



## Daya Inhibisi Ekstrak Pegagan (*Centella asiatica*) terhadap Aktivitas Enzim Xantin Oksidase sebagai Antihiperurisemia secara *in Vitro*

Meilisa Rusdiana Surya Efendi, Universitas Bojonegoro, Indonesia

### ABSTRACT

Uric acid is produced by the body as the waste material of the metabolism contained purine. Uric acid is a product of catalyzed oxidation of xanthine reaction by the xanthine oxidase enzyme. In medical term, decreasing uric acid levels in the blood is done by adding inhibitors to restrain the activity of the xanthine oxidase enzyme, and one of which is taking allopurinol. This research is done to determine the secondary metabolites compound contained in the ethanol extract also its inhibition power towards xanthine oxidase enzyme. The results of the study showed that alkaloids, flavonoids, saponins and polyphenols were found in the ethanol extract of pennywort. In 100 ppm concentration the inhibition capacity of ethanol extract from pennywort leaves, are 75%, also Allopurinol 10 ppm is 75%. To obtain the inhibition capability with 1 tablet of allopurinol, it needed pennywort leaf as 378.62 g (using ethanol solvent).

### ARTICLE HISTORY

Submitted 08/11/2024  
Revised 21/11/2024  
Accepted 28/11/2024

### KEYWORDS

Daya inhibisi; ekstrak pegagan;enzim xanthin oksidase;antihiperurisemia;in vitro.

### CORRESPONDENCE AUTHOR

✉ [meilisarudiana11@gmail.com](mailto:meilisarudiana11@gmail.com)

DOI: <https://doi.org/10.30743/cheds.v7i1.10168>

## 1. PENDAHULUAN

Hiperurisemia yaitu kondisi peningkatan kadar asam urat dalam darah, telah dikenal sebagai faktor risiko utama dalam pengembangan berbagai gangguan kesehatan, terutama gout atau arthritis gout (Khosla et al., 2018). Dalam kondisi normal, asam urat merupakan produk akhir dari metabolisme purin, yang akan dikeluarkan melalui urin. Namun, dalam keadaan produksi yang berlebih atau ekskresi yang terganggu, akumulasi asam urat dapat terjadi dan membentuk kristal di jaringan tubuh, terutama sendi, sehingga menimbulkan peradangan yang menyakitkan (FitzGerald et al., 2020). Dalam beberapa dekade terakhir, penelitian untuk mencari senyawa-senyawa yang dapat menghambat enzim kunci dalam pembentukan asam urat, yaitu xantin oksidase, semakin berkembang. Xantin oksidase merupakan enzim utama yang mengkatalisis oksidasi hipoksantin menjadi xantin dan kemudian menjadi asam urat, sehingga aktivitasnya berperan besar dalam pengaturan kadar asam urat dalam tubuh (Huang et al., 2022). Inhibitor xantin oksidase, seperti allopurinol, telah digunakan secara luas sebagai agen terapi hiperurisemia (Borghi et al., 2019). Meskipun efektif, penggunaan allopurinol sering kali disertai efek samping yang serius, seperti reaksi alergi, gangguan gastrointestinal, dan pada kasus yang jarang, sindrom hipersensitivitas allopurinol yang bisa berakibat fatal (Gaffo et al., 2020). Kondisi ini mendorong penelitian untuk menemukan inhibitor alami yang lebih aman dan minim efek samping. Tanaman herbal menjadi sumber yang menarik dalam penemuan inhibitor alami karena memiliki beragam senyawa bioaktif yang sering kali dapat memberikan efek farmakologis serupa tanpa efek samping yang signifikan (Kim et al., 2019).

