

**PENGHAMBATAN AKTIVITAS ENZIM XANTIN OKSIDASE OLEH
EKSTRAK ETANOL DAUN KACANG TANAH (*Arachis hypogaea* L.)
SECARA *IN VITRO***

SKRIPSI

Oleh :

ANGGIK TRI MARDININGSIH

NIM. 11620076



**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI
MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG**

2017

**PENGHAMBATAN AKTIVITAS ENZIM XANTIN OKSIDASE OLEH
EKSTRAK ETANOL DAUN KACANG TANAH (*Arachis hypogaea* L.)
SECARA *IN VITRO***

SKRIPSI

Diajukan Kepada :

Fakultas Sains dan Teknologi

Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang

Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan

Dalam Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)

Oleh :

ANGGIK TRI MARDININGSIH

NIM : 11620076

JURUSAN BIOLOGI

FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI

UNIVERSITAS ISLAM NEGERI

MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG

2017

PENGHAMBATAN AKTIVITAS ENZIM XANTIN OKSIDASE OLEH
EKSTRAK ETANOL DAUN KACANG TANAH (*Arachis hypogaea* L.)
SECARA *IN VITRO*

SKRIPSI

Oleh:

ANGGIK TRI MARDININGSIH

NIM. 11620076

Telah diperiksa dan disetujui oleh untuk diuji:
Tanggal: 14 Juli 2017

Pembimbing I

Dr. Retno Susilowati, M.Si
NIP. 19671113 199402 2 001

Pembimbing II

Umayyatus Syarifah, M. A
NIP. 19820925 200901 2 005



Mengetahui,
Ketua Jurusan Biologi

Dr. Evika Sandi Savitri, M.P
NIP. 19741018 200312 2 002

PENGHAMBATAN AKTIVITAS ENZIM XANTIN OKSIDASE OLEH
EKSTRAK ETANOL DAUN KACANG TANAH (*Arachis hypogaea* L.)
SECARA *IN VITRO*

SKRIPSI

Oleh:

ANGGIK TRI MARDININGSIH

NIM. 11620076

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi
dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan
untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)

Tanggal : 14 Juli 2017

Penguji Utama Dr. drh. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si
NIP. 19710919 200003 2 001



Ketua Penguji Kholifah Holil, M.Si
NIP. 19751106 200912 2 002



Sekretaris Penguji Dr. Retno Susilowati, M.Si
NIP. 19671113 199402 2 001



Anggota Penguji Umayyatus Syarifah, M.A
NIP. 19820925 200901 2 005



Mengesahkan,
Ketua Jurusan Biologi



Dr. Erika Sandi Savitri, M.P
NIP. 19741018 200312 2 002

SURAT PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Anggik Tri Mardiningsih

NIM : 11620076

Jurusan : Biologi

Fakultas : Sains dan Teknologi

Judul Skripsi : Penghambatan Aktivitas Enzim *Xantin Oksidase* Oleh Ekstrak Etanol
Daun Kacang Tanah (*Arachis hypogaea* L.) Secara *In Vitro*

menyatakan dengan sebenarnya bahwa tugas akhir atau skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambil alihan data, tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pikiran saya sendiri, kecuali dengan mencantumkan sumber cuplikan pada daftar pustaka. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan tugas akhir/skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 14 Juli 2017

Yang membuat pernyataan,



Anggik Tri Mardiningsih

NIM. 11620076

v

v

LEMBAR PERSEMBAHAN

Alhamdulillahirobbil ‘Alamin

Tidak ada Tuhan kecuali Allah yang Maha Esa dan tidak ada sekutu bagi-Nya, bagi-Nyalah segala kekuasaan dan pujian. Dan dia Maha Kuasa atas segala sesuatu.

Dan tak lupa sholawat serta salam semoga tetap tercurahkan kepada Nabi Muhammad SAW.

Kupersembahkan karya ini untuk keluargaku tercinta, terutama Ayah Sumardi dan Ibu Muriyana.

رَبِّ أَوْزَعْنِي أَنْ أَشْكُرَ نِعْمَتَكَ الَّتِي أَنْعَمْتَ عَلَيَّ وَعَلَىٰ وَالِدَيَّ وَأَنْ أَعْمَلَ صَالِحًا تَرْضَاهُ
وَأَدْخِلْنِي بِرَحْمَتِكَ فِي عِبَادِكَ الصَّالِحِينَ

Terimakasihku kepada saudara-saudaraku Mas Ageng, Mbak Dwi, dan Adek Nata yang selalu mendukung dan mendoakan. May our life showered with love and blessings.

Guru dan Dosen yang mengajarku terutama dosen pembimbing skripsi Bu Dr. Retno Susilowati, M.Si dan Ibu Umaiyatus Syarifah, M.A., terimakasih telah sabar dan ikhlas membimbingku dalam penulisan maupun mental.

Teman-teman seperjuangan, Merry, Bella, yang telah banyak membantu dan menyemanyatiku, dan teman-teman Biologi angkatan 2011 yang tidak bisa aku sebutkan satu per satu, terimakasih atas waktu dan kenangan yang kita bagi bersama.

Sahabat-sahabatku di perkuliahan maupun di luar perkuliahan terimakasih atas segalanya.

Sukses selalu untuk kita semua, dan keberuntungan selalu menyertai kita.

Semoga Karya ini dapat bermanfaat dan menjadi berkah.

MOTTO

“Berusahalah lebih dari yang sebelumnya, tentang hasilnya tidak apa-apa”.

Semua yang kamu ucapkan dan lakukan tidak semata-mata hanya untuk dirimu,
namun orang lain pun mengharapkannya.



KATA PENGANTAR



Assalamu'alaikum Wr. Wb.

Alhamdulillah rabbil'alamin, puji syukur kehadiran Ilahi Rabbi yang senantiasa memberikan limpahan rahmat, taufik dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyusun skripsi yang berjudul "**Penghambatan Aktivitas Enzim *Xantin Oksidase* Oleh Ekstrak Etanol Daun Kacang Tanah (*Arachis hypogaea* L.) Secara *In Vitro***" ini dan dapat terselesaikan dengan baik sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains (S.Si).

Penyusunan skripsi ini tentu tidak lepas dari bimbingan dan bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, iringan do'a dan terima kasih yang sebesar-besarnya penulis sampaikan kepada:

1. Prof. Dr. H. Mudjia Rahardjo, M. Si selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Dr. drh. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Dr. Evika Sandi Savitri, M.P selaku Ketua Jurusan Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Dr. Retno Susilowati, M.Si selaku dosen pembimbing yang penuh keikhlasan dan kesabaran serta memberi motivasi tanpa henti untuk membimbing penulis dalam penyusunan skripsi ini.
5. Umayyatus Syarifah, MA selaku dosen pembimbing agama yang telah membimbing penulis dalam menelaah penelitian dalam sudut pandang Islam untuk menunjang kesempurnaan penyusunan skripsi ini.
6. Seluruh Dosen dan Laboran Jurusan Biologi yang telah memberi banyak bimbingan ilmu pengetahuan yang sangat bermanfaat dalam penyempurnaan penyusunan skripsi.

7. Keluarga dan teman yang telah memberi motivasi dan dukungan moral, material, maupun spiritual serta ketulusan do'anya hingga penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi.

Semoga Allah memberikan balasan atas segala bantuan yang telah diberikan kepada penulis. Semoga skripsi ini dapat memberi manfaat khususnya dibidang pengembangan ilmu Kultur Jaringan Tumbuhan.

Wassalamu'alaikum Wr. Wb

Malang, 12 Juli 2017

Penulis



DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGAJUAN	ii
HALAMAN PERSETUJUAN	iii
HALAMAN PENGESAHAN	iv
HALAMAN PERNYATAAN	v
HALAMAN PERSEMBAHAN	vi
MOTTO	vii
KATA PENGANTAR	viii
DAFTAR ISI	x
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR GRAFIK	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
ABSTRAK	xvi
ABSTRACT	xvii
مستخلص البحث	xviii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	6
1.3 Tujuan Penelitian	7
1.4 Hipotesis Penelitian	7
1.5 Manfaat Penelitian	7
1.6 Batasan Masalah	8
BAB II KAJIAN PUSTAKA	9
2.1 Enzim <i>Xantin Oksidase</i>	9
2.1.1 Definisi Enzim dan <i>Xantin Oksidase</i>	9
2.1.2 Peran Enzim <i>Xantin Oksidase</i> dalam Sintesis Asam Urat	10
2.1.3 Allopurinol Sebagai Penghambat Enzim <i>Xantin Oksidase</i>	13
2.2 Tanaman Kacang Tanah Sebagai Penghambat Enzim <i>Xantin Oksidase</i>	14
2.2.1 Morfologi dan Taksonomi Tanaman Kacang Tanah (<i>Arachis hypogaea</i> L.)	15
2.2.2 Kandungan dan Kegunaan Tanaman Kacang Tanah (<i>Arachis hypogaea</i> L.)	17
2.2.3 Daun Kacang Tanah (<i>Arachis hypogaea</i> L.) Sebagai Penghambat Enzim <i>Xantin Oksidase</i>	18
2.3 Ekstraksi dan Pelarut Etanol 70%	20
2.4 Spektrofotometer UV-Vis	21
BAB III METODE PENELITIAN	23
3.1 Rancangan Penelitian	23

3.2 Waktu dan Tempat	23
3.3 Alat dan Bahan	23
3.3.1 Alat Penelitian	23
3.3.2 Bahan Penelitian	24
3.4 Prosedur Penelitian	24
3.4.1 Proses ekstraksi	24
3.4.2 Pembuatan Larutan Perekasi	25
3.4.2.1 Pembuatan Larutan DMSO 1%	25
3.4.2.2 Pembuatan Larutan HCl 0,5M	25
3.4.2.3 Pembuatan Larutan NaOH 1M	25
3.4.2.4 Pembuatan Larutan Buffer Sodium Phosphate	25
3.4.3 Pembuatan Larutan Substrat Xantin	26
3.4.4 Pembuatan Larutan Enzim <i>Xantin Oksidase</i>	27
3.4.5 Pembuatan larutan Uji	27
3.4.5.1 Pembuatan Larutan Sampel Ekstrak	27
3.4.5.2 Pembuatan Larutan Allopurinol	27
3.4.6 Uji Penghambatan Enzim <i>Xantin Oksidase</i>	28
3.5 Analisis Data	29
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	30
4.1 Penghambatan Aktivitas Enzim <i>Xantin Oksidase</i>	31
4.1.1 Penghambatan Aktivitas Enzim <i>Xantin Oksidase</i> Oleh Allopurinol	32
4.1.2 Penghambatan Aktivitas Enzim <i>Xantin Oksidase</i> Oleh Ekstrak Etanol Daun Kacang Tanah (<i>Arachis hypogaea</i> L.)	35
4.1.3 Perbandingan Penghambatan Aktivitas Enzim <i>Xantin Oksidase</i> oleh Allopurinol dan Ekstrak Etanol Daun Kacang Tanah (<i>Arachis hypogaea</i> L.)	38
BAB V PENUTUP	41
5.1 Kesimpulan	41
5.2 Saran	41
DAFTAR PUSTAKA	42
LAMPIRAN	47

DAFTAR TABEL

Tabel 4.1	Penghambatan Aktivitas Enzim <i>Xantin Oksidase</i> Oleh Allopurinol.....	32
Tabel 4.2	Penghambatan Aktivitas Enzim <i>Xantin Oksidase</i> Oleh Ekstrak Etanol Daun kacang Tanah (<i>Arachis hypogaea</i> L.)	35
Tabel 4.3	Perbandingan Penghambatan Aktivitas Enzim <i>Xantin Oksidase</i> Oleh Allopurinol dan Ekstrak Etanol Daun kacang Tanah (<i>Arachis hypogaea</i> L.)	38



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 <i>Xantin Oksidase</i> Mengkonversi Hipoxantin Dan Xantin Menjadi Asam Urat.....	9
Gambar 2.2 Metabolisme Purin Menjadi Asam Urat	11
Gambar 2.3 Penghambatan <i>Xantin Oksidase</i> Oleh Allopurinol	13
Gambar 2.4 Morfologi Tanaman Kacang Tanah (<i>Arachis hypogaea</i> L.)	17
Gambar 2.5 Struktur Catechin	19



DAFTAR GRAFIK

Grafik 4.1 Spektrum UV-Vis Panjang Gelombang Maksimum	
Aktivitas Enzim <i>Xantin Oksidase</i>	31
Grafik 4.2 Kurva Regresi Linear Konsentrasi Allopurinol	
Terhadap Persentase Penghambatan	
Aktivitas Enzim <i>Xantin Oksidase</i>	34
Grafik 4.3 Kurva Regresi Linear Konsentrasi Ekstrak Etanol Daun Kacang Tanah	
(<i>Arachis hypogaea</i> L.) Terhadap Persentase Penghambatan	
Aktivitas Enzim <i>Xantin Oksidase</i>	36



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Data Hasil Pengukuran Absorbansi	47
Lampiran 2. Data Hasil Perhitungan	48



ABSTRAK

Mardiningsih, Anggik Tri. 2017. Penghambatan Aktivitas Enzim *Xantin oksidase* Oleh Ekstrak Etanol Daun Kacang Tanah (*Arachis hypogaea* L.) Secara *In Vitro*. Skripsi. Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang. Dosen Pembimbing Biologi: Dr. Retno Susilowati, M.Si, dan Dosen Pembimbing Agama: Umayyatus Syarifah, MA.

Kata Kunci: *Xantin oksidase*, Asam urat, Daun Kacang Tanah (*Arachis hypogaea* L.), Flavonoid, Penghambatan Enzim.

Xantin oksidase merupakan enzim yang memiliki peranan dan aktivitas kerja dalam proses degradasi purin yaitu mengkatalisis berturut-turut *hipoxantin* menjadi *xantin* dan selanjutnya menjadi asam urat. Asam urat yang berlebih dalam darah dapat menimbulkan beberapa gangguan pada tubuh, sehingga salah satu pendekatan terapeutic untuk pengobatan penyakit asam urat dapat dilakukan melalui mekanisme penghambatan aktivitas enzim *xantin oksidase*. Salah satu bahan alternatif yang dapat digunakan adalah daun kacang tanah (*Arachis hypogaea* L.) dengan kandungan senyawa di dalamnya khususnya flavonoid yang diduga mampu menghambat aktivitas enzim *xantin oksidase*. Hal ini dikarenakan flavonoid memiliki struktur ikatan rangkap dan gugus hidroksil yang berguna untuk berinteraksi dengan sisi aktif enzim *xantin oksidase*. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk mengetahui adanya kemampuan menghambat ekstrak etanol daun kacang tanah (*Arachis hypogaea* L.) terhadap aktivitas enzim *xantin oksidase* secara *in vitro*.

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan rancangan acak lengkap (RAL) dengan 7 taraf perlakuan konsentrasi dan 3 ulangan. Perlakuan ekstrak etanol daun kacang tanah (*Arachis hypogaea* L.) yaitu (100 µg/ml, 50 µg/ml, 25 µg/ml, 20 µg/ml, 15 µg/ml, 10 µg/ml, dan 5 µg/ml). Pengujian juga dilakukan pada allopurinol sebagai pembanding atau standart yang merupakan obat sintetis untuk asam urat (100 µg/ml, 50 µg/ml, 20 µg/ml, 10 µg/ml, 7,5 µg/ml, 5 µg/ml, dan 2,5 µg/ml). Parameter yang diamati adalah nilai absorbansi pada spektrofotometer yang menunjukkan jumlah produk asam urat yang terbentuk sehingga diperoleh persentase penghambatannya. Analisis data dilakukan menggunakan analisis deskriptif dan dibandingkan dengan literatur atau penelitian sebelumnya.

Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan bahwa aktivitas enzim *xantin oksidase* mampu dihambat oleh ekstrak etanol daun kacang tanah (*Arachis hypogaea* L.) secara *in vitro* dengan konsentrasi terendah 5 µg/ml yang memiliki persentase penghambatan sebesar $95,90 \pm 3,37$ %, namun secara statistik perlakuan konsentrasi ekstrak tidak menunjukkan pengaruh yang berbeda nyata atau signifikan. Hasil penghambatan oleh Allopurinol sebagai pembanding atau standart menunjukkan konsentrasi tertinggi 100 µg/ml mampu menghambat sebesar $94,35 \pm 2,17$ %.

ABSTRACT

Mardiningsih, Anggik Tri. 2017. Inhibition of *Xanthine Oxidase* Enzyme Activity by Ethanol Extract of Peanut Leaf (*Arachis hypogaea* L.) In Vitro. Essay. Department of Biology Faculty of Science and Technology State Islamic University (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang. Lecturer of Biological Advisor: Dr. Retno Susilowati, M.Si, and Religious Counselor: Umayatus Syarifah, MA.

