat bersifat polar maka dia akan terserap dan tertahan di fase diam.

Tabel 1. Uji aktivitas fraksi n-heksan dan etil asetat kayu secang terhadap penghambatan enzim xantin oksidase

Larutan	Kontrol Blanko	Kontrol Allopurinol	Larutan Fraksi
Enzim xantin oksidase (dilarutkan dengan 220µl aquadest)	2 µl	2 µl	2 µl
Substrat xantin oksidase (dilarutkan dengan 220µl aquadest)	2 µl	2 µl	2 µl
Dapar fosfat	46 µl	44 µl	44 µl
Allopurinol 1 mg + DMSO 5 tetes + aquadest ad 100 ml	-	2 µl	-
dibuat konsentrasi 1,2,4,6,8 dan 10 µl			
Fraksi n-heksan atau etil asetat kayu secang 1 g + DMSO 5 tetes + aquadest ad 10 ml	-	-	2 µl
dibuat konsentrasi 1,10,100,1000 dan 100.000 µg/ml			
diukur pada panjang gelombang 570 nm di inkubasi selama 20 menit pada suhu 25 °C			

Jika nilai Rf tinggi maka komponen kimia yang tertahan pada fase diam sedikit dan yang keluar dari fase diam banyak. Identifikasi positif saponin menghasilkan bercak kuning sedangkan pada uji penapisan fitokimia menghasilkan buih yang tidak hilang. Hasil uji KLT teridentifikasi senyawa alkaloid, saponin dan terpenoid sama dengan hasil yang diperoleh pada uji penapisan fitokimia. Hasil uji KLT dengan dapat dilihat pada Tabel 2.

Saponin merupakan senyawa yang diduga dapat menghambat enzim xantin oksidase yang mekanismenya belum diketahui (Wulandari *et al.*, 2013). Senyawa alkaloid memiliki kemampuan sebagai inhibitor xantin oksidase yang mekanisme inhibisinya belum diketahui. Jenis senyawa alkaloid yang mampu menghambat sintesis asam urat dan juga bersifat antiinflamasi adalah kolkisin. Kolkisin bekerja pada peradangan terhadap kristal urat dengan menghambat kemotaksis sel radang (Juwita *et al.*, 2017). Alkaloid terutama

kafein juga mempunyai peran dalam menghambat pembentukan asam urat. Kafein yang merupakan golongan metil xantin akan bereaksi dengan enzim xantin oksidase. Reaksi kafein dengan xantin oksidase ini akan mengurangi efektivitas reaksi xantin dengan xantin oksidase. Dalam hal ini peran kafein sebagai inhibitor kompetitif, yang berkompetisi dengan xantin sehingga asam urat yang terbentuk lebih sedikit (Rustamsyah *et al.*, 2016).

Pada fraksi etil asetat diperoleh kandungan senyawa alkaloid dengan fase gerak kloroform - metanol (9:1) menghasilkan bercak coklat pada sinar UV 366 nm (Hanani 2015) dengan nilai Rf 0,40. Flavonoid terdapat pada fraksi etil asetat kayu secang dengan nilai Rf 0,27 dengan fase gerak n-heksan - etil asetat (5:5) menghasilkan bercak ungu pada sinar uv 366 nm, bercak warna ungu pada penampakan sinar UV 366 nm menunjukkan tipe flavonoid yang umumnya flavon atau flavanol (Hanani, 2015).

Tabel 2. Hasil KLT fraksi n-heksan kayu secang

Senyawa	Fase gerak	Pereaksi semprot	Fraksi Kayu Secang			Fraksi Etil Asetat		
			Hasil	Rf	Ket	Hasil	Rf	Ket
Alkaloid	Kloroform - metanol (10:1)	Dragendroff	Cokelat	0,30	+	Coklat	0,40	+
Flavonoid	n-Heksan - etil asetat (5:5)	Ammonia	Ungu	-	-	Ungu	0,27	+
Saponin	Kloroform – methanol (9:1)	Vanillin-asam sulfat	Kuning	0,51	+	Kuning	0,65	+
Tanin	n-Heksan - etil asetat (3:7)	FeCl ₃	Biru	-	-	Biru	0,64	+
Terpenoid	Kloroform - metanol (10:1)	Liebermann-Bouchard	Cokelat	0,45	+	Coklat	0,53	+