Pegagan (*Centella asiatica*) adalah salah satu tanaman herbal yang populer dalam pengobatan tradisional Asia. Tanaman ini dikenal memiliki berbagai aktivitas farmakologis, termasuk efek antiinflamasi, antioksidan, dan antimikroba, yang sebagian besar diduga berkaitan dengan kandungan senyawa aktif seperti asiaticoside, madecassoside, dan asam asiatik (Gupta et al., 2019). Beberapa penelitian telah menunjukkan potensi pegagan sebagai agen antioksidan yang kuat dan pelindung saraf, serta kemampuannya untuk meningkatkan sirkulasi darah dan mempercepat penyembuhan luka (Shukla et al., 2021). Potensi antioksidan pegagan menjadi dasar hipotesis bahwa tanaman ini juga dapat memberikan efek terapeutik dalam pengelolaan hiperurisemia. Kandungan flavonoid dan fenol dalam pegagan diperkirakan memiliki aktivitas inhibisi terhadap enzim xantin oksidase, yang memungkinkan penggunaannya sebagai inhibitor alami (Sharma et al., 2021). Senyawa-senyawa fenolik dan flavonoid diketahui mampu menghambat aktivitas xantin oksidase melalui mekanisme inhibisi kompetitif maupun non-kompetitif (Wu et al., 2020). Senyawa ini bekerja dengan berinteraksi pada sisi aktif enzim atau dengan mengubah struktur enzim secara tidak langsung, sehingga mengurangi kemampuan enzim tersebut untuk mengkatalisis reaksi oksidasi purin menjadi asam urat (Tsai et al., 2022). Beberapa studi melaporkan bahwa ekstrak tanaman dengan kandungan polifenol yang tinggi sering kali menunjukkan aktivitas inhibisi xantin oksidase yang signifikan, menunjukkan adanya korelasi antara



kandungan senyawa antioksidan dalam tanaman dan aktivitas penghambatan enzim xantin oksidase (Rahman et al., 2021).

Penelitian ini dirancang untuk menguji daya inhibisi ekstrak pegagan terhadap aktivitas enzim xantin oksidase secara *in vitro*, sebagai langkah awal dalam mengeksplorasi potensi pegagan sebagai agen antihiperurisemia. Penelitian ini didasari oleh tingginya kebutuhan akan alternatif terapi hiperurisemia yang lebih aman dan berasal dari bahan alami. Analisis secara *in vitro* terhadap ekstrak pegagan akan memberikan pemahaman lebih mendalam mengenai potensi tanaman ini sebagai sumber inhibitor alami xantin oksidase, serta mekanisme penghambatan yang mungkin terlibat. Selain itu, hasil penelitian ini diharapkan dapat mendukung pengembangan obat herbal berbasis pegagan yang efektif dalam pengelolaan hiperurisemia tanpa efek samping yang signifikan. Dalam penelitian ini, digunakan ekstrak pegagan yang diperoleh melalui metode ekstraksi tertentu yang dirancang untuk mempertahankan komposisi senyawa bioaktif dalam ekstrak tersebut. Ekstrak yang dihasilkan akan diuji untuk aktivitas penghambatannya terhadap enzim xantin oksidase menggunakan metode spektrofotometri. Dengan metode ini, akan diukur konsentrasi asam urat yang dihasilkan dalam kondisi enzimatis tertentu, sehingga efektivitas ekstrak pegagan sebagai inhibitor xantin oksidase dapat diketahui.

Data yang diperoleh dari penelitian ini akan dianalisis secara kuantitatif untuk menentukan potensi penghambatan yang dimiliki oleh ekstrak pegagan, serta konsentrasi inhibitor yang diperlukan untuk mencapai daya inhibisi optimal (IC<sub>50</sub>). Mengingat prevalensi hiperurisemia yang terus meningkat secara global, kebutuhan akan agen terapeutik yang aman dan efektif sangatlah mendesak. Oleh karena itu, penelitian ini bukan hanya memberikan perspektif baru dalam penanganan hiperurisemia melalui terapi berbasis tanaman, tetapi juga memberikan dasar bagi penelitian farmakologi yang lebih komprehensif mengenai peran senyawa alami sebagai inhibitor enzim.

## 2. METODE PENELITIAN

### 2.1 Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium dengan pendekatan kuantitatif, yang bertujuan untuk menguji daya inhibisi ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica*) terhadap aktivitas enzim xantin oksidase secara *in vitro*. Pendekatan eksperimental digunakan karena memungkinkan pengujian efek ekstrak pegagan pada kondisi yang terkontrol dan pengukuran kuantitatif terhadap aktivitas inhibisi.