Keywords: *Xanthine oxidase*, Uric Acid, Peanut Leaves (*Arachis hypogaea* L.), Flavonoids, Enzyme inhibition.

Xanthine oxidase is an enzyme that has a role and activity in purine degradation process that is catalyzing hypoxanthine successively into xanthine and then into uric acid. Excessive uric acid in the blood can cause some disorder in the body, so one of the therapeutic approaches to the treatment of gout disease through the mechanism of inhibition of xanthine oxidase enzyme activity. One of the alternative materials that can be used is groundnut leaf (*Arachis hypogaea* L.) with the content of compounds in it especially flavonoids that are suspected to inhibit the activity of xanthine oxidase enzymes. This is because flavonoids have double bond structures and hydroxyl groups that are useful for interacting with the active side of xanthine oxidase enzymes. Therefore, this study was conducted to determine the ability to inhibit peanut ethanol extract (*Arachis hypogaea* L.) on the activity of *xanthine oxidase* enzyme in vitro.

This research is an experimental research with complete randomized design (RAL) with 7 levels of treatment of concentration with 3 replications. Treatment of groundnut ethanol extract (*Arachis hypogaea* L.) (100 µg / ml, 50 µg / ml, 25 µg / ml, 20 µg / ml, 15 µg / ml, 10 µg / ml, and 5 µg / ml). Tests were also performed on allopurinol as a comparator which is a synthetic drug for uric acid (100 µg / ml, 50 µg / ml, 20 µg / ml, 10 µg / ml, 7.5 µg / ml, 5 µg / ml, and 2, 5 µg / ml). The parameter observed was the absorbance value at spectrophotometer showing the amount of uric acid product that was formed to obtain the percentage of inhibition. Data analysis was performed using descriptive analysis with literature experiment before.

Based on the result of the research showed that xanthine oxidase enzyme activity can be inhibited by peanut ethanol extract (*Arachis hypogaea* L.) in vitro with low concentration 5 µg/ml have inhibitory percentage of $95,90 \pm 3,37\%$, but statistically did not show influence which is significant. Allopurinol concentration of 100 µg/ml have inhibitory percentage $94,35 \pm 2.17\%$.

مستخلص البحث

مردنيحسية، أعغيك تري. 2017. تثبيط نشاط الأنزيم *Xantin oksidase* بواسطة استخراج إيثانول ورقة الفول السوداني (*Arachis hypogaea L.*) اختبارا. البحث الجامعي. قسم علم الحياة كلية العلوم والتكنولوجيا جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية مالانج. المشرفة في علم الحياة: الدكتورة ريتنو سوسيلوواتي الماجستير والمشرفة في الديانة: أمية الشريفة الماجستير.

الكلمات الأساسية: *Xantin oksidase*، النقرس، ورقة الفول السوداني (*Arachis hypogaea L.*)، تثبيط الأنزيم، Flavonoid.

Xantin oksidase هو أنزيم لديه الدور ونشاط العمل في عملية تدهور البيورين الذي يحفز متوليا يجعل *xantin hipoxantin* وبالتالي يجعل النقرس. يؤدي النقرس الفاضل على عدة الاضطرابات في الجسم، وعلى هذا أن إحدى من طريقة العلاجات في النقرس وهي بواسطة تثبيط نشاط الإنزيم *xantin oksidase*. وأما إحدى المواد البديلية فهي ورقة الفول السوداني (*Arachis hypogaea L.*) التي فيها المركب خاصة الفلافونويد الذي يستطيع أن يثبط نشاط أنزيم *xantin oksidase*. وعلى هذا أن الفلافونويد لديه هيكل الرابطة المزدوجة ومجموعة الهيدروكسيل المفيد للتفاعل بين جانب الأنزيم *xantin oksidase*. انطلاقا مما سبق أقامت هذه الدراسة لمعرفة قدرة تثبيط استخراج إيثانول ورقة الفول السوداني (*Arachis hypogaea L.*) على نشاط الأنزيم *xantin oksidase* اختبارا.

هذه الدراسة هي الدراسة التجريبية على تصميم كامل العشوائية (RAL) بحيث كان 7 خطوة و3 التكرار. أما خطوة استخراج ورقة الفول السوداني (*Arachis hypogaea L.*) وهي (50 µg/ml ، 100 µg/ml ، 25 µg/ml ، 20 µg/ml ، 15 µg/ml ، 10 µg/ml ، 5 µg/ml). أقام الفحص بأبوريينول مقياسا على دواء الاصطناعية للنقرس (50 µg/ml ، 100 µg/ml ، 25 µg/ml ، 20 µg/ml ، 15 µg/ml ، 10 µg/ml ، 5 µg/ml). أما المعلمة الملاحظة فهي قيمة absorbansi في spektrofotometer الذي يدل على مجموعة نتاج النقرس المتشكل من أجل الحصول نسبة التثبيط.

والعود إلى نتائج الدراسة أن استخراج إيثانول ورقة الفول السوداني (*Arachis hypogaea L.*) يستطيع أن يثبط نشاط الأنزيم *xantin oksidase* على الاختبار أخفض تركيز 5 µg/ml لديه نسبة تثبيط 95,90±3,37 %، بل على الإحصائي لا يدل التأثير المختلف حقيقة أو مناسباً. أما حصول تثبيط Allopurinol مقياسا يدل على أعلى تركيز 100 µg/ml يستطيع أن يثبط % 94,35±2,17.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Xantin oksidase merupakan enzim sitosolik yang tersebar luas di berbagai spesies seperti bakteri, tumbuhan tingkat tinggi, invertebrata dan vertebrata. Enzim ini dapat ditemukan di beberapa jaringan tubuh mamalia antara lain hati, usus, ginjal, paru-paru, myocardium, otak, plasma dan eritrosit. Di antara mereka, hati dan usus memiliki aktivitas enzim *xantin oksidase* yang paling tinggi. Enzim ini memiliki peranan dan aktivitas kerja dalam proses degradasi purin yaitu yang menghasilkan produk akhir seperti asam urat dengan mengkatalisis berturut-turut *hipoxantin* menjadi *xantin* dan kemudian *xantin* menjadi asam urat (Briley, 1974).

Asam urat dibentuk di hati melalui metabolisme purin yang terjadi secara terus menerus seiring dengan sintesis dan penguraian komponen asam nukleat di dalam tubuh yang kemudian dilepaskan ke dalam peredaran tubuh. Tubuh manusia dewasa secara umum memiliki batas kadar asam urat normal dalam darah sebesar 3,5-7 mg/dL pada laki-laki dan 2,6-6 mg/dL pada perempuan (Dalimartha, 2008). Peningkatan kadar asam urat dalam darah (hiperurisemia) dapat terjadi ketika ginjal tidak mampu mengeluarkannya melalui air kemih sehingga asam urat tetap berada dalam tubuh dan produksi asam urat yang meningkat atau kombinasi keduanya (Utami, 2005).

Meningkatnya produksi asam urat dapat disebabkan oleh tingginya asupan makanan atau minuman yang mengandung purin. Menurut Artini (2012) di dalam tubuh telah terdapat 85% senyawa purin untuk kebutuhan sehari-hari, yang

merupakan hasil penghancuran dari sel-sel yang sudah tua dan sintetis dari CO₂, glisin, asam aspartat, glutamin dan asam folat (Dalimartha, 2008). Hal ini menunjukkan bahwa kebutuhan purin dari makanan hanya 15% yang dapat diperoleh dari bahan makanan hewani maupun nabati seperti makanan laut, daging, biji-bijian, dan kacang-kacangan (Hamdani, 2011).

Senyawa purin yang berasal dari dalam tubuh dan dari bahan-bahan makanan di atas akan mengalami proses degradasi menjadi asam urat dengan adanya aktivitas dari enzim *xantin oksidase*. Tingginya senyawa purin yang didegradasi juga akan meningkatkan aktivitas enzim *xantin oksidase* sehingga dapat menyebabkan terganggunya keseimbangan produksi dan ekskresi asam urat yang berakibat tubuh mengalami kondisi yang dikenal dengan *gout*. Kondisi ini ditandai dengan konsentrasi asam urat dalam darah yang berlebih (hiperurisemia) dan mengakibatkan penumpukan kristal monosodium urat di daerah persendian sehingga menimbulkan gangguan nyeri (Umamaheswari, 2008 dan Hedigar, 2005).

Penanganan yang dapat dilakukan untuk kondisi hiperurisemia dan *gout* di atas adalah dengan meningkatkan ekskresi asam urat dari tubuh atau dengan menurunkan produksi asam urat, salah satunya adalah melalui mekanisme penghambatan aktivitas enzim *xantin oksidase*. Mekanisme ini dapat menghalangi proses pembentukan asam urat sehingga diharapkan dapat menjadi pendekatan terapeutik untuk pengobatan penyakit asam urat (Kong, 2000). Hal ini tentunya telah didukung dengan berkembangnya beberapa penelitian mengenai penghambatan aktivitas enzim *xantin oksidase* yang dilakukan secara *in vitro* maupun *in vivo*. Allopurinol merupakan salah satu obat sintetis yang telah digunakan dalam

mekanisme penghambatan aktivitas enzim *xantin oksidase* dengan bekerja sebagai inhibitor kompetitif bagi enzim *xantin oksidase* yang bertindak sebagai substrat pada reaksi enzimatik (Owen, 1998) sehingga mengakibatkan menurunnya produksi asam urat, namun Wilmana (2007) menyebutkan bahwa allopurinol memiliki efek samping dalam penggunaannya seperti reaksi kulit, reaksi alergi, dan gangguan saluran cerna.

Berkaitan dengan efek samping yang ditimbulkan oleh allopurinol dalam penggunaannya sebagai inhibitor enzim *xantin oksidase* maka beberapa penelitian penghambatan aktivitas enzim *xantin oksidase* juga telah dikembangkan dengan penggunaan bahan alam. Menurut Katno (2002) bahan alam memiliki kelebihan yaitu meskipun penggunaannya dalam waktu yang lama, namun memiliki efek samping yang relatif kecil sehingga dianggap lebih aman dibandingkan dengan bahan sintesis. Salah satu bahan alam yang dapat digunakan adalah beberapa tanaman yang di dalamnya terdapat kandungan senyawa kimia yang diduga berpotensi sebagai penghambat atau inhibitor aktivitas enzim *xantin oksidase*.

Tanaman yang dapat digunakan salah satunya adalah tanaman kacang tanah (*Arachis hypogaea* L.) yaitu salah satu jenis tanaman pertanian yang tersebar luas ditanam di Indonesia dan serbaguna karena hampir semua bagiannya dapat digunakan untuk berbagai kebutuhan manusia seperti, kebutuhan bahan pangan, bahan baku industri, dan sebagainya. Tanaman ini juga dapat dikatakan merupakan salah satu tanaman dalam penciptaan-Nya yang memiliki dua sisi berbeda dalam pemanfaatannya, seperti diketahui buahnya yang berbentuk polong digemari dan dikonsumsi, namun di dalamnya mengandung senyawa purin yang dapat

meningkatkan kadar asam urat dalam darah, sedangkan kulitnya telah dikembangkan dalam beberapa penelitian sebagai inhibitor aktivitas enzim *xantin oksidase* yang berguna untuk menurunkan kadar asam urat dalam darah. Hal ini menjadi suatu pembelajaran bagi manusia sebagaimana firman Allah SWT dalam Surat Adz-Dzariyaat (51) : 49,

وَمِن كُلِّ شَيْءٍ خَلَقْنَا زَوْجَيْنِ لَعَلَّكُمْ تَذَكَّرُونَ ﴿٥١﴾

Artinya: *dan segala sesuatu Kami ciptakan berpasang-pasangan supaya kamu mengingat kebesaran Allah SWT (Adz-Dzariyaat/ 51:49).*

Surat Adz-Dzariyaat ayat 49 di atas ditekankan pada kata (زوجين)

“berpasang-pasangan” dalam tafsir Jalalayn yang menyebutkan bahwa yang dimaksud berpasang-pasangan yakni dari dua jenis. Penafsiran lain dalam tafsir Maraghiy yang menjelaskan makna dari kata “berpasang-pasangan” yakni jodohmu yang berlainan dengannya dalam soal bentuk dan tujuannya. Masing-masing dari keduanya merupakan jodoh bagi yang lain, sesuatu dengan lawannya dan pasangan-pasangan dari setiap sesuatu. Dengan demikian ayat ini mengisyaratkan bahwa makna berpasang-pasangan atau dua jenis dalam hal ini yaitu pada tanaman kacang tanah (*Arachis hypogaea* L.) memiliki dua hal yang berlainan atau berlawanan satu sama lain antara bagian-bagian dan kegunaannya.

Dua hal tersebut dapat dijelaskan sebagaimana tanaman kacang tanah (*Arachis hypogaea* L.) memiliki bagian buah yang berbentuk polong dan di dalamnya terdapat kandungan purin dalam kategori sedang yaitu sebesar 108mg/100gr (Walker, 2007 dan Lingga, 2012). Kandungan basa purin yang terdapat di dalamnya antara lain seperti *adenin*, *hipoxantin*, *xantin* dan *guanin*

Clifford (2006). Kandungan purin tersebut yang kemudian dimetabolisme dalam tubuh menjadi asam urat oleh adanya aktivitas dari enzim *xantin oksidase*, namun perlu diketahui bahwa tanaman yang tergolong famili fabaceae (suku polong-polongan) dapat digunakan sebagai inhibitor enzim *xantin oksidase*, sebagaimana daun tanaman kacang Faba (*Vicia faba* L.) (Turco, 2016) dan *Lotus edulis* (Spanou, 2012). Begitupula ekstrak etanol 70% dari kulit ari dan kulit luar kacang tanah (*Arachis hypogaea* L.) yang mampu menghambat aktivitas enzim *xantin oksidase* berturut-turut sebesar 54,54% dan 63,64% (Dewi, 2013). Hal ini mendukung dilakukan penelitian penghambatan aktivitas enzim *xantin oksidase* pada bagian lain dari tanaman kacang tanah (*Arachis hypogaea* L.) yaitu daunnya sebagaimana pada kulit ari dan luar kacang tanah (*Arachis hypogaea* L.).

Daun kacang tanah (*Arachis hypogaea* L.) diketahui memiliki kandungan senyawa seperti phydroxbenzoic acid, caffeic acid, chlorogenic acid, ferulic acid, catechin, epicatechin, dan gallo catechingallate (Madikarni dalam Geetha, 2013). Senyawa-senyawa yang terkandung dalam daun kacang tanah (*Arachis hypogaea* L.) khususnya catechin, epicatechin, dan gallo catechingallate merupakan senyawa golongan flavonoid yang mampu berperan sebagai inhibitor enzim *xantin oksidase* (Aucamp dan Prabowo, 2007) dikarenakan struktur dari flavonoid khususnya yang memiliki ikatan rangkap pada atom C2=C3 dan keberadaan gugus hidroksil sebagai akseptor elektron dari enzim *xantin oksidase* serta gugus karbonil yang dapat membentuk ikatan hidrogen dalam berinteraksi dengan sisi aktif enzim *xantin oksidase* sebagai inhibitor (Lin, 2002).

Berkaitan dengan pernyataan di atas, penghambatan aktivitas enzim *xantin oksidase* dimungkinkan juga mampu dilakukan oleh ekstrak etanol daun kacang tanah (*Arachis hypogaea* L.) secara *in vitro* yang merupakan hasil proses maserasi menggunakan pelarut etanol 70%. Proses ini dilakukan dengan merendam sampel dalam pelarut etanol 70% yang memiliki tingkat kepolaran berbeda disertai dengan pengocokan untuk melemahkan membran dan dinding sel sehingga zat-zat yang terkandung di dalam sampel dapat terlarut (Harborne, 1987; Astuti, 2006). Pengujian penghambatan aktivitas enzim *xantin oksidase* secara *in vitro* dilakukan menggunakan metode spektrofotometri dengan mengukur nilai absorbansi yang menunjukkan produksi asam urat yang terbentuk (Spanou, 2012).

Penghambatan aktivitas enzim *xantin oksidase* dilakukan dengan menggunakan variasi perlakuan konsentrasi ekstrak etanol daun kacang tanah (*Arachis hypogaea* L.) yaitu 100, 50, 25, 20, 15, 10, dan 5 µg/ml. Pengujian juga dilakukan pada allopurinol sebagai pembanding dengan variasi perlakuan konsentrasi 100, 50, 20, 10, 7,5, 5, dan 2,5 µg/ml. Perlakuan tersebut bertujuan untuk mengetahui ada atau tidaknya perlakuan konsentrasi yang berpengaruh signifikan terhadap peningkatan persentase penghambatan aktivitas enzim *xantin oksidase* (Wahyu dan Azmi, 2012).