Ket = Keterangan, + = positif, - = negatif

Tanin dengan fase gerak n-heksan - etil asetat (3:7) menghasilkan bercak biru pada sinar UV 366 nm (Hanani, 2014) dengan nilai Rf 0,64. Saponin dengan fase gerak kloroform - metanol (10:1) menghasilkan bercak kuning pada sinar UV 366 nm (Hanani, 2014) dengan nilai Rf 0,65. Terpenoid dengan fase gerak kloroform - metanol (10:1) menghasilkan bercak coklat pada sinar uv 366 nm (Hanani, 2014) dengan nilai Rf 0,53.

Uji aktivitas antihiperurisemia fraksi n-heksan dilakukan dengan menghitung persentase inhibisi enzim xantin oksidase yang kemudian akan dibandingkan dengan standar penghambat enzim xantin oksidase yaitu allopurinol. Allopurinol digunakan sebagai pembanding karena mekanismenya sebagai penghambat enzim xantin oksidase. Beberapa uji pada penelitian ini yaitu kontrol blangko, allopurinol sebagai kontrol pembanding dan fraksi n-Heksan dan etil asetat kayu secang sebagai larutan uji. Pengujian blangko bertujuan untuk mengetahui awal mula reaksi tanpa terjadi penurunan aktivitas enzim xantin oksidase. Allopurinol berperan sebagai pembanding untuk mengetahui aktivitas penghambatan enzim setelah pemberian allopurinol. Salah satu inhibitor reversibel adalah inhibitor kompetitif. Inhibitor kompetitif biasanya memiliki struktur yang mirip substrat dan bekerja dengan cara berkompetisi dengan substrat untuk mendapatkan tempat aktif enzim sehingga aktivitasnya terhambat (Mohan *et al.*, 2015). Obat

yang paling efektif dalam penghambatan asam urat yaitu allopurinol, inhibitor kompetitif xantin oksidase (Montgomery *et al.* 1993). Uji fraksi n-heksan dan etil asetat kayu secang untuk mengetahui aktivitas penghambatan enzim karena pemberian fraksi n-heksan kayu secang sebagai inhibitor enzim xantin oksidase. Penggunaan variasi konsentrasi dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui pengaruh peningkatan konsentrasi terhadap daya inhibisi dan pada konsentrasi berapa mulai terjadi penghambatan aktivitas enzim xantin oksidase. Prinsip inhibisi menggunakan kit xantin oksidase mengukur hidrogen peroksida (H_2O_2) dilihat pada panjang gelombang 570 nm (Utomo, 2017). Dilihat dari mekanisme reaksi xantin oksidase memiliki peranan dalam oksidasi hipoxantin menjadi xantin dan dari xantin menjadi asam urat. Dalam setiap reaksi oksidasi tersebut, akan menghasilkan hidrogen peroksida sebagai produk samping dari asam urat dan dibaca menggunakan microplate reader dengan panjang gelombang 570 nm (Noerfitriani, 2016). Data yang diperoleh menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi allopurinol akan menurunkan absorbansi H_2O_2 dan meningkatkan inhibisi. Inhibisi enzim xantin oksidase dari allopurinol ditandai dengan terjadinya penurunan absorbansi H_2O_2 . Hasil peningkatan persen inhibisi kontrol allopurinol berbanding lurus dengan meningkatnya konsentrasi allopurinol.