### 2.2 Alat dan Bahan

Peralatan yang digunakan adalah *rotary vacuum evaporator*, pisau, Erlenmeyer 100 mL; 250 mL, pipet tetes, tabung reaksi, kertas saring, gelas beker 50 mL; 100 mL; 500 mL; 1000 mL, corong kaca, pipet volume 5 mL; 10 mL, Gelas ukur 10 mL; 50 mL, oven, labu takar 100 mL; 250 mL; 500 mL; 1000 mL, neraca analitik, kertas saring, dan spektrofotometer UV-Vis 1280 Shimadzu. Bahan yang digunakan susu sapi sebagai sumber enzim, xantin (Sigma Aldrich), Daun pegagan, buah sirsak, pH universal, Tablet Allopurinol 100 mg Generik (Indofarma), buffer fosfat 0,05 M pH 7,5, akuades, reagen Mayer, Wagner, Dragendorff, etanol 70 %, HCl 37 %, gelatin, FeCl<sub>3</sub> 1 %, amonia, NaOH 1 N.

### 2.3 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada periode Agustus hingga Oktober 2024 di Laboratorium Kimia Universitas Bojonegoro.

### 2.4 Target/Subjek Penelitian

Subjek penelitian ini adalah enzim xantin oksidase yang diperoleh dari isolasi susu sapi untuk memastikan kualitas dan aktivitas enzim yang stabil dalam uji *in vitro*. Target penelitian adalah mengukur efek inhibisi yang dihasilkan oleh ekstrak pegagan dalam berbagai konsentrasi terhadap aktivitas enzim tersebut. Ekstrak pegagan yang digunakan berasal dari daun yang telah dikeringkan dan diolah menjadi simplisia, kemudian diekstraksi menggunakan pelarut etanol 70%.

### 2.5 Prosedur

Prosedur penelitian ini yaitu preparasi sampel, ekstraksi sampel, skrining fitokimia, isolasi enzim, uji aktivitas enzim, uji inhibisi enzim.

#### 2.5.1 Preparasi Sampel

Daun pegagan dicuci bersih, kemudian dikeringkan pada suhu ruang atau dalam oven bersuhu rendah untuk mengurangi kadar air. Setelah kering, daun digiling hingga menjadi serbuk halus (simplisia) dan disimpan dalam wadah tertutup untuk mencegah kontaminasi.

### 2.5.2 Ekstraksi Sampel

Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 70%. Simplisia daun pegagan ditimbang sebanyak 50 gram, kemudian direndam dalam 500 mL etanol 70% dalam labu erlenmeyer. Campuran dibiarkan selama 24 jam pada suhu ruang dan dikocok secara periodik. Setelah 24 jam, larutan disaring menggunakan kertas saring untuk memisahkan filtrat dari residu. Filtrat yang diperoleh kemudian diuapkan menggunakan rotary evaporator pada suhu 40°C untuk menghilangkan pelarut, sehingga diperoleh ekstrak pekat daun pegagan.

### 2.5.3 Skrining Fitokimia

#### a. Uji Flavonoid

Ekstrak pegagan dicampurkan dengan beberapa tetes larutan NaOH 10%. Setelah penambahan NaOH, campuran diamati perubahan warnanya. Kehadiran flavonoid ditandai dengan perubahan warna menjadi kuning, yang akan menghilang ketika ditambahkan larutan HCl 10%. Perubahan warna kuning yang hilang setelah penambahan asam menunjukkan adanya flavonoid dalam ekstrak.

#### b. Uji Saponin

Ekstrak dicampur dengan air suling. Ekstrak digojlok dengan kuat selama beberapa menit dalam tabung reaksi. Kehadiran saponin ditunjukkan oleh terbentuknya busa stabil setinggi sekitar 1-2 cm yang bertahan lebih dari 10 menit.

#### c. Uji Tanin

Larutan ekstrak dicampurkan dengan larutan FeCl<sub>3</sub> 1%. Tambahkan beberapa tetes larutan FeCl<sub>3</sub> 1% ke dalam ekstrak. Kehadiran tanin ditunjukkan oleh terbentuknya warna biru kehitaman atau hijau pekat, tergantung jenis tanin yang ada.

#### d. Uji Polifenol

Ekstrak dicampurkan dengan larutan FeCl<sub>3</sub> 1%. Larutan ekstrak ditetesi beberapa tetes FeCl<sub>3</sub> 1%. Kehadiran polifenol ditandai dengan perubahan warna larutan menjadi hijau tua atau hitam.

#### e. Uji Alkaloid

Ekstrak dicampur dengan larutan HCl 2N, kemudian ditambahkan reagen Mayer, Wagner, dan Dragendorff secara terpisah. Larutan ekstrak ditetesi larutan HCl 2N, lalu masing-masing ditambah dengan reagen Mayer, Wagner, dan Dragendorff. Reagen Mayer akan menunjukkan endapan putih atau kuning pucat; reagen Wagner akan menghasilkan endapan cokelat kemerahan; dan reagen Dragendorff akan menghasilkan endapan oranye. Kehadiran alkaloid ditunjukkan oleh pembentukan endapan karakteristik pada masing-masing reagen.