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang masalah di atas, dapat dikemukakan rumusan masalah sebagai berikut:

- 1.2.1 Apakah aktivitas enzim *xantin oksidase* mampu dihambat oleh ekstrak etanol daun kacang tanah (*Arachis hypogaea* L.) secara *in vitro* ?

1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah di atas, dapat dikemukakan tujuan dalam penelitian sebagai berikut:

1.3.1 Untuk mengetahui penghambatan aktivitas enzim *xantin oksidase* oleh ekstrak etanol daun kacang tanah (*Arachis hypogaea* L.) secara *in vitro*

1.4 Hipotesis Penelitian

Berdasarkan latar belakang dan rumusan masalah di atas, dapat dikemukakan hipotesis penelitian sebagai berikut:

1.4.1 Adanya penghambatan aktivitas enzim *xantin oksidase* oleh ekstrak etanol daun kacang tanah (*Arachis hypogaea* L.) secara *in vitro*

1.5 Manfaat Penelitian

Beberapa manfaat yang diharapkan peneliti dalam penelitian ini sebagai berikut :

1.5.1 Secara konseptual, menunjukkan bahwa aktivitas enzim *xantin oksidase* mampu dihambat oleh ekstrak etanol daun kacang tanah (*Arachis hypogaea* L.) secara *in vitro*

1.5.2 Secara teoritis, memberikan informasi ilmiah mengenai kemampuan ekstrak etanol daun kacang tanah (*Arachis hypogaea* L.) dalam menghambat aktivitas enzim *xantin oksidase* secara *in vitro*

1.5.3 Secara aplikatif, ekstrak etanol daun kacang tanah (*Arachis hypogaea* L.) dapat digunakan sebagai bahan obat dalam penyakit asam urat

1.6 Batasan Masalah

Untuk mendapatkan penelitian yang lebih terarah, maka penelitian ini perlu dibatasi sebagai berikut:

- 1.6.1 Pengujian aktivitas enzim *xantin oksidase* yang optimum dilakukan dengan penentuan panjang gelombang maksimum dari aktivitas enzim terlebih dahulu
- 1.6.2 Nilai absorbansi yang diperoleh menggunakan spektrofotometer UV-Vis menunjukkan produksi asam urat yang terbentuk dengan *xantin* sebagai substrat
- 1.6.3 Nilai absorbansi aktivitas enzim *xantin oksidase* tanpa penambahan ekstrak etanol daun kacang tanah (*Arachis hypogaea* L.) atau allopurinol yang diperoleh dianggap sebagai aktivitas enzim *xantin oksidase* 100% atau dalam perhitungan persentase disebut absorbansi kontrol dan absorbansi dengan penambahan ekstrak atau allopurinol dianggap absorbansi sampel

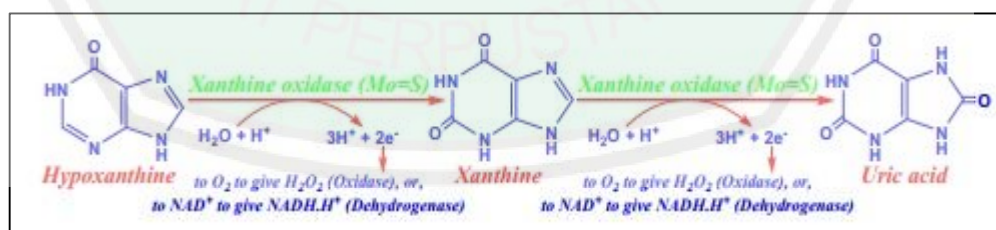
BAB II

KAJIAN PUSTAKA

2.1 Enzim *Xantin Oksidase*

2.1.1 Definisi Enzim dan *Xantin Oksidase*

Enzim adalah polimer biologis yang mengkatalisis reaksi kimia yaitu perubahan satu atau lebih senyawa (substrat) menjadi satu atau lebih senyawa lain (produk) dengan meningkatkan laju reaksi setidaknya 10^6 kali dibandingkan jika tidak dikatalisis. Enzim merupakan katalisis yang selektif dan sangat spesifik (Murray, 2006). *Xantin oksidase* adalah suatu kompleks enzim yang terdiri dari molekul-molekul protein yang tiap molekulnya tersusun atas 2 mol FAD, 2 mol atom Mo, dan 8 mol atom Fe. Enzim ini terdapat pada hati dan otot dalam tubuh manusia, dan berperan penting dalam katabolisme purin yakni mengoksidasi *hipoxantin* menjadi *xantin* dan selanjutnya menjadi asam urat (Gambar 2.1). Satu unit enzim *xantin oksidase* dapat mengkonversi satu μmol substrat (*xantin*) menjadi asam urat tiap satu menit pada pH optimum (pH 7.5) dan suhu optimum (25°C) (Umamaheswari, 2009).



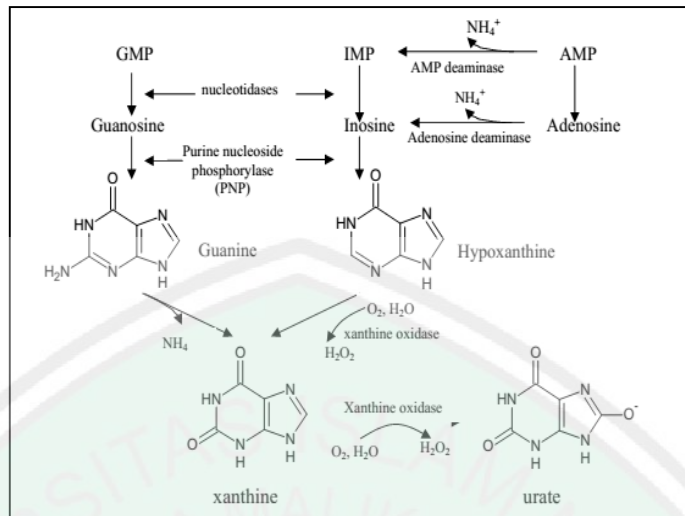
Gambar 2.1 *Xantin oksidase* Mengkonversi *Hipoxantin* dan *Xantin* menjadi Asam Urat (Sharma, 2012)

Selama proses oksidasi *xantin* membentuk asam urat, atom oksigen akan ditransfer dari molibdenum ke *xantin*. Perombakan pusat molibdenum yang aktif tersebut terjadi dengan adanya penambahan air (Cos, 1998), kemudian selama

proses oksidasi molekul, atom oksigen tersebut bertindak sebagai akseptor elektron yang menghasilkan radikal superoksida dan hidrogen peroksida (Ramdhani, 2004). Reaksi katalisis *xantin* oleh enzim *xantin oksidase* tersebut dapat mengakibatkan akumulasi asam urat ($xantin + O_2 + H_2O \rightarrow \text{asam urat} + H_2O_2$) (Owen, 1998).

2.1.2 Peran Enzim *Xantin Oksidase* dalam Sintesis Asam Urat

Enzim *xantin oksidase* merupakan enzim yang berperan dalam metabolisme purin yang berasal dari dalam tubuh (asam nukleat) dan juga dari luar tubuh (makanan dan minuman yang mengandung purin). Metabolisme purin tersebut menghasilkan produk akhir yaitu berupa adenilik acid (AMP: Adenosine Monophosphate), inosinik acid (IMP: Inosine Monophosphate), dan guanilik acid (GMP: Guanosine Monophosphate) yang dapat disintesa melalui sintesis secara de novo. Sintesis asam urat secara de novo berawal dari GMP yang didegradasi oleh enzim nukleotidase menjadi *guanosin*, kemudian *guanosin* didegradasi oleh fosforilase menjadi *guanin*. Selanjutnya *guanin* dideaminasi oleh guanin deaminase menjadi *xantin* yang dilanjutkan degradasi oleh enzim *xantin oksidase* menjadi asam urat. IMP didegradasi oleh nukleotidase menjadi inosin yang dilanjutkan degradasi oleh fosforilase menjadi *hipoxantin* dan didegradasi menjadi asam urat oleh enzim *xantin oksidase*. AMP dideaminasi oleh AMP deaminase menjadi IMP dan didegradasi oleh nukleotidase menjadi inosine yang dilanjutkan degradasi oleh fosforilase menjadi inosine. Inosine yang terbentuk didegradasi oleh enzim *xantin oksidase* menjadi *xantin*, kemudian *xantin* dikonversi menjadi asam urat oleh enzim *xantin oksidase* (Kelley, 1991).



Gambar 2.2 Metabolisme Purin Menjadi Asam Urat (Murray, 2006)

Asam urat dihasilkan pada metabolisme purin yang terjadi di hati dan usus halus akan dilepaskan ke dalam peredaran darah tubuh yang selanjutnya akan diekskresikan oleh ginjal bersama urin. Konsentrasi asam urat dalam darah sangat bervariasi, hal ini dipengaruhi oleh faktor genetik dan faktor lingkungan. Faktor umur dan jenis kelamin juga menentukan variasi nilai konsentrasi asam urat. Konsentrasi normal pada anak-anak 2-4 mg/dl, kemudian pada dewasa laki-laki 3-7 mg/dl, dan pada wanita yaitu 2-6 mg/dl. Konsentrasi asam urat dalam darah juga bergantung pada keseimbangan antara produksi dan ekskresinya. (Wisesa dan Suastika, 2009).

Terganggunya keseimbangan antara produksi asam urat dan ekskresinya oleh ginjal mengakibatkan konsentrasi asam urat dalam darah dapat melebihi batas normalnya (hiperurisemia) sehingga asam urat tetap berada dalam tubuh dan menumpuk di daerah persendian hingga menimbulkan peradangan (gout) (Kelley, 1991). Produksi asam urat meningkat dapat disebabkan oleh konsumsi makanan atau minuman dengan kadar purin yang tinggi, penyakit darah (penyakit sumsum

tulang, polistemia), obat-obatan (Wibowo, 2004), sehingga ginjal tidak mampu mengekskresikannya ke luar tubuh.

Pengobatan yang dilakukan terhadap kelainan asam urat seperti kondisi hiperurisemia (konsentrasi asam urat dalam darah melebihi batas normalnya) sementara ini dikelompokkan menjadi dua, yaitu pengobatan dengan pencegahan dengan menurunkan kadar asam urat, yang dikenal dengan obat urikosurik yaitu memperlancar ekskresi asam urat oleh tubuli ginjal, dan pengobatan dengan menggunakan obat urikostatik melalui mekanisme penghambatan aktivitas enzim *xantin oksidase* (Tehupeiory, 1996):

a. Obat Urikosurik

Mekanisme kerja obat urikosurik dalam pengobatan hiperurisemia adalah dengan menghambat reabsorpsi asam urat oleh tubuli ginjal, sehingga banyak asam urat yang dikeluarkan bersama urin. Untuk mencegah mengendapnya asam urat pada saluran kemih akibat konsentrasinya yang tinggi dalam urin, maka dianjurkan konsumsi minum air putih kurang lebih tiga liter perhari. Probenesoid dan sulfinpirazon merupakan contoh obat dari golongan urikosurik (Raharjo dan Tan, 2002).

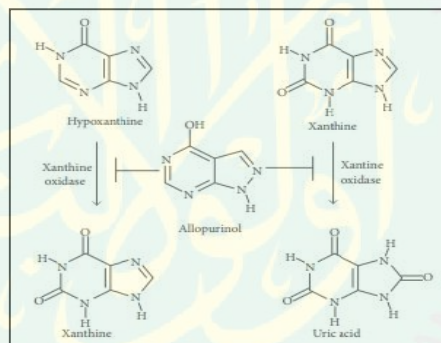
b. Obat Urikostatik

Mekanisme kerja obat urikostatik dalam pengobatan hiperurisemia adalah dengan menghambat aktivitas enzim *xantin oksidase* yang berperan dalam metabolisme *hipoxantin* menjadi *xantin* kemudian menjadi asam urat. Berdasarkan mekanisme tersebut, produksi asam urat akan berkurang dengan peningkatan *xantin* dan *hipoxantin* yang kemudian akan dibuang melalui ginjal. Allopurinol adalah

satu-satunya obat golongan urikostatik yang digunakan sampai saat ini (Raharjo dan Tan, 2002).

2.1.3 Allopurinol Sebagai Penghambat Enzim *Xantin Oksidase*

Allopurinol secara klinik digunakan sebagai penghambat enzim *xantin oksidase* dengan mekanisme penghambatan secara kompetitif karena allopurinol memiliki struktur yang hampir sama dengan *xantin* (substrat enzim *xantin oksidase*). Allopurinol mampu berikatan dengan enzim *xantin oksidase* pada sisi aktifnya dengan 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*.



Gambar 2.3 Penghambatan *Xantin oksidase* Oleh Allopurinol (Kostic, 2015)

Oleh karena itu, apabila dalam lingkungan terdapat inhibitor ini (allopurinol) bersama-sama dengan *xantin* (substrat), maka allopurinol yang akan lebih bereaksi dengan enzim *xantin oksidase* membentuk produk (oksinpurinol) dibandingkan dengan substratnya sendiri (*xantin*), sehingga efek penghambatan pembentukan asam urat dapat berlangsung terus selama masih terdapat allopurinol dalam lingkungan (Voet dan Pratt, 2008 dalam Ahmad, 2012). Penggunaan allopurinol akan tetapi menimbulkan banyak efek samping yang sering terjadi

seperti, reaksi kulit berupa kemerahan, reaksi alergi, dan gangguan pada saluran cerna (Wilmana, 2007).

Dengan demikian diharapkan adanya bahan alternatif yang memiliki efek samping lebih rendah sehingga lebih aman dan juga mampu memiliki penghambatan yang baik dalam penggunaannya sebagai inhibitor enzim *xantin oksidase*. Salah satu bahan alternatif yaitu dari tanaman dan beberapa yang sudah dilaporkan dan diduga memiliki kandungan senyawa sebagai penghambat enzim *xantin oksidase* antara lain, tanaman Rosella (*Hibiscus sabdariffa* Linn.) dan tanaman Ciplukan (*Physalis angulata*) (Yulianto, 2009), tanaman Sambiloto (*Andrographis paniculata*) (Wahyu, 2012), tanaman Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) (Kresnanugraha, 2012), tanaman Pletekan (*Ruellia tuberosa* L.) (Ahmad, 2012), daun Tempuyung (*Sonchus arvensis*) (Hendriani, 2014), buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.) dan buah Asam Gelugur (Dira, 2014), tanaman Sarang Semut (*Myrmecodia tuberosa*) (Ernawati, 2014), dan tanaman Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa*) (Yanti, 2016).

2.2 Tanaman Kacang Tanah (*Arachis hypogaea* L.) Sebagai Penghambat Enzim *Xantin Oksidase*

Shihab (2002) menyatakan bahwa manusia harus tetap berusaha mencari obat untuk mengobati setiap penyakit dan Allah SWT telah menyediakan alam beserta isinya untuk kemudian dapat dimanfaatkan. Dalam firman-Nya surat Asy-Syu'araa' (26): 7 Allah SWT telah memberi petunjuk sebagai berikut:

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَيْفَ أَخْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ﴿٧﴾

Artinya: “*dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya Kami tumbuhkan di bumi itu pelbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik*” (QS. Asy-Syu’araa’/26: 7).

Surat Asy-Syu’araa’ ayat 7 di atas ditekankan pada kata (زَوْجٌ) atau *zaujun*

yang memiliki arti macam dan kata (الْكَرِيمِ) atau *al-kariim* memiliki arti yang mulia dari segala sesuatu berarti yang diridai dan terpuji darinya (Maraghiy, 1993) dan sebagaimana Shihab (2002) juga menafsirkan kata (كَرِيمٌ) *karim* antara lain digunakan untuk menggambarkan segala sesuatu yang baik bagi setiap objek yang disifatinya. Dengan demikian, dalam hal ini tumbuhan yang baik paling tidak adalah yang subur dan bermanfaat seperti tanaman kacang tanah (*Arachis hypogaea* L.) yang memiliki berbagai kandungan senyawa aktif di dalamnya yang diduga berperan dalam menghambat aktivitas enzim *xantin oksidase*.