Hasil nilai aktivitas persentase inhibisi allopurinol yang diperoleh

kemudian dihitung menggunakan persamaan regresi linearnya untuk menghitung *Inhibition Concentration* 50% (IC_{50} , Tabel 3). IC_{50} adalah konsentrasi larutan sampel yang memberikan inhibisi kerja enzim xantin oksidase sebesar 50% (Dira *et al.*, 2014). IC_{50} pada hasil nilai aktivitas presentase inhibisi allopurinol yang diperoleh dapat dihitung karena pada konsentrasi tertinggi 10 $\mu\text{g/ml}$ daya inhibisi yang diperoleh lebih dari 50% yaitu 77,32%. Data serapan persen inhibisi dari masing-masing konsentrasi diperoleh IC_{50} 2,2095 $\mu\text{g/ml}$, nilai IC_{50} tersebut menunjukkan konsentrasi allopurinol 2,2095 $\mu\text{g/ml}$ dapat memberikan 50% efek penghambatan terhadap aktivitas enzim xantin oksidase (Yanti *et al.*, 2016). Dira *et al.* (2014) menyatakan bahwa dengan konsentrasi allopurinol yang sama yaitu 1, 2, 4, 6, 8 dan 10 $\mu\text{g/ml}$ diperoleh nilai IC_{50} 4,316 $\mu\text{g/ml}$, hal tersebut membuktikan bahwa nilai IC_{50} allopurinol yang diperoleh tidak berbeda jauh sehingga dapat disimpulkan allopurinol berpotensi dalam menghambat enzim xantin oksidase karena (Putri *et al.*, 2016) menyatakan semakin kecil nilai IC_{50} maka semakin baik daya inhibisinya. Hasil peningkatan persen inhibisi kontrol allopurinol berbanding lurus dengan meningkatnya konsentrasi allopurinol.

Enzim xantin oksidase merupakan enzim golongan oksidoreduktase (Ngili, 2013). Enzim xantin oksidase mengkatalisis reaksi oksidasi xantin menjadi asam urat (Bustanji *et al.*, 2011). Dalam reaksi

oksidasi, enzim oksidase mengkatalisis pengeluaran elektron dari substrat dengan menggunakan oksigen sebagai akseptor hidrogen atau elektronnya (Mayes, 2003). Reaksi oksidasi ini xantin yang merupakan substrat akan berikatan dengan oksigen dengan bantuan enzim xantin oksidase, sehingga terbentuk produk berupa asam urat dan produk samping berupa H_2O_2 .

Larutan uji fraksi n-heksan kayu secang diuji untuk mengetahui aktivitas penghambatan enzim pada fraksi n-heksan kayu secang. Fraksi n-heksan kayu secang menggunakan variasi konsentrasi konsentrasi 100.000 $\mu\text{g/ml}$ sebagai larutan induk, 10.000 $\mu\text{g/ml}$, 1.000 $\mu\text{g/ml}$, 100 $\mu\text{g/ml}$, dan 10 $\mu\text{g/ml}$. Larutan induk fraksi n-heksan kayu secang ditambahkan dimetil sulfoksida (DMSO), penambahan DMSO pada larutan induk bertujuan untuk mempercepat kelarutan (Wahyudi *et al.*, 2017). Data yang diperoleh menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi fraksi n-heksan kayu secang akan menurunkan absorbansi H_2O_2 dan meningkatkan inhibisi. Inhibisi enzim xantin oksidase dari fraksi n-heksan kayu secang ditandai dengan terjadinya penurunan absorbansi H_2O_2 . Hasil peningkatan persen inhibisi fraksi n-heksan kayu secang berbanding lurus dengan meningkatnya konsentrasi fraksi n-heksan kayu secang. Fraksi dikatakan berpotensi sebagai inhibitor xantin oksidase dan bisa dimanfaatkan sebagai obat asam urat bila memiliki daya inhibisi lebih besar dari 50% (Dira *et al.*, 2014).

Tabel 3. Hasil uji penghambatan allopurinol terhadap xantin oksidase

Konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$)	Rata-rata absorbansi H_2O_2	Penghambatan Enzim (%)	IC_{50}
1	0,0575	40,72	
2	0,0525	45,87	
4	0,0465	52,06	2,2095
6	0,0295	69,58	
8	0,0280	71,13	
10	0,0220	77,32	