### 2.5.4 Isolasi enzim xantin oksidase dari susu sapi

Susu sapi segar disimpan pada suhu rendah ( $\pm 4^{\circ}\text{C}$ ) untuk mencegah aktivitas mikroorganisme yang dapat mengurangi stabilitas enzim selama proses isolasi. Susu sapi dipanaskan secara perlahan hingga suhu sekitar 40°C, kemudian didinginkan dan disentrifugasi pada kecepatan tinggi (sekitar 5.000 rpm) selama 15-20 menit. Lapisan lemak yang terbentuk di bagian atas dihilangkan untuk mendapatkan fase bawah yang mengandung enzim xantin oksidase. Enzim xantin oksidase dipisahkan dengan teknik pengendapan bertahap menggunakan amonium sulfat. Pertama, amonium sulfat ditambahkan secara perlahan ke larutan susu (setelah lemak dihilangkan) hingga mencapai konsentrasi 40% saturasi. Proses ini dilakukan dengan pengadukan lembut untuk memastikan distribusi merata. Setelah penambahan amonium sulfat, campuran diinkubasi pada suhu 4°C selama 30 menit untuk memungkinkan pengendapan enzim. Larutan kemudian disentrifugasi pada 10.000 rpm selama 20 menit. Supernatan dipisahkan dan disimpan, sementara residu disimpan untuk tahap berikutnya. Supernatan yang diperoleh dari tahap pertama ditambahkan amonium sulfat hingga mencapai konsentrasi 60-80% saturasi untuk mengendapkan enzim xantin oksidase yang tersisa. Proses inkubasi dan sentrifugasi diulang seperti sebelumnya. Residu yang mengandung enzim dari tahap pengendapan terakhir dikumpulkan dan dilarutkan kembali dalam buffer fosfat 50 mM, pH 7,5, untuk menjaga aktivitas enzim. Untuk menghilangkan sisa amonium sulfat, larutan enzim dialisis dalam kantung dialisis terhadap buffer fosfat 50 mM, pH 7,5, selama 12-24 jam pada suhu 4°C. Buffer diganti setiap 4 jam untuk memastikan penghilangan amonium sulfat yang efektif.

### 2.5.5 Uji Aktivitas Enzim xantin oksidase

Pengujian aktivitas xantin oksidase berdasarkan Bergmeyer *dkk.*, (1974) sebanyak 1 mL xantin 0,15 mM ditambahkan 1,8 mL buffer fosfat 0,05 M pH 7,5. Campuran tersebut diukur serapannya pada 290 nm hingga konstan. Selanjutnya, ditambahkan 0,2 mL xantin oksidase diinkubasi pada suhu kamar (25°C) dan diukur serapannya pada 290 nm setiap 10 menit sampai 40 menit. Larutan buffer dan xantin digunakan sebagai blanko. Konsentrasi asam urat dihitung berdasarkan hukum Lambert-Beer dengan koefisien ekstingsi molar asam urat pada 290 nm pH 7,5 adalah 12,2 mM<sup>-1</sup>cm<sup>-1</sup> dan lebar kuvet 1 cm. Aktivitas enzim diperoleh dari persamaan linier kurva waktu terhadap konsentrasi asam urat.

### 2.5.6 Uji Inhibisi Enzim xantin oksidase

Pengujian tingkat daya inhibisi ekstrak etanol pegagan dengan mengukur absorbansi campuran antara substrat xantin, buffer fosfat, ekstrak kasar enzim dan ekstrak masing-masing sampel pada panjang gelombang 290 nm. Ekstrak diencerkan hingga konsentrasi 100 ppm dalam buffer kalium fosfat 0,05 M pH 7,5. Penambahan volume ekstrak divariasi mulai 0,2 mL dan 0,3 mL. Penambahan larutan buffer kalium fosfat 0,05 M pH 7,5 divariasi mulai 1,6 mL dan 1,5 mL kemudian ditambahkan 1 mL xantin 0,15 mM. 0,2 mL enzim. Campuran tersebut dihomogenkan, diinkubasi pada suhu kamar (25 °C), dan diukur serapannya pada 290 nm setiap 10 menit selama 40 menit. Perhitungan daya inhibisinya seperti pada penentuan aktivitas enzim. Uji Inhibisi Allopurinol menggunakan prosedur yang sama dengan uji inhibisi ekstrak pegagan dan buah sirsak. Hanya saja sampel diganti Allopurinol 10 ppm.