2.2.1 Morfologi dan Taksonomi Tanaman Kacang Tanah (*Arachis hypogaea* L.)

Satu diantara tanda-tanda bagi orang yang beriman yaitu diciptakan-Nya berbagai jenis tanaman, salah satunya adalah tanaman kacang tanah (*Arachis hypogaea* L.). Tanaman ini termasuk tanaman palawija yang membentuk polong dalam tanah dan berakar tunggang. Bagian tanaman yang tumbuh di atas tanah adalah batang utama yang tumbuh tegak dengan dua cabang utama yang tumbuh tegak atau menjalar. Tanaman kacang tanah (*Arachis hypogaea* L.) berdaun majemuk dengan tangkai daun agak panjang dan berbuah yang disebut dengan polong (Evander, 2011). Allah SWT telah menjelaskan dalam Surat Al-An’am (6): 99 sebagai berikut:

وَهُوَ الَّذِي أَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ نَبَاتَ كُلِّ شَيْءٍ فَأَخْرَجْنَا مِنْهُ خَضِرًا نُخْرِجُ مِنْهُ حَبًّا

مُتْرَاكِبًا وَمِنَ النَّخْلِ مِن طَلْعِهَا قِنْوَانٌ دَانِيَةٌ وَجَنَّاتٍ مِّنْ أَعْنَابٍ وَالزَّيْتُونَ وَالرُّمَّانَ مُشْتَبِهًا وَغَيْرَ

مُتَشَبِهٍ ۗ أَنْظُرُوا إِلَى ثَمَرِهِ إِذَا أَثْمَرَ وَيَنْعِهِ ۗ إِنَّ فِي ذَٰلِكُمْ لَآيَاتٍ لِّقَوْمٍ يُؤْمِنُونَ ﴿٩٩﴾

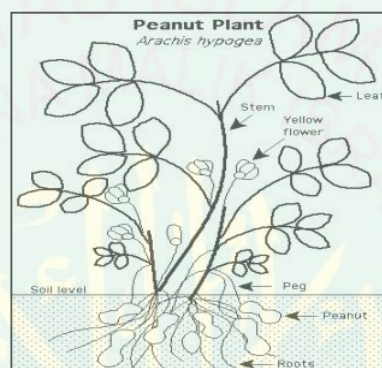
Artinya: “dan Dialah yang menurunkan air hujan dari langit, lalu Kami tumbuhkan dengan air itu segala macam tumbuh-tumbuhan maka Kami keluarkan dari tumbuh-tumbuhan itu tanaman yang menghijau. Kami keluarkan dari tanaman yang menghijau itu butir yang banyak; dan dari mayang korma mengurai tangkai-tangkai yang menjulai, dan kebun-kebun anggur, dan (Kami keluarkan pula) zaitun dan delima yang serupa dan yang tidak serupa. Perhatikanlah buahnya di waktu pohonnya berbuah dan (perhatikan pulalah) kematangannya. Sesungguhnya pada yang demikian itu ada tanda-tanda (kekuasaan Allah) bagi orang-orang yang beriman” (QS. Al-An’am/6:99).

Ayat di atas cukup menjelaskan karakteristik dari aspek morfologi suatu tanaman, dengan adanya kata “hijau” (خضرا) secara morfologi menunjukkan warna daun yang mayoritas berwarna hijau (Suyuthi, 2010) seperti halnya pada daun kacang tanah (*Arachis hypogaea* L.). Selanjutnya pada kata (حبا) yang berarti “butir” yang banyak menunjukkan seperti pada buah tanaman kacang tanah (*Arachis hypogaea* L.) yang berbentuk polong dan tiap polongnya berbiji 2-4 butir (Evander, 2011). Morfologi setiap tanaman menunjukkan ciri khas dari setiap tanaman tersebut. Selanjutnya, tanaman kacang tanah (*Arachis hypogaea* L.) memiliki klasifikasi sebagai berikut:

Kingdom : Plantae

Divisi : Spermatophyta

- Sub Divisi : Angiospermae
 Kelas : Rosidae
 Ordo : Fabales
 Famili : Fabaceae
 Genus : Arachis
 Spesies : *Arachis hypogaea* L. (Steenis, 2005)



Gambar 2.4 Morfologi Tanaman Kacang Tanah (*Arachis hypogaea* L.) (Geetha, 2013)

2.2.2 Kandungan dan Kegunaan

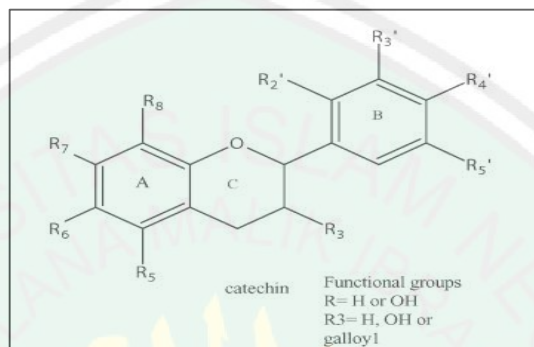
Secara umum tanaman kacang tanah (*Arachis hypogaea* L.) mengandung banyak nutrisi dan manfaat. Tanaman ini diketahui memiliki beberapa kandungan senyawa seperti, acid, arachin, lecithin, protein, flavonoid, beta-carotene, asam amino, mineral, lemak, karbohidrat, dan lain-lain. Tanaman kacang tanah (*Arachis hypogaea* L.) juga diketahui memiliki berbagai kegunaan dalam aktivitas farmakologis seperti diantaranya, sebagai antimikroba, antifungi, antivirus, antikanker, antihipersensitivitas, antimutagen, antiproliferatif, antioksidan dan antiinflamasi (Geetha, 2013).

Bagian tanaman kacang tanah (*Arachis hypogaea* L.) yaitu akarnya kaya akan senyawa antioksidan berupa resveratrol yang dapat dimanfaatkan sebagai bahan makanan dan bahan kosmetik. Resveratrol pada akar tanaman kacang tanah (*Arachis hypogaea* L.) tersebut mampu membantu mencegah kanker, menurunkan kolesterol, dan bermanfaat pada kesehatan jantung. Akar tanaman kacang tanah (*Arachis hypogaea* L.) juga mengandung senyawa asam caffeic yang merangsang akar rambut dan memperpanjang elastisitas kulit. Bagian lain yaitu buahnya kaya akan mineral dan vitamin yang bermanfaat bagi kesehatan, selain itu kulit dari buah kacang tanah (*Arachis hypogaea* L.) juga memiliki kandungan senyawa antioksidan membantu melindungi tubuh dari infeksi jamur dan radikal bebas. Bagian dari tanaman ini mengandung senyawa 5,7-dihydroxychromone (DHC) yang mampu menghambat pertumbuhan dari jamur patogen *Rhizoctonia solani* and *Sclerotium rolfsii*. Kulit kacang tanah (*Arachis hypogaea* L.) juga digunakan dalam beberapa industri seperti kosmetik, plastik, papan dinding dan lainnya (Geetha, 2013).

2.2.3 Daun Kacang Tanah (*Arachis hypogaea* L.) Sebagai Penghambat Enzim Xantin Oksidase

Daun kacang tanah (*Arachis hypogaea* L.) terdiri atas 42,2% karbohidrat, 25,4% kadar abu, 18% protein, 8,8% lemak, 4,6% kelembaban, dan 0,8% serat. Mengandung lebih dari 65% asam lemak diantaranya asam linoleat, asam palmitat, asam linolin, dan asam oleat. Daun kacang tanah (*Arachis hypogaea* L.) juga memiliki kandungan seperti beberapa mineral dan vitamin yaitu salah satunya berupa asam askorbat (Vitamin C) (Geetha, 2013). Daun kacang tanah (*Arachis hypogaea* L.) juga dilaporkan memiliki aktivitas antioksidan yang cukup tinggi. Beberapa kandungan senyawa yang berperan di dalamnya antara lain,

phydroxybenzoic acid, caffeic acid, chlorogenic acid, ferulic acid, catechin, epicatechin, dan gallo catechingallate (Madikarni *dalam* Geetha, 2013). Senyawa-senyawa tersebut tergolong kelompok phenolic acid dan flavonoid yang mampu memberikan efek penghambatan terhadap aktivitas enzim *xantin oksidase*.



Gambar 2.5 Struktur Catechin (Van Hoorn, 2002)

Prabowo (2007) menyatakan bahwa senyawa catechin memiliki aktivitas kerja yang mirip dengan allopurinol yang berperan menghambat aktivitas kerja enzim *xantin oksidase* sehingga pembentukan asam urat yang berlebihan dapat dihentikan. Senyawa epicatechin, dan gallo catechingallate (Aucamp, 2007) juga dilaporkan dapat menghambat aktivitas enzim *xantin oksidase* melalui mekanisme penghambatan nonkompetitif. Hal itu dapat terjadi dikarenakan senyawa-senyawa tersebut tergolong kelompok flavonoid, yang menurut Cos (1998) bahwa kandungan senyawa kelompok flavonoid pada suatu tanaman mampu memberikan efek menghambat aktivitas enzim *xantin oksidase* melalui mekanisme inhibisi kompetitif dan interaksi pada gugus samping. Hal tersebut dikarenakan senyawa-senyawa tersebut memiliki gugus hidroksil sebagai akseptor elektron dari enzim *xantin oksidase*. Struktur flavonoid dengan keberadaan gugus hidroksil pada atom C-5 atau C-7 dan adanya ikatan rangkap antara C2=C3 memungkinkan terjadi

reaksi adisi (oksidase oleh *xantin oksidase*) sehingga cincin B menjadi *co-planar* terhadap cincin A dan C.

2.3 Ekstraksi dengan Pelarut Etanol 70%

Ekstraksi adalah penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut dengan pelarut cair. Biasanya bahan yang diekstraksi atau dikenal dengan simplisia mengandung senyawa aktif yang dapat larut dan senyawa yang tidak dapat larut seperti serat, karbohidrat dan lain-lain (Departemen Kesehatan RI, 2000). Untuk memperoleh hasil yang sesuai cara ekstraksi perlu dilakukan dengan tepat yang bergantung pada susunan jaringan, kandungan air, bahan tanaman, dan jenis zat yang akan diekstraksi (Herwandi, 1991). Ekstraksi dapat digunakan dengan cara panas atau cara dingin dan yang umum digunakan adalah cara dingin, yaitu dikenal dengan maserasi atau bisa disebut juga perendaman (Harborne, 1987).

Maserasi merupakan cara ekstraksi yang sederhana dengan cara memendam serbuk simplisia dalam pelarut. Penekanan utama dalam metode ini adalah tersedianya waktu kontak yang cukup antara pelarut dengan jaringan yang diekstraksi. Pelarut akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif sehingga zat aktif akan dapat larut. Karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel, maka larutan yang terpekat akan di desak ke luar sel (Ahmad, 2006 *dalam* Puzi, 2015).

Pemilihan pelarut yang akan digunakan dalam metode ekstraksi menjadi salah satu faktor penting dalam hasil ekstrak yang akan diperoleh atau yang diinginkan, yang kemudian membantu untuk analisis selanjutnya seperti analisis

fitokimia senyawa yang terdapat dalam suatu ekstrak tersebut. Pelarut etanol 70% adalah campuran dua bahan pelarut yaitu etanol dan air dengan kadar etanol 70% (v/v). Pelarut etanol tidak menyebabkan pembengkakan pada membran sel dan mampu memperbaiki stabilitas bahan yang terlarut (Voight, 1994).

Pelarut etanol 70% digunakan dalam penelitian ini dikarenakan pelarut tersebut merupakan pelarut serbaguna yang sangat baik untuk metode ekstraksi pendahuluan karena dapat menarik senyawa-senyawa yang memiliki tingkat kepolaran berbeda (Harborne, 1987). Keberadaan air dalam pelarut tersebut akan membantu mengekstraksi senyawa-senyawa yang bersifat polar, sedangkan etanol yang memiliki rantai hidrokarbon pendek akan membantu dalam mengekstraksi senyawa-senyawa yang cenderung bersifat nonpolar. Etanol 70% juga mampu mengekstrak senyawa polifenol dan senyawa flavonoid lebih banyak dibandingkan menggunakan pelarut etanol dengan kemurnian yang tinggi (Bimakr, 2010).

2.4 Spektrofotometer UV-Vis

Spektrofotometer UV-Vis adalah alat yang digunakan untuk mengukur serapan yang dihasilkan dari interaksi kimia antara radiasi elektromagnetik dengan molekul atau atom dari suatu zat kimia pada daerah UV-Vis. Prinsip kerjanya adalah mengukur jumlah cahaya yang diabsorpsi atau ditransmisikan oleh molekul-molekul dalam larutan. Ketika panjang gelombang cahaya ditransmisikan melalui larutan, sebagian energi cahaya tersebut akan diserap (diabsorpsi). Besarnya kemampuan molekul-molekul zat terlarut untuk mengasorpsi cahaya pada panjang gelombang tertentu disebut dengan istilah absorbansi (A), yang setara dengan nilai konsentrasi larutan tersebut dan panjang berkas cahaya yang dilalui (Vimala, 2003).

Alat ini biasanya digunakan untuk analisa kualitatif dan kuantitatif, untuk analisa kualitatif yang perlu diperhatikan adalah membandingkan panjang gelombang (λ) maksimum, besar serapan, dan spektrum serapannya. Pengukuran serapan dapat dilakukan pada panjang gelombang daerah ultraviolet (190–380 nm) atau pada panjang gelombang daerah cahaya tampak (380–780 nm). Terdapat beberapa faktor yang mempengaruhi munculnya spektrum serapan pada analisa secara spektrofotometri, diantaranya adalah jenis pelarut yang digunakan, pH larutan, kadar larutan (jika konsentrasi tinggi akan terjadi polimerisasi yang menyebabkan panjang gelombang maksimum berubah), dan tebal kuvet yang digunakan (Vimala, 2003).

Pemilihan pelarut yang digunakan dalam spektrofotometri UV-Vis juga sangat penting, dimana pelarut tidak boleh mengabsorpsi cahaya pada daerah panjang gelombang dimana dilakukan pengukuran sampel. Pelarut yang tidak mengandung sistem terkonjugasi umumnya sesuai untuk digunakan dalam spektrofotometer UV-Vis diantaranya adalah air, etanol, metanol, dan n-heksana, karena pelarut-pelarut tersebut transparan pada daerah ultraviolet (Harmita, 2006).

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian tentang penghambatan aktivitas enzim *xantin oksidase* oleh ekstrak etanol daun kacang tanah (*Arachis hypogaea* L.) ini merupakan penelitian eksperimental menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan 7 taraf perlakuan konsentrasi sampel uji dengan 3 ulangan. Perlakuan konsentrasi ekstrak etanol daun kacang tanah (*Arachis hypogaea* L.) yang digunakan yaitu: 100 µg/ml, 50 µg/ml, 25 µg/ml, 20 µg/ml, 15 µg/ml, 10 µg/ml, dan 5 µg/ml. Pengujian juga dilakukan pada allopurinol sebagai pembanding dengan perlakuan konsentrasi yaitu: 100 µg/ml, 50 µg/ml, 20 µg/ml, 10 µg/ml, 7,5 µg/ml, 5 µg/ml, dan 2,5 µg/ml.

3.2 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilakukan pada bulan November – Desember 2016, bertempat di Laboratorium Genetika Jurusan Biologi dan Laboratorium Kimia Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

3.3 Alat dan Bahan

3.3.1 Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah tabung reaksi, gelas ukur, beaker glass, erlenmeyer, botol flakon, batang pengaduk, spatula, aluminium foil, kertas label, tisu, timbangan analitik, oven, blender, ayakan 60 mesh, *rotary vacuum evaporator*, mikropipet, blue tip, pH meter, vortex, inkubator, Spektrophotometer UV-Visible Cary50 Conc, kuvet.

3.3.2 Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun kacang tanah (*Arachis hypogaea* L.), etanol 70%, aquades, air suling demineralisatasata bebas CO₂ (aquabides), DMSO 99,9%, asam klorida (HCl), natrium hidroksida (NaOH), buffer sodium phosphate, allopurinol, substrat *xantin* X06626-5G (Sigma 99,5%), enzim *xantin oksidase* (Roche).

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Proses Ekstraksi

Pembuatan ekstrak etanol daun kacang tanah (*Arachis hypogaea* L.) dilakukan melalui tahapan sebagai berikut, disiapkan daun kacang tanah (*Arachis hypogaea* L.) dan dilakukan penyortiran daun dengan diambil yang terbaik. Daun kacang tanah (*Arachis hypogaea* L.) yang telah disortir kemudian dicuci dengan air mengalir dan dikeringkan dengan menggunakan oven yang bersuhu $\pm 40^{\circ}\text{C}$ selama 2x24 jam hingga menjadi simplisia selanjutnya dihaluskan menggunakan blender dan diayak dengan ayakan ukuran 60 mesh. Setelah diperoleh serbuk simplisia daun kacang tanah (*Arachis hypogaea* L.) yang halus dan seragam, selanjutnya masuk pada proses ekstraksi, diawali dengan proses maserasi dengan pelarut etanol 70%.