Fraksi n-heksan kayu secang memiliki potensi sebagai inhibitor enzim xantin oksidase, dilihat dari persen penghambatannya lebih besar dari 50% yaitu 51,54% pada konsentrasi 100.000 $\mu\text{g/ml}$. Berdasarkan penelitian Pertamawati dan Mutia (2015) daya inhibisi ekstrak kayu secang cukup tinggi dengan hasil persen inhibisi yang diperoleh 56,47 %. Persen inhibisi ekstrak kayu secang lebih tinggi dibanding fraksi n-heksan kayu secang, hal ini dikarenakan ekstrak kayu secang mengandung senyawa-senyawa yang lebih kompleks dibandingkan dengan fraksi n-heksan kayu secang yang hanya mengandung senyawa saponin, terpenoid dan alkaloid. Hasil nilai IC_{50} fraksi n-heksan kayu secang yaitu 51.331,32 $\mu\text{g/ml}$ (Tabel 4). Nilai IC_{50} tersebut menunjukkan konsentrasi fraksi n-heksan kayu secang 51.331,32 $\mu\text{g/ml}$ dapat memberikan 50% efek

penghambatan terhadap aktivitas enzim xantin oksidase (Yanti *et al.*, 2016). Hasil IC_{50} yang diperoleh allopurinol dan fraksi n-heksan kayu secang bila dibandingkan maka fraksi n-heksan kayu secang dengan konsentrasi lebih tinggi dari pada konsentrasi kontrol positif allopurinol dalam menghambat enzim xantin oksidase, jadi aktivitas fraksi n-heksan kayu secang lebih rendah dibanding kontrol positif allopurinol.

Berdasarkan perhitungan nilai IC_{50} fraksi etil asetat kayu secang diketahui bahwa nilai IC_{50} fraksi etil asetat kayu secang lebih besar dibandingkan dengan nilai IC_{50} allopurinol. Pada konsentrasi tertinggi 100.000 $\mu\text{g/ml}$ penghambatan enzim xantin oksidase fraksi etil asetat kayu secang hanya sebesar 52,57% dan nilai IC_{50} fraksi etil asetat kayu secang sebesar 9.141 $\mu\text{g/ml}$ (Tabel 5).

Tabel 4. Hasil uji penghambatan fraksi n-heksan kayu secang terhadap xantin oksidase

Konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$)	Rata-rata absorbansi	Persen Inhibisi Fraksi (%)	Probit	Regresi linier	IC_{50} ($\mu\text{g/ml}$)
10	0,0795	18,04	4,0846		
100	0,0675	30,41	4,4871	a = 3,9656	
1.000	0,0585	39,69	4,7363	b = 0,2196	51.331,32
10.000	0,0570	41,23	4,7776	r = 0,9660	
100.000	0,049	51,54	5,0376		

Tabel 5. Hasil uji penghambatan fraksi etil asetat kayu secang terhadap xantin oksidase

Konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$)	Rata-rata Absorbansi	Persen Inhibisi Fraksi(%)	Probit	Regresi linier	IC ₅₀ ($\mu\text{g/ml}$)
1	0,065	32,98%	4,5573		
10	0,064	34,02%	4,5930	a = 4,5425	
100	0,057	41,23%	4,7776	b = 0,1155	9.141,03
1.000	0,050	48,45%	4,9599	r = 0,9715	
10.000	0,047	51,54%	5,0376		
100.000	0,046	52,57%	5,0627		

Hal ini menunjukkan bahwa daya hambat aktivitas kerja enzim xantin oksidase oleh fraksi etil asetat kayu secang lebih rendah dibandingkan dengan allopurinol, pada konsentrasi tertinggi 10 $\mu\text{g/ml}$ besar penghambatan kerja enzim xantin oksidase oleh allopurinol sebesar 77,32% dengan nilai IC₅₀ sebesar 2,05 $\mu\text{g/ml}$. Jika dibandingkan dengan fraksi etil asetat kayu secang daya inhibisi allopurinol lebih tinggi karena allopurinol merupakan obat sintesis untuk menanggulangi asam urat (Hidayat, 2009). Penelitian sebelumnya Pertamawati dan Hadiyuna (2015), ekstrak kayu secang mampu menghambat enzim xantin oksidase dengan persentase inhibisi sebesar 58,92% dengan konsentrasi tertinggi 1500 $\mu\text{g/ml}$. Hasil di atas menunjukkan bahwa fraksi etil asetat kayu secang lebih berpotensi menghambat xantin oksidase dalam menurunkan kadar asam urat pada hiperurisemia dibandingkan fraksi n-heksan, walaupun bila dibandingkan dengan allopurinol persentase penghambatan fraksi etil asetat jauh lebih rendah.