### 2.6 Teknik Pengumpulan Data dan Analisis Data

Penelitian ini dilakukan dengan teknik pengumpulan data secara kualitatif dan kuantitatif. Penelitian kualitatif dilakukan untuk memperoleh data kandungan senyawa metabolit sekunder pada pegagan. Penelitian kuantitatif dilakukan untuk memperoleh aktivitas enzim dan daya inhibisi enzim xantin oksidase pada ekstrak pegagan. Adapun analisis data penelitian ini dilakukan dengan spektrofotometer UV-VIS 1280 Shimadzu.

## 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 3.1 Uji Fitokimia

Hasil skrining fitokimia berdasarkan Tabel 1 menunjukkan bahwa ekstrak etanol pegagan mengandung flavonoid, saponin, polifenol, dan alkaloid, tetapi tidak mengandung tanin. Kehadiran flavonoid dan alkaloid dalam ekstrak pegagan dan sirsak memberikan indikasi potensial sebagai inhibitor enzim xantin oksidase. Menurut penelitian Cos et al. (2009), flavonoid memiliki gugus hidroksil pada posisi C5 dan C7 serta ikatan rangkap antara C2 dan C3 yang esensial untuk aktivitas inhibisi terhadap enzim ini. Alkaloid, di sisi lain, memiliki kemampuan mengikat situs aktif enzim melalui gugus hidroksilnya yang berfungsi sebagai akseptor elektron, sehingga dapat berperan sebagai inhibitor efektif xantin oksidase (Azmi, 2012). Temuan ini mendukung hipotesis bahwa tanaman tersebut memiliki senyawa bioaktif yang berpotensi untuk terapi hiperurisemia.

Tabel 1. Uji Fitokimia Ekstrak Etanol Pegagan

| Golongan Senyawa | Ekstrak Pegagan | Kontrol positif (Teh hijau) |
|------------------|-----------------|-----------------------------|
| Flavonoid        | +               | +                           |
| Saponin          | +               | +                           |
| Tanin            | -               | +                           |
| Polifenol        | +               | +                           |
| Alkaloid         |                 |                             |
| -Mayer           | -               | +                           |
| -Wagner          | +               | +                           |
| -Dragendorff     | +               | +                           |

Keterangan: (+) = ada, (-) = tidak ada

### 3.2 Uji Aktivitas Enzim Xantin Oksidase

Enzim yang digunakan pada penelitian ini merupakan ekstrak kasar enzim xantin oksidase yang diisolasi dari susu sapi. Enzim tersebut diisolasi menggunakan metode pengendapan ammonium sulfat yang lebih dikenal dengan metode *salting out*. Proses isolasi enzim xantin oksidase dari susu sapi menghasilkan supernatan dan residu. Supernatan dan residu tersebut kemudian di uji aktivitas enzimnya untuk mengetahui pada fraksi mana aktivitas enzim tersebut berada. Pengujian aktivitas enzim xantin oksidase pada residu dan supernatan dilakukan dengan mengukur absorbansi dari produk asam urat yang terbentuk pada panjang gelombang 290 nm. Absorbansi tersebut merupakan serapan maksimal asam urat. Absorbansi yang terbaca pada spektrofotometer UV kemudian dikonversikan supaya diketahui konsentrasi asam urat yang terbentuk yaitu menggunakan hukum Lambert-Beer.

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

Keterangan

A : absorbansi pada 290 nm

$\epsilon$  : koefisien ekstingsi molar asam urat pada 290 nm pH 7,5 adalah 12,2 mM<sup>-1</sup>cm<sup>-1</sup> (Bergmeyer, 1974)