Simplisia daun kacang tanah (*Arachis hypogaea* L.) tersebut direndam menggunakan 300 ml pelarut etanol 70% selama 24 jam dan diaduk menggunakan shaker selama 3 jam, kemudian disaring. Proses tersebut diulangi hingga diperoleh filtrat yang bening. Filtrat ekstrak yang diperoleh dipisahkan dengan *rotary vacuum evaporator* hingga menjadi ekstrak pekat kemudian ditimbang sampai diperoleh

berat konstan untuk meyakinkan bahwa pelarut telah menguap dan didiamkan selama minimal 2 hari dengan ditutup aluminium foil.

3.4.2 Pembuatan Larutan Pereaksi

3.4.2.1 Pembuatan Larutan DMSO 1%

Larutan DMSO 1% dibuat dengan diambil sebanyak 1,005 ml larutan DMSO 99,9% dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer kemudian dilarutkan ke dalam air suling demineralisaisata bebas CO₂ (aquabides) hingga volume mencapai 100 ml dan dihomogenkan.

3.4.2.2 Pembuatan Larutan Asam Klorida (HCl) 0,5 M

Larutan HCl 0,5 M dibuat dengan diambil sebanyak 4,15 ml larutan HCl pekat dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer kemudian dilarutkan ke dalam air suling demineralisaisata bebas CO₂ (aquabides) hingga volume mencapai 100 ml dan dihomogenkan.

3.4.2.3 Pembuatan Larutan Natrium Hidroksida (NaOH) 1 M

Larutan NaOH 1 M dibuat dengan ditimbang sebanyak 4 gram NaOH kemudian dimasukkan ke dalam beaker glass 100 ml. dilarutkan NaOH dengan aquades 20 ml dan ditunggu sampai dingin. Setelah dingin dimasukkan larutan NaOH ke dalam erlenmeyer dan ditambahkan aquades sampai volume tanda batas 100 ml.

3.4.2.4 Pembuatan Larutan Buffer Sodium Phosphate pH 7,5

Larutan Buffer Sodium Phosphate pH 7,5 dibuat dengan disiapkan larutan stok terlebih dahulu. Larutan stok A adalah larutan Potassium Dihydrogen Phosphate (KH₂PO₄) dan larutan stok B adalah larutan Di-Potassium Hydrogen Phosphate

Trihydrate ($K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$). Larutan stok A dibuat dengan ditimbang sebanyak 0,6804 gram KH_2PO_4 dan dimasukkan ke dalam beaker glass kemudian dilarutkan dengan air suling demineralisaisata bebas CO_2 (aquabides) sebanyak 100 ml dan dihomogenkan. Larutan stok B dibuat dengan ditimbang sebanyak 0,57 gram $K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$ dan dimasukkan ke dalam beaker glass kemudian dilarutkan dengan aquabides sebanyak 100 ml dan dihomogenkan.

Selanjutnya untuk didapatkan larutan buffer sodium phosphate pH 7,5 yang diperlukan adalah diambil sebanyak 15,9 ml larutan stok A (KH_2PO_4) kemudian ditambahkan larutan stok B ($K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$) sebanyak 84,1 ml dan dimasukkan ke dalam beaker glass 200 ml kemudian dihomogenkan. Campuran larutan stok A dan B kemudian dicukupkan volumenya hingga mencapai 200 ml dengan ditambahkan air suling demineralisaisata bebas CO_2 (aquabides) dan dihomogenkan. Campuran larutan yang sudah homogen selanjutnya dilakukan pengukuran nilai pH (derajat keasaman) mencapai 7,5 menggunakan pH meter.

3.4.3 Pembuatan Larutan Substrat *Xantin* 0,15 mM

Substrat *xantin* 99,5% memiliki BM 152,11 g/mol kemudian pada penelitian ini diperlukan substrat *xantin* 0,15 mM sehingga diperoleh perhitungan: $0,15 \text{ mM} = 0,15 \text{ mmol/liter}$, maka $(0,15 \times 10^{-3} \times 152,11) / 0,995 = 0,0228165 / 0,995 = 0,02293116 \text{ mg per } 1000 \text{ ml}$.

Larutan substrat *xantin* 0,15 mM dibuat dengan ditimbang sebanyak 0,5733 mg substrat *xantin* dan dimasukkan ke dalam beaker glass 50 ml kemudian dilarutkan dengan beberapa (5) tetes NaOH 1M. Larutan substrat *xantin* kemudian

dicukupkan volumenya dengan ditambahkan larutan buffer sodium phosphate pH 7,5 hingga 25 ml.

3.4.4 Pembuatan Larutan Enzim *Xantin Oksidase* 0,2U/ml

Larutan stok enzim *xantin oksidase* yaitu 20U/855 μ l kemudian diperlukan 0,2 U/ml enzim *xantin oksidase* dalam 10 ml sehingga diperoleh perhitungan: $0,2\text{U/ml} \times 10\text{ ml} = 2\text{ unit}$, kemudian $2\text{U/ml} \times 20\text{ U}/855\ \mu\text{l} = 85,5\ \mu\text{l}$. Larutan enzim *xantin oksidase* dibuat dengan diambil sebanyak 85,5 μ l larutan stok enzim *xantin oksidase* dan dimasukkan ke dalam gelas ukur 10 ml kemudian dilarutkan dengan larutan buffer sodium phosphate hingga 10 ml.

3.4.5 Pembuatan Larutan Uji

3.4.5.1 Pembuatan Larutan Sampel Ekstrak

Larutan uji sampel ekstrak dibuat dengan berbagai konsentrasi untuk mendapatkan $\text{IC}_{50\%}$, yaitu ditimbang sebanyak 10 mg ekstrak etanol daun kacang tanah (*Arachis hypogaea* L.) dan dimasukkan ke dalam beaker glass, ditambahkan dengan beberapa tetes DMSO hingga larut kemudian dilarutkan dengan larutan buffer sodium phosphate pH 7,5 hingga 10 ml dan diperoleh larutan stok dengan konsentrasi 1000 $\mu\text{g/ml}$. Larutan stok uji sampel ekstrak kemudian diencerkan hingga diperoleh konsentrasi 100 $\mu\text{g/ml}$, 50 $\mu\text{g/ml}$, 25 $\mu\text{g/ml}$, 20 $\mu\text{g/ml}$, 15 $\mu\text{g/ml}$, 10 $\mu\text{g/ml}$, dan 5 $\mu\text{g/ml}$.

3.4.5.2 Pembuatan Larutan Allopurinol

Larutan uji allopurinol dibuat dengan berbagai konsentrasi untuk mendapatkan $\text{IC}_{50\%}$, yaitu ditimbang sebanyak 1 mg allopurinol dan dimasukkan ke dalam beaker glass kemudian dilarutkan dengan aquades hingga 10 ml dan

diperoleh larutan stok dengan konsentrasi 100 µg/ml. Larutan stok uji allopurinol kemudian diencerkan hingga diperoleh konsentrasi 50 µg/ml, 20 µg/ml, 10 µg/ml, 7,5 µg/ml, 5 µg/ml, dan 2,5 µg/ml.

3.4.6 Uji Penghambatan Enzim *Xantin Oksidase*

Pengujian penghambatan aktivitas enzim *xantin oksidase* dilakukan dengan pengukuran panjang gelombang maksimum pada aktivitas enzim *xantin oksidase* yang optimum terlebih dahulu. Hal ini dilakukan dengan disiapkan larutan buffer sodium phosphate pH 7,5 sebanyak 1,5 ml yang dimasukkan ke dalam botol flakon, lalu ditambahkan dengan 300 µl aquabides kemudian divortex selama beberapa menit hingga homogen dan dipreinkubasi pada suhu 37°C selama 15 menit. Setelah preinkubasi selesai ditambahkan 600 µl substrat *xantin* dan divortex lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit. Setelah inkubasi selesai segera ditambahkan 600 µl HCl 0,5 M untuk menghentikan reaksi kemudian diamati absorbansi menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang (λ) kisaran 260-300 nm. Absorbansi yang diperoleh merupakan absorbansi kontrol blanko enzim *xantin oksidase*.

Selanjutnya pengujian dilakukan dengan disiapkan larutan buffer sodium phosphate pH 7,5 sebanyak 1,2 ml yang dimasukkan ke dalam botol flakon, lalu ditambahkan dengan 300 µl larutan *xantin oksidase* dalam buffer sodium phosphate dan ditambahkan 300 µl aquabides kemudian divortex selama beberapa menit hingga homogen dan dipreinkubasi pada suhu 37°C selama 15 menit. Setelah preinkubasi selesai ditambahkan 600 µl substrat *xantin* dan divortex lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit. Setelah inkubasi selesai segera

ditambahkan HCl 0,5 M untuk menghentikan reaksi kemudian diamati absorbansi menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang (λ) kisaran 260-300 nm. Absorbansi yang diperoleh merupakan absorbansi blanko enzim *xantin oksidase*.

Setelah tahapan di atas maka diperoleh aktivitas optimum enzim pada panjang gelombang maksimum (λ) yaitu 284 nm yang selanjutnya digunakan pada pengujian penghambatan aktivitas enzim *xantin oksidase* oleh sampel uji. Tahapan di atas kemudian diulangi untuk dilakukan pengujian penghambatan aktivitas enzim *xantin oksidase* oleh sampel uji yaitu dengan ditambahkan masing-masing 300 μ l larutan sampel uji (ekstrak etanol daun kacang tanah (*Arachis hypogaea* L.) atau allopurinol). Absorbansi yang diamati menggunakan spektrofotometer merupakan absorbansi sampel dan digunakan dalam perhitungan persentase penghambatan di bawah ini:

$$\% \text{ Penghambatan} = \frac{\text{Absorbansi blanko} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi blanko}} \times 100\% \quad (\text{Putri, 2016})$$

Keterangan: Absorbansi blanko adalah besar serapan aktivitas enzim *xantin oksidase* tanpa penambahan sampel uji, sedangkan absorbansi sampel merupakan besar serapan aktivitas enzim *xantin oksidase* dengan penambahan sampel uji.

3.5 Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis deskriptif berdasarkan nilai rata-rata berupa persentase penghambatan aktivitas enzim *xantin oksidase* dan dibandingkan dengan literatur penelitian sebelumnya.

BAB IV

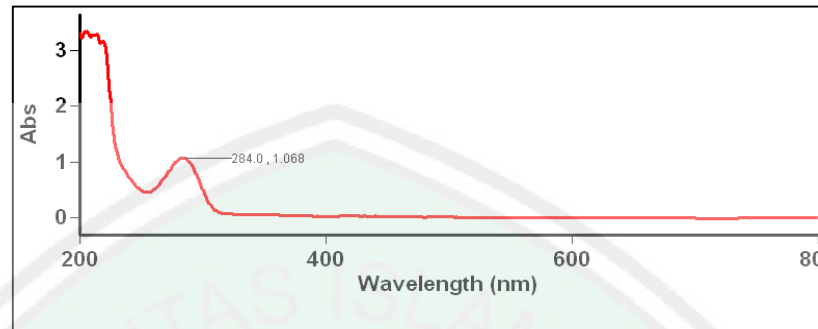
HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Penghambatan Aktivitas Enzim *Xantin Oksidase*

Xantin oksidase merupakan sebuah kelompok enzim yang berperan pada proses degradasi purin dalam tubuh, yaitu dengan mengkatalisis reaksi enzimatik senyawa *hipoxantin* menjadi *xantin* kemudian *xantin* menjadi asam urat dengan *xantin* sebagai substratnya. Penghambatan aktivitas enzim *xantin oksidase* pada penelitian ini dilakukan secara *in vitro* dengan prinsip mengukur jumlah asam urat yang terbentuk dari reaksi enzimatik dan secara spektrofotometri (Umamaheswari, 2007) serta menentukan kondisi optimum enzim yaitu dengan mengukur panjang gelombang maksimum dari aktivitas enzim *xantin oksidase*.

Data hasil pengukuran panjang gelombang maksimum yang dilakukan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang (λ) antara 260–300 nm, diperoleh panjang gelombang maksimum 284 nm. Panjang gelombang yang didapat sesuai dengan pengukuran produk akhir yaitu asam urat, karena asam urat merupakan senyawa yang memiliki gugus kromofor kuat. Gugus kromofor adalah semua gugus atau atom dalam senyawa organik yang mampu menyerap sinar ultraviolet dan sinar tampak (Gandjar, 2008). Hasil panjang gelombang yang diperoleh juga tidak berbeda jauh dengan hasil beberapa penelitian sebelumnya yaitu panjang gelombang maksimum (λ) 281,5 nm (Dewi, Kresnanugraha, dan Saputra, 2012) dan 283 nm (Yanti, 2016).

Adapun hasil panjang gelombang maksimum dari aktivitas enzim *xantin oksidase* yang optimum pada penelitian ini ditunjukkan pada grafik 4.1 berikut ini:



Grafik 4.1 Spektrum Uv-Vis Panjang Gelombang Maksimum Aktivitas Enzim *Xantin Oksidase*

Grafik 4.1 di atas menunjukkan aktivitas enzim *xantin oksidase* yang mencapai puncak optimum pada panjang gelombang (λ) maksimumnya yaitu 284 nm dengan nilai absorbansi atau serapan sebesar 1,068. Nilai serapan tersebut menggambarkan produk asam urat yang terbentuk. Menurut Murray (2006), jika produk yang terbentuk lebih banyak maka akan menunjukkan aktivitas paling optimum, sehingga pada penelitian ini panjang gelombang maksimum yang diperoleh digunakan sebagai panjang gelombang untuk pengujian penghambatan aktivitas enzim *xantin oksidase* pada sampel uji dan tanpa sampel uji.

Pengujian aktivitas enzim *xantin oksidase* 100 % diperoleh dengan dilakukan pengujian penghambatan aktivitas enzim tanpa sampel uji yang diperoleh dari 3 ulangan pengukuran pada spektrofotometer. Hal ini bertujuan untuk melihat pengaruh penghambatan sampel uji pada aktivitas enzim. Hasil pada penelitian ditunjukkan dengan rata-rata nilai absorbansi yang diperoleh sebesar 0,3436 (Lampiran 1). Nilai absorbansi tersebut dianggap sebagai nilai absorbansi kontrol (tanpa penambahan sampel uji) pada perhitungan persentase penghambatan

aktivitas enzim *xantin oksidase* dengan penambahan sampel uji yaitu allopurinol dan ekstrak etanol daun kacang tanah (*Arachis hypogaea* L.).

4.1.1 Penghambatan Aktivitas Enzim *Xantin Oksidase* Oleh Allopurinol

Pengujian penghambatan aktivitas enzim *xantin oksidase* oleh allopurinol dengan perlakuan konsentrasi (100, 50, 20, 10, 7,5, 5, dan 2,5 $\mu\text{g/ml}$) dan 3 pengulangan dilakukan untuk melihat pengaruh penambahan konsentrasi pada peningkatan daya penghambatan. Hasil pengujian menunjukkan bahwa nilai absorbansi aktivitas enzim *xantin oksidase* dengan penambahan allopurinol pada spektrofotometer menurun dan lebih kecil dibandingkan nilai absorbansi pada aktivitas enzim *xantin oksidase* 100 % (tanpa penambahan sampel uji) (Lampiran 1). Berdasarkan hasil absorbansi tersebut, maka dapat diperoleh persentase penghambatan aktivitas enzim *xantin oksidase* oleh allopurinol yang cukup besar. Adapun hasil dapat dilihat pada tabel 4.1 di bawah ini:

Tabel 4.1 Penghambatan Aktivitas Enzim *Xantin Oksidase* Oleh Allopurinol \pm SD

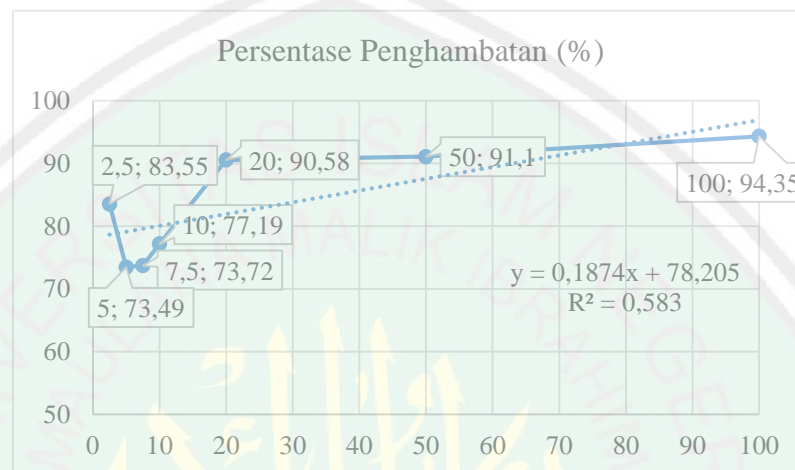
Konsentrasi Allopurinol ($\mu\text{g/ml}$)	Persentase Penghambatan (%) \pm SD ^a
5	73,49 \pm 5,95
7,5	73,72 \pm 0,15
10	77,19 \pm 0,79
2,5	83,55 \pm 0,20
20	90,58 \pm 0,34
50	91,10 \pm 4,30
100	94,35 \pm 2,17

Keterangan: ^a Penghambatan aktivitas enzim (%) diperoleh berdasarkan pada tiga pengulangan dari setiap perlakuan. Hasil ditampilkan dalam nilai rata-rata \pm SD

Berdasarkan tabel 4.1 menunjukkan bahwa semakin meningkat konsentrasi allopurinol yang diberikan maka persentase penghambatan yang diperoleh semakin besar atau sebaliknya (linear). Akan tetapi, tidak pada konsentrasi 2,5 µg/ml yang mempunyai persentase penghambatan lebih besar dibandingkan konsentrasi 5; 7,5 dan 10 µg/ml. Hal tersebut dimungkinkan disebabkan pada penelitian ini terdapat perbedaan dalam perlakuan pengenceran konsentrasi, sebagaimana berdasarkan penelitian sebelumnya yang juga menunjukkan beberapa perbedaan hasil pada konsentrasi tertentu seperti oleh Ernawati (2014) dengan konsentrasi 2,5 µg/ml persentase penghambatan yang diperoleh sebesar 42,71 %, namun hasil penelitian lain menunjukkan bahwa konsentrasi allopurinol 0,5 hingga 2 µg/ml sudah mampu menghambat aktivitas enzim *xantin oksidase* dengan rentang nilai 59 hingga 93,41 % (Dewi, Kresnanugraha, Saputra, 2012; Yanti, 2016) sehingga dalam hal ini faktor pengenceran atau penurunan konsentrasi menjadi penting untuk memperoleh pola penghambatan yang linear.