Kesimpulan

Potensi Fraksi etil asetat kayu secang lebih baik dalam menghambat xantin oksidase dalam menurunkan kadar asam urat pada hiperurisemia dibandingkan fraksi n-heksan.

Daftar Pustaka

- Al-Quais K. 2015. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak n-Heksana dan Identifikasi Senyawa Steroid Akar Rumput Bambu (*Lophatherum gracile* Brongn). *Skripsi*. Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim. Malang.
- Bustanji Y, Hudaib M, Tahawa K, Mohammad KH, Almasari I, Hamed S, Oran S. 2011. *In Vitro* Xanthine Oksidase Inhibition by Selected Jordanian Medicinal Plants. *Jordania Journal of Pharmaceutical Sciences*. **4**(1): 49-55.
- Cendrianti F, Muslichah S, dan Ulfa EU. 2013. Uji Aktivitas Antihiperurisemia Ekstrak n-Heksan, Etil Asetat, dan Etanol 70% Daun Tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) pada Mencit Jantan Hiperurisemia. *Skripsi*. Fakultas Farmasi Universitas Jember

Departemen kesehatan RI. 1995.

- Materia Medika Indonesia Jilid IV*. Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan. Jakarta. Hlm. 182-185
- Departemen kesehatan RI. 2000. *Buku Panduan Teknologi Ekstrak*. Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan. Jakarta. Hlm. 17-39
- Hariana A. 2007. *Tumbuhan Obat dan Khasiatnya*. Edisi III. Penebar Swadaya. Jakarta. Hlm. 5
- Dipiro J.T., Wells B.G., Schwinghammer T.L, Dipiro, C. V. 2011. *Pharmacotherapy handbook*. Inggris: McGraw-Hill. Education Companies
- Dira, Eka F, Novita S. 2014. Uji Aktivitas Antihiperurisemia Ekstrak Etanol Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.) dan Buah Asam Gelugur (*Garcinia atroviridis* Griff .ex. T. Anders.) secara *In Vitro*. *Scientia*. 4(2): 67-70
- Goicoechea M, García de Vinuesa S, Verdalles U, Ruiz-Caro C, Ampuero J, Rincón A. 2010. Effect of Allopurinol in Chronic Kidney Disease Progression and Cardiovascular Risk. *Clinical Journal of the American Society Nephrology*. 5:1388-1393
- Hanani E. 2014. *Analisis Fitokimia*. EGC. Jakarta. Hlm. 7,9
- Hidayat R. 2009. Gout dan Hiperurisemia. Dalam: *Jurnal Medicinus*. 22(2): Hlm. 47-50
- Juwita R, Saleh C, Sitorus S. 2017. Uji Aktivitas Antihiperurisemia dari Daun Hijau Tanaman Pucuk Merah (*Syzygium myrtifolium* walp.) terhadap Mencit Jantan (*Mus musculus*) Antihyperuricemia Activity Test from Green Leaf of Plant Red Bud (*Syzygium myrtifolium* walp.) to male mice. *Jurnal Atomik*. 02(1):62–68.
- Kato S, Ando M, Mizukoshi T, Nagata T, Katsuno T, Kosugi T, Tsuboi N, and Maruyama S. 2016. Randomized Control Trial for the Assessment of the Anti-albuminuric Effects of Topiroxostat in hyperurisemic Patients with Diabetic Nephropathy (the ETUDE study). *Nagoya Journal of Medical Science*. (78): 135-142
- Mayes PA. 2003. Oksidasi Biologi, Dalam: Murray RK, Granner DK, Mayes PA Rodwell VW. *Biokimia Harper*. Edisi XXV. Terjemahan: Hartono A. EGC. Jakarta. Hlm. 120.
- Mohan C, Long KD, Mutneja M. 2015. An Introduction to Inhibitors and Their Biological Applications. EMD Millipore. Germany. Hlm. 9.
- Montgomery R, Dryer RL, Conway TW, Spector AA. 1993. Suatu Pendekatan Berorientasi-Kasus. *Biokimia*. Jilid IV. Terjemahan Ismadi M. UGM Press
- Nagata T, Katsuno T, Kosugi T, Tsuboi N, and Maruyama S. 2016. Randomized Control Trial for the Assessment of the Anti-albuminuric Effects of Topiroxostat in hyperurisemic Patients with Diabetic Nephropathy (the ETUDE study). *Nagoya Journal of Medical Science*. (78): 135-142
- Ngili Y. 2013. *Biokimia dasar*. Penerbit Rekayasa Sains. Bandung: 351-354