b : lebar kuvet 1 cm

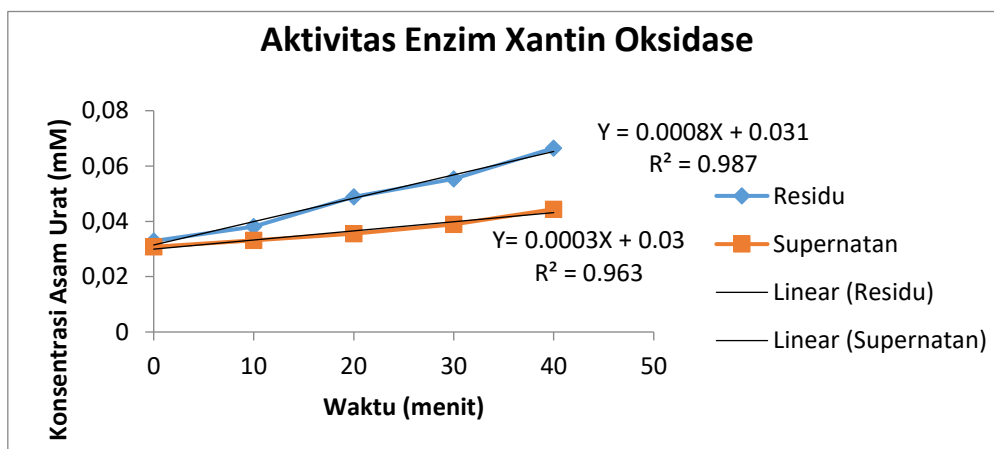
C : konsentrasi asam urat (mM)

Aktivitas enzim xantin oksidase diukur dengan memonitor absorbansi produk asam urat pada panjang gelombang 290 nm. Ekstrak kasar enzim xantin oksidase yang diperoleh dari isolasi dengan metode pengendapan ammonium sulfat menunjukkan aktivitas tertinggi pada fraksi residu dengan nilai 0,0008 U/mL, sedangkan fraksi supernatan memiliki aktivitas sebesar 0,0003 U/mL berdasarkan Tabel 2. Hasil ini menunjukkan bahwa aktivitas enzim xantin oksidase lebih banyak tertahan dalam fraksi residu dibandingkan fraksi supernatan.

Tabel 2. Aktivitas Xantin Oksidase pada Fraksinasi Amonium Sulfat 0-40%

| Fraksi     | Waktu (menit) | Absorbansi    | Konsentrasi Asam Urat (mM) | Aktivitas XO (U/mL) |
|------------|---------------|---------------|----------------------------|---------------------|
| Supernatan | 0             | 0,3763±0,0005 | 0,0308±0,0001              | 0,0003              |
|            | 10            | 0,4039±0,0035 | 0,0331±0,0007              |                     |
|            | 20            | 0,4352±0,0140 | 0,0356±0,0022              |                     |
|            | 30            | 0,4747±0,0017 | 0,0389±0,0008              |                     |
|            | 40            | 0,5424±0,0018 | 0,0444±0,0006              |                     |
| Residu     | 0             | 0,4012±0,0017 | 0,0329±0,0008              | 0,0008              |
|            | 10            | 0,4653±0,0018 | 0,0381±0,0006              |                     |
|            | 20            | 0,5972±0,0200 | 0,0489±0,0016              |                     |
|            | 30            | 0,6758±0,0310 | 0,0554±0,0017              |                     |
|            | 40            | 0,8118±0,0067 | 0,0665±0,0005              |                     |

Pengujian aktivitas ekstrak kasar enzim xantin oksidase menggunakan persamaan linear kurva hubungan pembentukan asam urat terhadap waktu Berdasarkan data yang diperoleh aktivitas tertinggi berada pada fraksi residu yaitu 0,0008 U/mL sedangkan pada fraksi supernatan aktivitasnya sebesar 0,0003 U/mL.



Gambar 1. Kurva Aktivitas Enzim Xantin Oksidase

### 3.3 Uji Inhibisi Enzim Xantin Oksidase

Pengujian daya inhibisi dilakukan dengan membandingkan efektivitas allopurinol sebagai kontrol positif dengan ekstrak etanol pegagan pada konsentrasi 100 ppm. Allopurinol menunjukkan daya inhibisi tertinggi sebesar 75% pada konsentrasi 10 ppm, sedangkan ekstrak etanol pegagan memberikan daya inhibisi yang setara pada konsentrasi 100 ppm. Data dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Daya Inhibisi Allopurinol dan Ekstrak Pegagan terhadap Enzim Xantin Oksidase