Hasil persentase penghambatan yang cukup besar pada penelitian ini juga memungkinkan diperoleh hasil IC_{50} % yang bernilai negatif dengan persamaan regresi yang diperoleh pada grafik linear antara konsentrasi allopurinol dengan rerata persentase penghambatan yaitu $y = 0,1874x + 78,205$ (Grafik 4.2). Hal tersebut dimungkinkan disebabkan konsentrasi allopurinol yang digunakan pada penelitian ini cukup besar sehingga perlu dilakukan penurunan konsentrasi allopurinol, sebagaimana beberapa penelitian sebelumnya yang juga melakukan penurunan konsentrasi allopurinol menjadi 0,1 hingga 2,0 µg/ml (Kresnanugraha, Saputra, Dewi, dan Lestari, 2012) untuk dapat diperoleh nilai IC_{50} %. Hal ini juga

sesuai dengan Saputra (2012) yang menyatakan beberapa perbedaan nilai IC_{50} % allopurinol yang diperoleh dimungkinkan disebabkan karena adanya perbedaan perhitungan satuan konsentrasi, variasi konsentrasi pengujian, dan asal dari bahan yang digunakan tersebut (allopurinol).



Grafik 4.2 Kurva Regresi Linear Konsentrasi Allopurinol terhadap Persentase Penghambatan Aktivitas Enzim *Xantin Oksidase*

Aktivitas enzim *xantin oksidase* yang mampu dihambat oleh allopurinol pada penelitian ini didukung oleh pernyataan Voet dan Pratt (2008) dalam Ahmad (2012) bahwa allopurinol merupakan inhibitor kompetitif bagi enzim *xantin oksidase* dengan memiliki struktur hampir sama dengan *xantin* (substrat) yang mampu berikatan dengan enzim *xantin oksidase* pada sisi aktifnya dan membentuk ikatan kombinasi yang terdiri dari ikatan kovalen, elektrostatik, dan hidrogen. Allopurinol juga diketahui memiliki afinitas puluhan kali lebih kuat terhadap enzim *xantin oksidase* dibandingkan *xantin* sehingga apabila dalam lingkungan terdapat inhibitor ini bersama-sama dengan *xantin* (substrat), maka allopurinol yang akan lebih bereaksi dengan enzim *xantin oksidase* membentuk produk (oksipurinol)

dibandingkan dengan substratnya sendiri sehingga aktivitas enzim *xantin oksidase* akan menurun dan asam urat yang terbentuk juga sedikit.

4.1.2 Penghambatan Aktivitas Enzim *Xantin Oksidase* Oleh Ekstrak Etanol Daun Kacang Tanah (*Arachis hypogaea* L.)

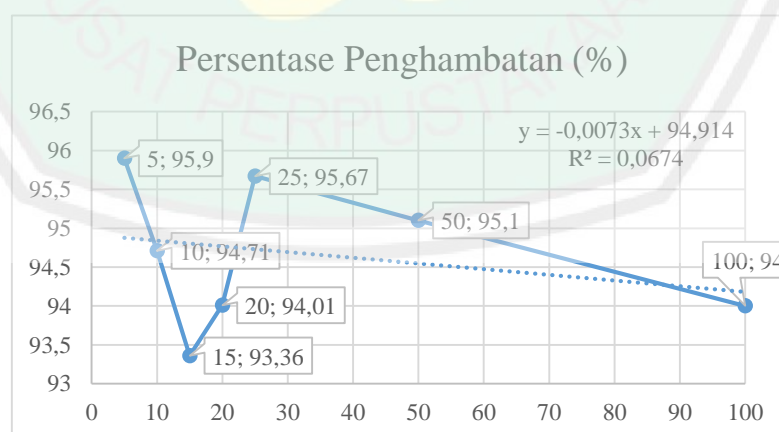
Pengujian penghambatan aktivitas enzim *xantin oksidase* oleh ekstrak etanol daun kacang tanah (*Arachis hypogaea* L.) dengan perlakuan konsentrasi yaitu 100, 50, 25, 20, 15, 10, dan 5 $\mu\text{g/ml}$ dan 3 pengulangan dilakukan untuk melihat pengaruh penambahan konsentrasi pada peningkatan daya penghambatan. Hasil pengujian menunjukkan bahwa nilai absorbansi aktivitas enzim *xantin oksidase* dengan penambahan ekstrak pada spektrofotometer menurun dan lebih kecil dibandingkan nilai absorbansi pada aktivitas enzim *xantin oksidase* 100 % (tanpa penambahan sampel uji) (Lampiran 1). Berdasarkan hasil absorbansi tersebut, maka dapat diperoleh persentase penghambatan aktivitas enzim *xantin oksidase* oleh ekstrak etanol daun kacang tanah (*Arachis hypogaea* L.) pada tabel 4.2 di bawah ini:

Tabel 4.2 Penghambatan Aktivitas Enzim *Xantin Oksidase* Oleh Ekstrak Etanol Daun Kacang Tanah (*Arachis hypogaea* L.) \pm SD

Konsentrasi Ekstrak ($\mu\text{g/ml}$)	Persentase Penghambatan (%) \pm SD ^a
100	94,00 \pm 0,71
50	95,10 \pm 1,22
25	95,67 \pm 0,62
20	94,01 \pm 0,34
15	93,36 \pm 0,81
10	94,71 \pm 0,89
5	95,90 \pm 3,37

Tabel 4.2 menunjukkan perlakuan konsentrasi bahwa ekstrak etanol daun kacang tanah (*Arachis hypogaea* L.) memberikan efek penghambatan yang sama besar terhadap aktivitas enzim *xantin oksidase*. Persentase penghambatan yang diperoleh antar perlakuan konsentrasi memiliki selisih nilai angka yang kecil sehingga tidak menunjukkan peningkatan daya penghambatan yang sejalan dengan meningkatnya konsentrasi, sebagaimana dapat dilihat pada konsentrasi terendah 5 µg/ml memiliki persentase penghambatan terbesar dibandingkan konsentrasi di atasnya. Berdasarkan hasil tersebut, maka nilai IC₅₀ % juga tidak dapat diperoleh dengan persamaan regresi yang diperoleh pada grafik linear rerata persentase penghambatan yaitu $y = -0,0073x + 94,914$ (Grafik 4.3).

Berdasarkan hal di atas, maka perlu dikaitkan dengan adanya faktor lain diluar perlakuan konsentrasi ekstrak yang diberikan, seperti aktivitas enzim yang mengalami kondisi jenuh terhadap konsentrasi substrat atau inhibitor sehingga tidak ada lagi enzim bebas yang tersedia dan aktivitas enzim mengalami penurunan serta produk asam urat yang dihasilkan menjadi sedikit (Murray, 2006).



Grafik 4.3 Kurva Regresi Linear Konsentrasi Ekstrak Etanol Daun Kacang Tanah (*Arachis hypogaea*) terhadap Persentase Penghambatan Aktivitas Enzim *Xantin Oksidase*

Aktivitas enzim *xantin oksidase* yang mampu dihambat oleh ekstrak etanol daun kacang tanah (*Arachis hypogaea* L.) pada penelitian ini dimungkinkan dikarenakan adanya aktivitas farmakologis dari kandungan senyawa di dalamnya, seperti kelompok flavonoid (catechin, epicatechin, dan galocatechingallate) yang mampu bekerja sebagai inhibitor aktivitas enzim *xantin oksidase*. Flavonoid memiliki kemiripan struktur dengan *xantin* (substrat *xantin oksidase*) dikarenakan adanya ikatan rangkap antara C2=C3 (Cotelle, 2001) dan gugus hidroksil yang mampu menjadi akseptor elektron dari enzim *xantin oksidase*, seperti gugus hidroksil pada atom C-5 dan atau C-7 (Cos, 1998 dan Aucamp, 2007). Senyawa catechin disebutkan mampu menghambat aktivitas enzim *xantin oksidase* dikarenakan memiliki aktivitas kerja yang mirip dengan allopurinol (Prabowo, 2007).

Penghambatan aktivitas enzim *xantin oksidase* yang besar oleh ekstrak etanol daun kacang tanah (*Arachis hypogaea* L.) juga dimungkinkan karena aktivitas penghambatan oleh senyawa-senyawa lain pada ekstrak etanol daun kacang tanah (*Arachis hypogaea* L.) dalam hal ini seperti caffeic acid (Li-Na Huo, 2015), chlorogenic acid (Sari, 2014), dan ferulic acid (Shivraj, 2016), berdasarkan penelitian yang tercantum senyawa-senyawa tersebut juga dilaporkan memiliki kemampuan sebagai inhibitor aktivitas enzim *xantin oksidase*.

4.1.3 Perbandingan Penghambatan Aktivitas Enzim *Xantin Oksidase* oleh Allopurinol dan Ekstrak Etanol Daun Kacang Tanah (*Arachis hypogaea* L.)

Penghambatan aktivitas enzim *xantin oksidase* oleh allopurinol dan ekstrak etanol daun kacang tanah (*Arachis hypogaea* L.) dengan beberapa perlakuan konsentrasi yang diberikan menunjukkan bahwa allopurinol dan ekstrak etanol daun kacang tanah (*Arachis hypogaea* L.) memiliki nilai absorbansi pada spektrofotometer yang mengalami penurunan dari nilai absorbansi aktivitas enzim *xantin oksidase* 100 % (tanpa penambahan sampel uji). Penurunan tersebut menggambarkan jumlah produk asam urat yang terbentuk juga semakin sedikit, sehingga hasil persentase penghambatan yang diperoleh lebih dari 50 % yang ditunjukkan pada tabel 4.3 di bawah ini:

Bahan Uji	Konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$)	% Penghambatan \pm SD
Allopurinol	2,5	83,55 \pm 0,20
	5	73,49 \pm 5,95
	7,5	73,72 \pm 0,15
	10	77,19 \pm 0,79
	20	90,58 \pm 0,34
	50	91,10 \pm 4,30
	100	94,35 \pm 2,17
Ekstrak Etanol Daun Kacang Tanah (<i>Arachis hypogaea</i> L.)	5	95,90 \pm 3,37
	10	94,71 \pm 0,89
	15	93,36 \pm 0,81
	20	94,01 \pm 0,34
	25	95,67 \pm 0,62
	50	95,10 \pm 1,22
	100	94,00 \pm 0,71

Tabel 4.3 di atas menunjukkan bahwa jika dianalisis berdasarkan konsentrasi terendah bahan uji, konsentrasi allopurinol 2,5 µg/ml memiliki penghambatan sebesar $83,55 \pm 0,20$ % sedangkan pada konsentrasi ekstrak etanol daun kacang tanah (*Arachis hypogaea* L.) 5 µg/ml mampu menghambat aktivitas enzim *xantin oksidase* sebesar $95,90 \pm 3,37$ %. Berdasarkan tabel 4.3 di atas juga menunjukkan terdapat perbedaan hasil persentase penghambatan yang diperoleh, pada perlakuan allopurinol menunjukkan bahwa semakin meningkat konsentrasi yang diberikan maka persentase penghambatan akan semakin besar, sedangkan pada perlakuan konsentrasi ekstrak etanol daun kacang tanah (*Arachis hypogaea* L.) menunjukkan persentase penghambatan yang hampir sama besar. Hal ini dimungkinkan disebabkan karena adanya perbedaan pengenceran konsentrasi dari masing-masing bahan uji dan faktor lain yang perlu dikaitkan.

Berdasarkan hasil yang diperoleh pada pengujian penghambatan aktivitas enzim *xantin oksidase* oleh ekstrak etanol daun kacang tanah (*Arachis hypogaea* L.) dan allopurinol, maka dapat diharapkan bahwa ekstrak etanol daun kacang tanah (*Arachis hypogaea* L.) dapat menjadi bahan alternatif yang baik dan aman sebagai inhibitor enzim *xantin oksidase* selain allopurinol dalam pengobatan penyakit asam urat. Hal ini didukung dengan pernyataan Noro (1983) bahwa suatu ekstrak dapat dikatakan berpotensi sebagai inhibitor enzim *xantin oksidase* dan bisa dimanfaatkan sebagai obat penyakit asam urat apabila memiliki daya penghambatan lebih besar dari 50 % serta penghambatan aktivitas enzim *xantin oksidase* oleh suatu senyawa dikatakan aktif apabila memiliki nilai penghambatan 50 % kurang dari 100 µg/ml (Thuong, 2006).

Setiap obat memiliki dosis efektif dalam penggunaannya sehingga dapat melakukan fungsi dan kinerjanya secara optimal, sebagaimana dalam Surat Al-Qamar (54): 49,

إِنَّا كُلَّ شَيْءٍ خَلَقْنَاهُ بِقَدَرٍ ﴿٤٩﴾

Artinya: “*Sesungguhnya Kami menciptakan segala sesuatu menurut ukuran*” (QS.Al-Qamar/54: 49).

Menurut Suyuthi (2010), dalam tafsir Jalalayn kalimat (خَلَقْنَاهُ بِقَدَرٍ) “Kami menciptakannya menurut ukuran”, yakni sesuai taqdir. Abdullah (2003) dalam tafsir Ibnu Katsir menjelaskan bahwa Allah SWT menetapkan suatu ukuran dan memberikan petunjuk terhadap semua makhluk kepada ketetapan tersebut. Kata (بقدر) bermakna ketentuan, dari segi bahasa kata tersebut bermakna kadar tertentu yang tidak bertambah atau berkurang. Ayat di atas membicarakan bahwa segala sesuatu termasuk ketentuan dan sistem yang ditetapkan adalah kekuasaan dari Allah SWT dengan kadar yang cukup untuk melakukan fungsinya yang bertujuan mempertahankan suatu keseimbangan (Shihab, 2002). Istilah kadar atau ukuran dalam penelitian ini bisa diartikan merupakan konsentrasi, sehingga berdasarkan hasil penelitian diperoleh konsentrasi terendah 5 µg/ml ekstrak etanol daun kacang tanah (*Arachis hypogaea* L.) untuk mampu menghambat aktivitas enzim *xantin oksidase* sebesar $95,90 \pm 3,37\%$.

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian penghambatan aktivitas enzim *xantin oksidase* oleh ekstrak etanol daun kacang tanah (*Arachis hypogaea* L.) secara *in vitro* maka dapat disimpulkan bahwa aktivitas enzim *xantin oksidase* mampu dihambat oleh ekstrak etanol daun kacang tanah (*Arachis hypogaea* L.) secara *in vitro* dengan hasil persentase penghambatan hampir sama besar antar perlakuan, namun konsentrasi terendah 5 µg/ml yang memiliki persentase penghambatan terbesar yaitu $95,90 \pm 3,37 \%$.