- Noerfitriani F. 2016. Uji Penghambatan Xantin Oksidase Dengan Ekstrak Polisakarida Jamur Shiitake (*Lentinula adodes* (Berk.) Pegler.) secara *in vivo* pada Mencit Hiperurisemia. *Skripsi*. Fakultas Farmasi dan Sains UHAMKA, Jakarta
- Nurshiam I. 2016. Uji Penghambatan Xantin Oksidase dengan Ekstrak Poliakarida Jamur Tiram Putih (*Pleurotus ostreatus* (Jacq.) P. Kumm.) secara *in vitro* pada mencit Hiperurisemia. *Skripsi*. Fakultas Farmasi dan Sains UHAMKA, Jakarta
- Patcher P, Nivorozhkin A, Szabo C. 2006. Therapeutic Effects of Xanthine Oksidase Inhibitors: Renaissance Half a Century After the Discovery of Allopurinol. *Pharmacological Reviews*. **59**(1): 87-114
- Pertamawati, Hardiyuna M. 2015. Uji Penghambatan Aktivitas Enzim Xantin Oksidase terhadap Ekstrak Kulit Kayu Secang (*Caesalpinia sappan* L.). Dalam: *Jurnal Ilmiah Farmasi*. **3**(2):12-17
- Putri NE, Rissyelly, Mauldina MG. 2016. Uji Penghambatan Xantin Oksidase secara *In Vitro* Ekstrak Kulit Rambut. *Pharmaceutical Sciences and Research* ISSN 2407-2354. **3**(1): 12-20
- Rustamsyah A, Islami SN, Fitriana, dan Kusmiyati M. 2016. Akitivitas Penghambatan Enzim Xantin Oksidase Seduhan dan Ekstrak Etanol Teh Putih (*Camellia sinensis* L.). *Jurnal Penelitian Teh dan Kina*. **19**(2): 196-201
- Sigma Aldrich. 2016. Xantin Oksidase Activity Assay Kit. MAK078. Hlm. 1-4
- Tonius J, Wibowo MA, Idiawati N. 2016. Isolasi dan Karakterisasi senyawa steroid Fraksi n-Heksan Daun Buas-Buas (*Premna serratifolia* L.). *Jurnal Kimia dan Kemasan*. **5**(1):1-7
- Utomo AB. 2017. Uji Penghambatan Aktivitas Enzim Xantin Oksidase oleh Ekstrak Polisakarida Jamur merang (*Volvariella Volvacea* (Bull.) Singer) secara *In Vitro*. *Skripsi*. Fakultas Farmasi dan Sains UHAMKA, Jakarta
- Wahyudi P, Dwitiyanti, Zaelani BAQ, Maharani N. 2017. Uji Aktivitas Inhibitor Xantin Oksidase dari Ekstrak Polisakarida Jamur Tiram Putih (*Pleurotus ostreatus* (Jacq.) P.Kumm) dan Jamur Kancing (*Agaricus bisporus* (J.E.Lange) Imbach) secara *In Vitro*. *Media Farmasi*. **14**(1):29-42
- Yanti RA, Rahayu TS, Syachfitri DR. 2016. Uji Aktivitas Penghambatan Xantin Oksidase Secara *In Vitro* oleh Isolat 6,4'-Dihidroksil 4 Metoksibenzo fenon-2-O-β-D Gukopiranosida (C₂₀H₂₂O₁₀) yang Diisolasi dari Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl), *Farmasi*. **1**(3):7-8.