| Sampel          | Waktu (menit) | Absorbansi    | Konsentrasi Asam Urat (mM) | Aktivitas XO (U/mL) | Daya Inhibisi (%) |
|-----------------|---------------|---------------|----------------------------|---------------------|-------------------|
| Tanpa inhibitor | 0             | 0,4012±0,0017 | 0,0329±0,0008              | 0,0008              | 0                 |
|                 | 10            | 0,4653±0,0018 | 0,0381±0,0006              |                     |                   |
|                 | 20            | 0,5972±0,0200 | 0,0489±0,0016              |                     |                   |
|                 | 30            | 0,6758±0,0310 | 0,0554±0,0017              |                     |                   |

|                                |    |               |               |        |    |
|--------------------------------|----|---------------|---------------|--------|----|
|                                | 40 | 0,8118±0,0067 | 0,0665±0,0005 |        |    |
| Allopurinol 10 ppm             | 0  | 0,3025±0,0127 | 0,0248±0,0001 | 0,0002 | 75 |
|                                | 10 | 0,3147±0,0092 | 0,0258±0,0009 |        |    |
|                                | 20 | 0,3428±0,0112 | 0,0281±0,0009 |        |    |
|                                | 30 | 0,3818±0,0091 | 0,0313±0,0008 |        |    |
|                                | 40 | 0,4050±0,0067 | 0,0332±0,0005 |        |    |
| Ekstrak Etanol pegagan 100 ppm | 0  | 0,2477±0,0132 | 0,0203±0,0012 | 0,0002 | 75 |
|                                | 10 | 0,2647±0,0124 | 0,0217±0,0013 |        |    |
|                                | 20 | 0,2989±0,0017 | 0,0245±0,0008 |        |    |
|                                | 30 | 0,3429±0,0020 | 0,0281±0,0007 |        |    |
|                                | 40 | 0,3456±0,0006 | 0,0283±0,0002 |        |    |
|                                | 10 | 0,4587±0,0112 | 0,0376±0,0009 |        |    |
|                                | 20 | 0,5905±0,0084 | 0,0484±0,0010 |        |    |
|                                | 30 | 0,6276±0,0137 | 0,0514±0,0011 |        |    |
|                                | 40 | 0,6645±0,0067 | 0,0544±0,0005 |        |    |

Hasil ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol pegagan memiliki kemampuan inhibisi yang hampir setara dengan allopurinol, yang merupakan inhibitor kompetitif xantin oksidase. Inhibitor kompetitif, seperti allopurinol, bersaing dengan substrat enzim pada sisi aktifnya, yang menghambat pembentukan asam urat secara signifikan (Tsai et al., 2022).

Jumlah ekstrak suatu sampel yang dibutuhkan supaya mempunyai kesetaraan dengan allopurinol tergantung pada daya inhibisinya. Semakin tinggi daya inhibisi suatu sampel terhadap enzim xantin oksidase maka jumlah ekstrak yang dibutuhkan agar setara dengan 1 tablet Allopurinol semakin sedikit. Kesetaraan beberapa sampel terhadap Allopurinol dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Kesetaraan Ekstrak Pegagan terhadap 1 Tablet Allopurinol

| Jenis ekstrak          | Konsentrasi (ppm) | Setara dengan Allopurinol (ppm) | Massa Ekstrak Setara 1 Tablet Allopurinol (g) | Massa sampel Segar untuk Menghasilkan Ekstrak Setara 1 Tablet Allopurinol (g) |
|------------------------|-------------------|---------------------------------|---|---|
| Ekstrak etanol pegagan | 100               | 10                              | 3,00  | 378,62  |

#### 4. SIMPULAN DAN SARAN

##### 4.1 Simpulan

Hasil uji fitokimia ekstrak etanol pegagan menunjukkan terdapat senyawa metabolit sekunder flavonoid, alkaloid, saponin, dan polifenol. Pada konsentrasi 100 ppm daya inhibisi ekstrak etanol pegagan adalah 75% sedangkan Allopurinol pada konsentrasi 10 ppm daya inhibisinya sebesar 75%. Untuk mendapatkan daya inhibisi setara dengan 1 tablet Allopurinol diperlukan daun pegagan segar sebanyak 378,62 g (pelarut etanol).

##### 4.2 Saran

Dapat dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai daya inhibisi enzim xantin oksidase secara in vivo.