5.2 Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lanjutan tentang analisis fitokimia ekstrak etanol daun kacang tanah (*Arachis hypogaea* L.)
2. Perlu dilakukan uji pendahuluan terkait penurunan perlakuan konsentrasi sampel uji untuk mendapatkan nilai $IC_{50} \%$ dari persamaan kurva regresi linear
3. Perlu dilakukan perhitungan aktivitas enzim *xantin oksidase* dengan menggunakan rumus yang sudah ada apabila panjang gelombang maksimum yang diperoleh sebesar 290 nm

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad, Aktsar. 2012. Isolasi dan Elusidasi Struktur Antioksidan dan Penghambatan Enzim *Xantin oksidase* Ekstrak Daun Pletekan (*Ruellia tuberosa* L.). *Tesis*. Depok: Universitas Indonesia
- Artini, R. 2012. Ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) Sebagai Antioksidan pada Penurunan Kadar Asam Urat Tikus Wistar. *Jurnal Kimia*. Vol 6. No 2. Hal: 127-137
- Astuti, A. 2006. Uji Sitotoksitas Ekstrak Daging dan Biji Buah *Phaleriamacrocarpa* (Scheff.) terhadap Sel Mononuklir Normal Perifer Manusia. *Indo journal Chem*. 6 (2). 212-218
- Aucamp, J., A. Gaspar. 2007. Inhibition of Xanthine oxidase by Catechins from Tea (*Camellia sinensis*). *Anticancer Res*. 17: 4. 381-385
- Azmi, S. M & Amid, A. 2012. Xanthine oxidase Inhibitory Activity from Potential Malaysian Medicinal Plant as Remedy for Gout. *International Food Research Journal*. 19.1: 159-165
- Basith, A. 2004. *Rahasia Kesehatan Nabi*. Solo: Tiga Serangkai
- Bimakr, M. 2010. Comparison of Different Extraction Methods for The Extraction of Major Bioactive Flavonoid Compounds from Spearmint (*Mentha spicata* L.) Leaves. *Food Bioprod Process*. 1-9
- Briley, M.S & Eisenthal. 1974. Association of Xanthine oxidase with the Bovine Milk-Fat-Globule Membrane. *Journal of Biochemistry*. 147: 417-423
- Chang, W. 1993. Inhibitory Effects of Flavonoids on Xanthine oxidase. *Anticancer Res*. 13. 2165-2170
- Clifford Aj, Riumallo. 2006. Effects of Oral Purines on Serum and Urinary Uric Acid of Normal, hyperuricaemic and Gout Humans. *Journal Nutrition*. 106: 428-34
- Correa, Geone M. dan Alcantara C. 2011. Chemical Constituents and Biological Activities of Species of *Justicia*. *A Review*. *Rev. Bras. Farmacogn*. Vol. 22. No 1 *Curitiba*
- Cos, P., Li Ying, Calomme, M., Hu, J., Cimanga, K., Van Poel, B. 1998. Structure Activity Relationship and Classification of Flavonoids as Inhibitors of Xanthine Oxidase and Superoxide Scavengers. *Jou. Nat. Prod* 61: 71-76
- Cotelle, N. 1996. Antioxidant Properties of Hydroxyflavones. *Free Radical Biology and Medicine*. Vol 20. No 1. Page:35-43
- Dalimartha, S. 2008. *Resep Tumbuhan Obat Untuk Asam Urat*. Bogor: Penebar Swadaya
- Departemen Kesehatan RI. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta
- Dewi, Trias Kusuma. 2012. Isolasi, Uji Penghambatan Aktivitas Xantin Oksidase dan Identifikasi Senyawa Aktif dari Fraksi n-Butanol pada Ekstrak Akar Tanaman *Acalypha indica* Linn, *Skripsi*. FMIPA UI Jakarta
- Dewi, Listiyana Candra. 2013. Uji Antibakteri dan Daya Inhibisi Ekstrak Kulit Kacang Tanah terhadap Aktivitas Enzim *Xantin Oksidase*. *Skripsi*. Fakultas MIPA Universitas Negeri Malang

- Dira. 2014. Uji Aktivitas Antihiperurisemia Ekstrak Etanol Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.) dan Buah Asam Gelugur (*Garcinia atroviridis*) Secara *In Vitro*. *Jurnal Scientia*. Vol 4. No 2. Padang: Seklah Tinggi Farmasi Indonesia
- Ernawati, 2014. Penghambatan Aktivitas Xanthine oxidase Oleh Ekstrak Etanol Sarang Semut (*Myrmecodia tuberosa*) Secara *In Vitro*. *Jurnal Pharmacia*. Vol 4. No 1. Hal:15-22. Yogyakarta: Universitas Ahmad Dahlan
- Evander, Aloysius Raymond. 2011. Pengaruh Pemberian Ekstrak Kacang Tanah (*Arachis hypogaea* L.) terhadap Struktur Histologis Hepar Mencit yang Diinduksi Parasetamol. *Skripsi*. Fakultas Kedokteran. Universitas Sebelas Maret. Surakarta
- Gandjar, 2008. *Kimia Farmasi Analitik*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar
- Geetha, Karra. 2013. An Overview on *Arachis hypogaea* Plant. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*. Vol 4 (12): 4508-4518. India
- Hamdani, SPG., Haman H. 2011. High Consumption of Carbohydrate, Protein, Fat as Risk Factor of Dislipidemia in Lectures of Gadjah Mada University Having Medical Check Up at GMC Health Center. Yogyakarta: Program Faculty of Medicine Gadjah Mada University
- Harborne. 1987. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Bandung: ITB Press
- Harmita. 2006. *Buku Ajar Analisis Fisikokimia*. Depok: Universitas Indonesia Press
- Hedigar, Am. 2005. Molecular Physiology of Urate Transport. *Physiol Journal*. 20.1: 25-33
- Hendriani, Rini. 2014. *In Vitro* Evaluation of Xanthine oxidase Inhibitory Activity of *Sonchus arvensis* Leaves. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. Vol 6. Issue 2. Bandung: Universitas Padjadjaran
- Herwandi, D. 1991. *Telaah Fitokimia Daun Dysoxylum Gaunic haudianum (Juss) Miq-Meliaceae*. Skripsi Sarjana Jurusan Farmasi. Bandung: ITB
- Katsir, Ibnu. 1998. *Tafsir Ibnu Katsier Jilid 6* (Penerjemah: H. Salim Bahreisy dan H. Said Bakhreisy). Surabaya: PT. Bina Ilmu
- Katno, Pramono S. 2002. *Tingkat Manfaat dan Keamanan Tanaman Obat Tradisional*. Yogyakarta: Universitas Gajah Mada Press
- Kelley, WN. and Thomas, DP. 1991. Gout and Other Disorder of Purine Metabolism. *Principle of Internal Medicine*. New York: Mc. Graw Hill, Inc. Hal: 1834-1841
- Kong, et all. 2000. Inhibition of Xanthine oxidase by Some Chinese Medicinal Plants Used to Treat Gout. *Journal of Ethnopharmacology*. 73: 199-207
- Kresnanugraha. Yudhi. 2012. Uji Penghambatan Aktivitas Enzim Xantin oksidase dari Ekstrak Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) dan Identifikasi Golongan Senyawa dari Fraksi Aktif. *Skripsi*. Depok: Universitas Indonesia
- Kostic, Danijela A. 2015. Xanthine oxidase: Isolation, Assays of Activity, and Inhibition. *Journal of Chemistry*. Hindawi Publishing Corporation

- Lestrari, S.M. 2012. Uji Penghambatan Ekstrak Daun Sidaguri terhadap Aktivitas *Xantin Oksidase* dan Identifikasi Golongan Senyawa pada Fraksi yang Aktif. *Skripsi*. Depok: UI
- Li-Na Huo. 2015. Bioassay- Guided Isolation and Identification of Xanthine oxidase Inhibitory Constituents from the Leaves of *Perilla frutescens*. *Journal of Molecules*. 201017848
- Lingga, Lanny. 2012. *Bebas Penyakit Asam Urat Tanpa Obat*. Jakarta: PT. Agromedia Pustaka
- Lin, C., C.S. Chen. 2002. Molecular Modeling of Flavonoids that Inhibits Xanthine oksidase. *Biochem, Biophys Res Commun*. 294: (1). 67-72
- Maraghiy, Ahmad Musthafa. 1993. Terjemahan Tafsir Al Maraghiy. Semarang: Penerbit CV Tohaputra
- Mulyo, Jumat Hadi. 2007. Pengaruh Pemberian ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera* Lamk.) Terhadap kadar Asam Urat darah Mencit (*Mus musculus*) Hiperurisemia. *Skripsi*. Uin Malang
- Murray, Rodwell. 2006. Terjemahan Oleh dr. Brahm U (Pendid). *Biokimia Harper Edisi 27*. Jakarta: Buku Kedokteran EGC
- Nagao, Akihiko. 1999. Inhibition of Xanthine Oxidase by Flavonoids. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry Journal*. 63:10. 1787-1790
- Noro, T. Oda, Y. 1983. Inhibition of Xanthine Oxidase from the Flowers and Buds of *Daphne genkwa*. *Chem Pharm Bull*. 31: 3984-3987
- Owen, L. Patrick dan Johns, Timothy. 1998. *Xantin Oksidase* Inhibitory Activity of Northeastern North American Plant Remedies Used for Gout. *Journal of Ethnopharmacology*. 64. 149-160
- Prabowo S, Satriyo, 2007. Pengaruh Green Tea Terhadap Kadar Malondialdehida dan Aktivitas Superoksida pada Arthritis Ajuvan (Moden Hewan untuk Rheumatoid Arthritis). *Prosiding Seminar Nasional Tanaman Obat dan obat Tradisional: 207-209*. Surakarta: Balitbang Kesehatan Depkes RI
- Putri, Nurul Eka. 2016. Uji Penghambatan *Xantin Oksidase* Secara *In Vitro* Ekstrak Kulit Rambutan. *Pharm Sci Res*. Vol 3. No 1. ISSN 2407-2354
- Puzi, Wina. 2015. *Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid dari Daun Tumbuhan Sirih Merah (Pieper crocatium Ruiz)*. Bandung: Prosiding Penelitian Unisba
- Raharjo, K dan Tan. 2002. *Obat-obat Penting Khasiat dan Penggunaannya: Obat-obat Rheumatik dan Encok*. Hal: 512-529 Jakarta: Departemen Kesehatan RI
- Ramdhani T. 2004. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Bioaktif Seledri (*Apium graveolens*) Dalam Menghambat Aktivitas *Xantin oksidase*. *Skripsi*. Bogor. Institut Pertanian Bogor
- Saputra, Kurniawan Adi. 2012. Uji Penghambatan AKTivitas Xantin Oksidase Secara *In Vitro* pada Teh Celup Kombinasi Daun Gandarusa dan Kaliks Rosella. *Skripsi*. FMIPA UI Jakarta
- Sari, Honda. 2014. Identification of Crypto-and Neochlorogenic Lactones as Potent Xanthine oxidase Inhibitors in Roasted Coffe Beans. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry Journal*. 78:12
- Sharma, Rakesh. 2012. *Enzyme Inhibition : Mechanism and Scopes*. India

- Shihab, Quraish. 2002. *Tafsir Al Mishbah Pesan, Kesan, dan Keserasian Al-Qur'an Volume II*. Jakarta: Lentera Hati
- Shivraj, Hariram Nile. 2016. Screening of Ferulic Acid Related Compounds as Inhibitors of Xanthine oxidase and Cyclooxygenase-2 with Antiinflammatory Activity
- Spanou, Chysoula. 2012. Flavonoid Glycosides Isolated from Unique Legume Plant Extracts as Novel Inhibitors of Xanthine Oxidase. *Plos ONE*. 7(3): e32214
- Steenis, Van. 2005. *Flora*. Jakarta: PT Pradnya Paramita
- Suyuthi, Al Imam Jalaluddin. 2010. *Tafsir Jalalain*. Surabaya: Pustaka Elba
- Tehupeiory, E.. *Arthritis Gout*. dalam Syaifullah, N. 1996. *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam Jilid I Edisi III*. Hal: 85-89. Jakarta: Balai Penerbit FK UI
- Thuong, P. Na, M. 2006. Antioxidant Activities of Vietnamese Medical Plants. *J. Natural Prod Sci*. 12 (1): 29-37
- Turco, Imma. 2016. Review of the Health Benefits of Faba bean (*Vicia faba* L.). *Journal of Food and Nutrioin Research*. Vol 55. No 4. Hal:283-293
- Umamaheswari, M., Chatterjee, TK. 2008. Hyporricemic and Xanthine Oxidase Inhibitory Activities of the Fractions of *Coccinia grandis* L. Voight. *OPEM*. 7. 4: 77-84
- Umamaheswari, M., Asokkumar K. 2009. In Vitro Xantine Oxidase Inhibitory Activity of the Fractions of *Erythrina stricta* Roxb. *Journal Ethnopharmacol*. 124. 6: 46-48
- Utami, P. 2005. *Tanaman Obat Untuk Mengatasi Rematik dan Asam Urat*. Jakarta: Agromedia Pustaka
- Van Hoorn, Danny E.C. 2002. Accurate Prediction of Xanthine oxidase Inhibition Based on the Structure of Flavonoids. *European Journal of Pharmalogy*. 451. 111-118. Netherlands
- Vimala, S. 2003. *Nature's Choice to Wellness: Antioxidant Vegetables/Ulam*. Malaysia: Forest Research Institute
- Voight, R. 1994. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi Edisi V*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press
- Wahyu, Widyaningsih. 2012. Penghambatan Aktivitas Xanthine oxidase Oleh Ekstrak Etanol Akar Sambiloto (*Andrographis paniculata*) Secara *In Vitro*. *Jurnal Ilmiah Kefarmasian*. Vol.2. No 2. Hal: 153-163. Yogyakarta: Universitas Ahmad Dahlan
- Wibowo, S. 2004. Asam Urat. <http://news.bbc.co.uk/1/hi/health/4725881.stm> diakses 25 November 2016
- Wilmana, P., Sulistia G.G. 2007. Analgesik–Antipiretik, Analgesik–Antiinflamasi Non Steroid dan Obat Pirai. *Farmakologi dan Terapi Edisi 5*. Jakarta: Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia
- Wisesa, dan Suastika. 2009. Hubungan Antara Konsentrasi Asam Urat Serum dengan Resistensi Insulin pada Penduduk Suku Bali Asli di Dusun Tenganan Pegrisingan Karangasem. *Jurnal Penyakit Dalam*. Vol 10. No 2. Hal: 51-55
- Yanti, Aprilita Rina. 2016. Uji Aktivitas Penghambatan *Xantin oksidase* Secara *In Vitro* oleh Isolat 6,4'-Dihidroksi-4-Metoksibenzofenon-2-O-β-D

Glukopiranosida ($C_{20}H_{22}O_{10}$) yang Diisolasi dari Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa*). *Pharm Sci Res. Vol 3. No 1. ISSN 2407-2354*. Jakarta
Yulianto, Dede. 2009. Inhibisi *Xantin oksidase* Secara *In Vitro* Oleh Ekstrak Rosela (*Hibiscus sabdariffa*) dan Ciplukan (*Physalis angulata*). *Skripsi*. Bogor: IPB



LAMPIRAN

Lampiran 1. Data Hasil Pengukuran Absorbansi1. Tabel Data Absorbansi Aktivitas Enzim *Xantin Oksidase* 100 %

Ulangan	Absorbansi
1	0,3372
2	0,3447
3	0,3489
Rata-rata	0,3436

Keterangan: Aktivitas enzim *xantin oksidase* 100 % diperoleh dari nilai absorbansi atau serapan tanpa penambahan ekstrak etanol daun kacang tanah (*Arachis hypogaea* L.) dan allopurinol yang digunakan sebagai nilai absorbansi kontrol pada perhitungan persentase penghambatan.

2. Tabel Data Absorbansi Penghambatan Aktivitas Enzim *Xantin Oksidase* Oleh Ekstrak Etanol Daun Kacang Tanah (*Arachis hypogaea* L.)

Konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$)	Absorbansi (Ulangan)			Rata-rata
	1	2	3	Absorbansi
100	0,0183	0,0203	0,0232	0,0206
50	0,0128	0,0165	0,0212	0,0168
25	0,0125	0,0155	0,0166	0,0148
20	0,0195	0,0204	0,0218	0,0205
15	0,0200	0,0229	0,0255	0,0228
10	0,0162	0,0166	0,0217	0,0182
5	0,0070	0,0078	0,0274	0,0119

3. Tabel Data Absorbansi Penghambatan Aktivitas Enzim *Xantin Oksidase* Oleh Allopurinol

Konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$)	Absorbansi (Ulangan)			Rata-rata Absorbansi
	1	2	3	
100	0,0111	0,0216	0,0255	0,0194
50	0,0135	0,0387	0,0395	0,0306
20	0,0311	0,0334	0,0326	0,0324
10	0,0756	0,0785	0,0810	0,0784
7.5	0,0897	0,0905	0,0907	0,0903
5	0,0682	0,0974	0,1076	0,0911
2.5	0,0561	0,0561	0,0573	0,0565

Lampiran 2. Data Hasil Perhitungan

1. Perhitungan Persentase Penghambatan Aktivitas Enzim *Xantin Oksidase* Oleh Ekstrak Etanol Daun Kacang Tanah (*Arachis hypogaea* L.)

a. Konsentrasi 100 $\mu\text{g/ml}$

1) Ulangan 1

$$\begin{aligned}
 \% \text{ Penghambatan} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,3436 - 0,0183}{0,3436} \times 100\% \\
 &= \frac{0,3253}{0,3436} \times 100\% \\
 &= 0,9467 \\
 &= 94,67 \%
 \end{aligned}$$

2) Ulangan 2

$$\begin{aligned}
 \% \text{ Penghambatan} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,3436 - 0,0203}{0,3436} \times 100\% \\
 &= \frac{0,3233}{0,3436} \times 100\% \\
 &= 0,9409 \\
 &= 94,09 \%
 \end{aligned}$$

3) Ulangan 3

$$\begin{aligned}
 \% \text{ Penghambatan} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,3436 - 0,0232}{0,3436} \times 100\% \\
 &= \frac{0,3204}{0,3436} \times 100\% \\
 &= 0,9325 \\
 &= 93,25
 \end{aligned}$$

b. Konsentrasi 50 µg/ml

1) Ulangan 1

$$\begin{aligned}
 \% \text{ Penghambatan} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,3436 - 0,0128}{0,3436} \times 100\% \\
 &= \frac{0,3308}{0,3436} \times 100\% \\
 &= 0,9627 \\
 &= 96,27 \%
 \end{aligned}$$

2) Ulangan 2

$$\begin{aligned}
 \% \text{ Penghambatan} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,3436 - 0,0165}{0,3436} \times 100\% \\
 &= \frac{0,3271}{0,3436} \times 100\% \\
 &= 0,9520 \\
 &= 95,20 \%
 \end{aligned}$$

3) Ulangan 3

$$\begin{aligned}
 \% \text{ Penghambatan} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,3436 - 0,0212}{0,3436} \times 100\% \\
 &= \frac{0,3224}{0,3436} \times 100\% \\
 &= 0,9383 \\
 &= 93,83 \%
 \end{aligned}$$

c. Konsentrasi 25 µg/ml

1) Ulangan 1

$$\begin{aligned}
 \% \text{ Penghambatan} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,3436 - 0,0125}{0,3436} \times 100\%
 \end{aligned}$$

$$= \frac{0,3311}{0,3436} \times 100\%$$

$$= 0,9636$$

$$= 96,36 \%$$

2) Ulangan 2

$$\% \text{ Penghambatan} = \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

$$= \frac{0,3436 - 0,0155}{0,3436} \times 100\%$$

$$= \frac{0,3281}{0,3436} \times 100\%$$

$$= 0,9549$$

$$= 95,49 \%$$

3) Ulangan 3

$$\% \text{ Penghambatan} = \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

$$= \frac{0,3436 - 0,0166}{0,3436} \times 100\%$$

$$= \frac{0,3270}{0,3436} \times 100\%$$

$$= 0,9517$$

$$= 95,17 \%$$

d. Konsentrasi 20 $\mu\text{g/ml}$

1) Ulangan 1

$$\% \text{ Penghambatan} = \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

$$= \frac{0,3436 - 0,0195}{0,3436} \times 100\%$$

$$= \frac{0,3241}{0,3436} \times 100\%$$

$$= 0,9432$$

$$= 94,32 \%$$

2) Ulangan 2

$$\% \text{ Penghambatan} = \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

$$= \frac{0,3436 - 0,0204}{0,3436} \times 100\%$$

$$= \frac{0,3232}{0,3436} \times 100\%$$

$$= 0,9406$$

$$= 94,06 \%$$

3) Ulangan 3

$$\begin{aligned}
 \% \text{ Penghambatan} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,3436 - 0,0218}{0,3436} \times 100\% \\
 &= \frac{0,3218}{0,3436} \times 100\% \\
 &= 0,9365 \\
 &= 93,65 \%
 \end{aligned}$$

e. Konsentrasi 15 µg/ml

1) Ulangan 1

$$\begin{aligned}
 \% \text{ Penghambatan} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,3436 - 0,0200}{0,3436} \times 100\% \\
 &= \frac{0,3236}{0,3436} \times 100\% \\
 &= 0,9418 \\
 &= 94,18 \%
 \end{aligned}$$

2) Ulangan 2

$$\begin{aligned}
 \% \text{ Penghambatan} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,3436 - 0,0229}{0,3436} \times 100\% \\
 &= \frac{0,3207}{0,3436} \times 100\% \\
 &= 0,9333 \\
 &= 93,33 \%
 \end{aligned}$$

3) Ulangan 3

$$\begin{aligned}
 \% \text{ Penghambatan} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,3436 - 0,0255}{0,3436} \times 100\% \\
 &= \frac{0,3181}{0,3436} \times 100\% \\
 &= 0,9257 \\
 &= 92,57 \%
 \end{aligned}$$

f. Konsentrasi 10 µg/ml

1) Ulangan 1

$$\begin{aligned}
 \% \text{ Penghambatan} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,3436 - 0,0162}{0,3436} \times 100\%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 &= \frac{0,3274}{0,3436} \times 100\% \\
 &= 0,9528 \\
 &= 95,28 \%
 \end{aligned}$$

2) Ulangan 2

$$\begin{aligned}
 \% \text{ Penghambatan} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,3436 - 0,0166}{0,3436} \times 100\% \\
 &= \frac{0,3270}{0,3436} \times 100\% \\
 &= 0,9517 \\
 &= 95,17 \%
 \end{aligned}$$

3) Ulangan 3

$$\begin{aligned}
 \% \text{ Penghambatan} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,3436 - 0,0217}{0,3436} \times 100\% \\
 &= \frac{0,3219}{0,3436} \times 100\% \\
 &= 0,9368 \\
 &= 93,68 \%
 \end{aligned}$$

g. Konsentrasi 5 µg/ml

1) Ulangan 1

$$\begin{aligned}
 \% \text{ Penghambatan} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,3436 - 0,0070}{0,3436} \times 100\% \\
 &= \frac{0,3366}{0,3436} \times 100\% \\
 &= 0,9796 \\
 &= 97,96 \%
 \end{aligned}$$

2) Ulangan 2

$$\begin{aligned}
 \% \text{ Penghambatan} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,3436 - 0,0078}{0,3436} \times 100\% \\
 &= \frac{0,3358}{0,3436} \times 100\% \\
 &= 0,9773 \\
 &= 97,73 \%
 \end{aligned}$$

3) Ulangan 3

$$\begin{aligned}
 \% \text{ Penghambatan} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,3436 - 0,0274}{0,3436} \times 100\% \\
 &= \frac{0,3162}{0,3436} \times 100\% \\
 &= 0,9202 \\
 &= 92,02 \%
 \end{aligned}$$

2. Perhitungan Persentase Penghambatan Aktivitas Enzim *Xantin Oksidase* Oleh Allopurinola. Konsentrasi 100 $\mu\text{g/ml}$

1) Ulangan 1

$$\begin{aligned}
 \% \text{ Penghambatan} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,3436 - 0,0111}{0,3436} \times 100\% \\
 &= \frac{0,3325}{0,3436} \times 100\% \\
 &= 0,9677 \\
 &= 96,77 \%
 \end{aligned}$$

2) Ulangan 2

$$\begin{aligned}
 \% \text{ Penghambatan} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,3436 - 0,0216}{0,3436} \times 100\% \\
 &= \frac{0,3220}{0,3436} \times 100\% \\
 &= 0,9371 \\
 &= 93,71 \%
 \end{aligned}$$

3) Ulangan 3

$$\begin{aligned}
 \% \text{ Penghambatan} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,3436 - 0,0255}{0,3436} \times 100\% \\
 &= \frac{0,3181}{0,3436} \times 100\% \\
 &= 0,9258 \\
 &= 92,58 \%
 \end{aligned}$$

b. Konsentrasi 50 µg/ml

1) Ulangan 1

$$\begin{aligned}
 \% \text{ Penghambatan} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,3436 - 0,0135}{0,3436} \times 100\% \\
 &= \frac{0,3301}{0,3436} \times 100\% \\
 &= 0,9607 \\
 &= 96,07\%
 \end{aligned}$$

2) Ulangan 2

$$\begin{aligned}
 \% \text{ Penghambatan} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,3436 - 0,0387}{0,3436} \times 100\% \\
 &= \frac{0,3049}{0,3436} \times 100\% \\
 &= 0,8874 \\
 &= 88,74\%
 \end{aligned}$$

3) Ulangan 3

$$\begin{aligned}
 \% \text{ Penghambatan} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,3436 - 0,0395}{0,3436} \times 100\% \\
 &= \frac{0,3041}{0,3436} \times 100\% \\
 &= 0,8850 \\
 &= 88,50\%
 \end{aligned}$$

c. Konsentrasi 20 µg/ml

1) Ulangan 1

$$\begin{aligned}
 \% \text{ Penghambatan} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,3436 - 0,0311}{0,3436} \times 100\% \\
 &= \frac{0,3125}{0,3436} \times 100\% \\
 &= 0,9095 \\
 &= 90,95\%
 \end{aligned}$$

2) Ulangan 2

$$\begin{aligned}
 \% \text{ Penghambatan} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,3436 - 0,0334}{0,3436} \times 100\%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 &= \frac{0,3102}{0,3436} \times 100\% \\
 &= 0,9028 \\
 &= 90,28 \%
 \end{aligned}$$

3) Ulangan 3

$$\begin{aligned}
 \% \text{ Penghambatan} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,3436 - 0,0326}{0,3436} \times 100\% \\
 &= \frac{0,311}{0,3436} \times 100\% \\
 &= 0,9051 \\
 &= 90,51 \%
 \end{aligned}$$

d. Konsentrasi 10 µg/ml

1) Ulangan 1

$$\begin{aligned}
 \% \text{ Penghambatan} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,3436 - 0,0756}{0,3436} \times 100\% \\
 &= \frac{0,268}{0,3436} \times 100\% \\
 &= 0,7799 \\
 &= 77,99 \%
 \end{aligned}$$

2) Ulangan 2

$$\begin{aligned}
 \% \text{ Penghambatan} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,3436 - 0,0785}{0,3436} \times 100\% \\
 &= \frac{0,2651}{0,3436} \times 100\% \\
 &= 0,7715 \\
 &= 77,15 \%
 \end{aligned}$$

3) Ulangan 3

$$\begin{aligned}
 \% \text{ Penghambatan} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,3436 - 0,0810}{0,3436} \times 100\% \\
 &= \frac{0,2626}{0,3436} \times 100\% \\
 &= 0,7642 \\
 &= 76,42 \%
 \end{aligned}$$

e. Konsentrasi 7.5 µg/ml

1) Ulangan 1

$$\begin{aligned} \% \text{ Penghambatan} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\ &= \frac{0,3436 - 0,0897}{0,3436} \times 100\% \\ &= \frac{0,2539}{0,3436} \times 100\% \\ &= 0,7389 \\ &= 73,89\% \end{aligned}$$

2) Ulangan 2

$$\begin{aligned} \% \text{ Penghambatan} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\ &= \frac{0,3436 - 0,0905}{0,3436} \times 100\% \\ &= \frac{0,2531}{0,3436} \times 100\% \\ &= 0,7366 \\ &= 73,66\% \end{aligned}$$

3) Ulangan 3

$$\begin{aligned} \% \text{ Penghambatan} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\ &= \frac{0,3436 - 0,0907}{0,3436} \times 100\% \\ &= \frac{0,2529}{0,3436} \times 100\% \\ &= 0,7360 \\ &= 73,60\% \end{aligned}$$

f. Konsentrasi 5 µg/ml

1) Ulangan 1

$$\begin{aligned} \% \text{ Penghambatan} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\ &= \frac{0,3436 - 0,0682}{0,3436} \times 100\% \\ &= \frac{0,2754}{0,3436} \times 100\% \\ &= 0,8015 \\ &= 80,15\% \end{aligned}$$

2) Ulangan 2

$$\% \text{ Penghambatan} = \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

$$\begin{aligned}
 &= \frac{0,3436-0,0974}{0,3436} \times 100\% \\
 &= \frac{0,2462}{0,3436} \times 100\% \\
 &= 0,7165 \\
 &= 71,65 \%
 \end{aligned}$$

3) Ulangan 3

$$\begin{aligned}
 \% \text{ Penghambatan} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol}-\text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,3436-0,1076}{0,3436} \times 100\% \\
 &= \frac{0,236}{0,3436} \times 100\% \\
 &= 0,6868 \\
 &= 68,68 \%
 \end{aligned}$$

g. Konsentrasi 2.5 $\mu\text{g/ml}$

1) Ulangan 1

$$\begin{aligned}
 \% \text{ Penghambatan} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol}-\text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,3436-0,0561}{0,3436} \times 100\% \\
 &= \frac{0,2875}{0,3436} \times 100\% \\
 &= 0,8367 \\
 &= 83,67 \%
 \end{aligned}$$

2) Ulangan 2

$$\begin{aligned}
 \% \text{ Penghambatan} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol}-\text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,3436-0,0561}{0,3436} \times 100\% \\
 &= \frac{0,2875}{0,3436} \times 100\% \\
 &= 0,8367 \\
 &= 83,67 \%
 \end{aligned}$$

3) Ulangan 3

$$\begin{aligned}
 \% \text{ Penghambatan} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol}-\text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,3436-0,0565}{0,3436} \times 100\% \\
 &= \frac{0,2871}{0,3436} \times 100\% \\
 &= 0,8355 = 83,55 \%
 \end{aligned}$$



KEMENTERIAN AGAMA RI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI
MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI

Jl. Gajayana No. 50 Dinoyo Malang Telp. /Fax. (0341) 558933

BUKTI KONSULTASI SKRIPSI

Nama : Anggik Tri Mardiningsih
NIM : 11620076
Fakultas/Jurusan : Sains dan Teknologi/Biologi
Judul Skripsi : Penghambatan Aktivitas Enzim *Xantin Oksidase* Oleh Ekstrak Etanol Daun Kacang Tanah (*Arachis hypogaea L.*) Secara *In Vitro*
Pembimbing I : Dr. Retno Susilowati, M.Si

No.	Tanggal	Hal	Tanda Tangan
1.	3 Oktober 2016	Pengajuan Judul Skripsi	1. [Signature]
2.	24 Oktober 2016	Konsultasi BAB I,II dan III	2. [Signature]
3.	1 November 2016	Revisi Bab I, II, dan III	3. [Signature]
4.	23 Desember 2016	Seminar Proposal	4. [Signature]
5.	12 Januari 2017	Revisi Bab I dan III	5. [Signature]
6.	28 Maret 2017	Konsultasi Bab I dan IV	6. [Signature]
7.	08 Mei 2017	Konsultasi BAB IV	7. [Signature]
8.	12 Juni 2017	Konsultasi Bab IV	8. [Signature]
9.	11 Juli 2017	Revisi Bab IV	9. [Signature]
10	19 Juli 2017	Acc Bab I, II, III, IV dan V	10. [Signature]

Malang, 19 Juli 2017

Mengetahui,

Ketua Jurusan Biologi



Dr. Evika Sandi Savitri, M.P
NIP. 19741018 200312 2 002



KEMENTERIAN AGAMA RI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI
MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI

Jl. Gajayana No. 50 Dinoyo Malang Telp. /Fax. (0341) 558933

BUKTI KONSULTASI SKRIPSI

Nama : Anggik Tri Mardiningsih
NIM : 11620076
Fakultas/Jurusan : Sains dan Teknologi/Biologi
Judul Skripsi : Penghambatan Aktivitas Enzim *Xantin Oksidase* Oleh Ekstrak Etanol Daun Kacang Tanah (*Arachis hypogaea* L.) Secara *In Vitro*
Pembimbing II : Umayyatus Syarifah, M.A

No.	Tanggal	Hal	Tanda Tangan
1.	15 Juni 2017	Konsultasi Bab I dan II Agama	1. /
2.	11 Juli 2017	Konsultasi Bab IV Agama	2. /
3.	19 Juli 2017	Revisi Bab I, II, dan IV Agama	3. /
4.	19 Juli 2017	ACC Keseluruhan Agama	4. /

Malang, 19 Juli 2017
Mengetahui,
Ketua Jurusan Biologi



Dr. Evika Sandi Savitri, M.P
NIP. 19741018 200312 2 002