#### 5. DAFTAR PUSTAKA

- Al-Rawi, S. S., Al-Mahdawi, A. M., & Al-Dujaili, E. A. S. (2020). Antioxidant and xanthine oxidase inhibitory effects of some plant extracts traditionally used in Iraq to treat gout. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 27(11), 3143–3150. doi:10.1016/j.sjbs.2020.08.001.
- Azmi, A. (2012). Potential therapeutic applications of alkaloids in hyperuricemia and gout. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, 4(3), 161–167.
- Bergmeyer, H. U. (1974). *Methods of Enzymatic Analysis*. Academic Press.
- Borghini, C., Agabiti-Rosei, E., Johnson, R. J., Kielstein, J. T., & Touyz, R. M. (2019). Hyperuricemia and gout in cardiovascular, metabolic, and kidney disease. *Hypertension*, 74(6), 1361–1368. doi:10.1161/HYPERTENSIONAHA.119.14060.

- Cos, P., Ying, L., Calomme, M., Hu, J. P., Cimanga, K., Poel, B. V., & Vlietink, A. J. (2009). Structure-activity relationship and anti-infective potential of phenolic compounds. *Current Medicinal Chemistry*, 16(12), 1426–1440. doi:10.2174/092986709787909620.
- FitzGerald, J. D., Dalbeth, N., Mikuls, T., & Singh, J. A. (2020). Gout. *The Lancet*, 395(10227), 1315–1326. doi:10.1016/S0140-6736(20)30240-9.
- Gaffo, A. L., Saag, K. G., & Curtis, J. R. (2020). Allopurinol hypersensitivity syndrome: Implications for clinical practice and research. *Arthritis & Rheumatology*, 72(2), 314–324. doi:10.1002/art.41190.
- Gupta, S., Mishra, K., & Gupta, S. (2019). Pharmacological potential of *Centella asiatica* as an antioxidant and neuroprotective agent. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 112, 108–119. doi:10.1016/j.biopha.2019.108116.
- Huang, T. L., Lin, Y. W., Huang, H. C., & Liang, C. L. (2022). Novel xanthine oxidase inhibitors as potential therapeutics for hyperuricemia and gout. *Frontiers in Pharmacology*, 13, 877654. doi:10.3389/fphar.2022.877654.
- Jin, M., Yang, F., Yang, I., Yin, Y., Luo, J. J., Wang, H., & Yang, X. (2021). Uric acid, hyperuricemia and vascular diseases. *Frontiers in Bioscience*, 13(1), 1046–1058. doi:10.2741/2213.
- Kim, Y. K., Kang, S. Y., Kang, H. J., & Lee, K. M. (2019). Herbal treatment for gout and hyperuricemia: Review of literature. *Phytotherapy Research*, 33(5), 1137–1146. doi:10.1002/ptr.6302.
- Khosla, U. M., Zharikov, S., Finch, J. L., Nakagawa, T., Roncal, C., Mu, W., & Johnson, R. J. (2018). Hyperuricemia induces endothelial dysfunction. *Kidney International*, 74(4), 497–504. doi:10.1038/ki.2008.254.
- Rahman, T., Hosen, I., Towhidul Islam, M. M., & Shekhar, H. U. (2021). Oxidative stress and human health. *Advances in Bioscience and Biotechnology*, 11(6), 414–427. doi:10.4236/abb.2021.116035.
- Sharma, N., Gaurav, K., Sharma, V., & Singh, K. (2021). *Centella asiatica* as a source of potential therapeutic agents: A review. *Journal of Ethnopharmacology*, 267, 113–136. doi:10.1016/j.jep.2020.113136.
- Shukla, A., Rasheed, N., & Anand, R. (2021). Potential of *Centella asiatica* for therapeutic applications. *Journal of Pharmaceutical Research*, 13(2), 123–132.
- Tsai, C. F., Wang, H. C., Liu, H. M., & Chen, P. Y. (2022). The molecular mechanisms of xanthine oxidase inhibitors from natural products. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 36(1), e22942. doi:10.1002/jbt.22942.
- Wei, M. C., Chou, P. C., Ho, Y. Y., & Lin, T. S. (2018). In vitro xanthine oxidase inhibitory effects of selected Chinese medicinal herbs. *International Journal of Pharmacognosy*, 10(2), 112–117.
- Winarno, F. G. (1988). *Kimia Pangan dan Gizi*. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.
- Wu, X., Li, H., Wang, X., & Wang, C. (2020). Polyphenols and flavonoids as xanthine oxidase inhibitors: Current knowledge and future perspectives. *Current Enzyme Inhibition*, 16(3), 223–239. doi:10.2174/1573408616666200611094723.