

IDENTIFIKASI METABOLIT SEKUNDER DAN UJI INHIBISI XANTIN OKSIDASE EKSTRAK DAUN KERSEN (*Muntingia calabura L*)

*IDENTIFICATION OF SECONDARY METABOLITES AND XANTINE OXIDASE INHIBITION OF KERSEN LEAF EXTRACT (*Muntingia calabura L*)*

Meilisa Rusdiana Surya Efendi^{1*}, Ade Trisnawati²

¹Program Studi Kimia, Fakultas Sains dan Teknik, Universitas Bojonegoro

²Program Studi Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas PGRI Madiun

*Corresponding author: meilisarudiana11@gmail.com

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan senyawa golongan metabolit sekunder dan menguji kemampuan daun kersen dalam menghambat xantin oksidase. Daun kersen diekstraksi dengan cara dimaserasi menggunakan pelarut etanol 70% kemudian diuji secara kualitatif kandungan senyawa metabolit sekundernya. Pengujian penghambatan xantin oksidase dilakukan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 290 nm dengan kondisi pH 7,5, konsentrasi substrat xantin 0,15 mM, dan suhu inkubasi 30°C. Uji penghambatan pada Alopurinol memiliki nilai IC₅₀ sebesar 0,50 µg/mL sedangkan ekstrak daun kersen memiliki nilai IC₅₀ sebesar 1,17 µg/mL. Identifikasi secara kualitatif kandungan senyawa metabolit sekunder pada ekstrak etanol daun kersen mengandung flavonoid, saponin, tanin, steroid dan alkaloid.

Kata kunci: inhibisi xantin oksidase; daun kersen; metabolit sekunder

ABSTRACT

This research aims to determine the content of compound classes of secondary metabolites and examine the ability of kersen leaves in order to inhibits the xanthine oxidase. Kersen leaves got extracted through macerated by ethanol solvent 70% yhen being qualitatively examined for the content of its secondary metabolite compounds. The examination of inhibition the xanthine oxidase performed using spectrophotometer on wavelength 290 nm with 7,5 pH condition, xanthine substrate concentration 0,15 mM and incubation temperature 30°C. Inhibition test on Alupurinol has IC₅₀ value of 0,50 µg/mL, while extracted kersen leave has IC₅₀ value of 1,17 µg/mL. Qualitative identification of the content of secondary metabolite compounds in kersen leaves ethanol extract containing flavonoids, saponins, tannins, steroids and alkaloids.

Keywords: xantin oxidase inhibition, kersen leaves, secondary metabolite.

1. PENDAHULUAN

Keanekaragaman tumbuhan yang ada di Indonesia dapat dimanfaatkan untuk mengembangkan bahan baku obat herbal. Tumbuhan tersebut dapat menghasilkan senyawa metabolit sekunder yang berpotensi untuk dikembangkan menjadi obat berbagai penyakit (Balbaa *et al*; 2012). Salah satu tumbuhan yang dapat digunakan sebagai obat adalah kersen (*Muntingia calabura L.*) (Mahmood *et al*; 2014). Keberadaan

tumbuhan ini mulai tersingkirkan karena sering dianggap tidak punya nilai ekonomis dan kurangnya pemahaman tentang pemanfaatannya. Daun kersen dapat direbus atau direndam dengan air untuk pengobatan berbagai penyakit contohnya sebagai antioksidan, antiinflamasi, antimikroba, antidiabetik dan mengobati penyakit asam urat. Menurut Iikafah (2018) rebusan daun kersen dapat menurunkan kadar nyeri sendi pada penderita asam urat. Menurut Kuncoro (2019) daun kersen dapat menyembuhkan luka peradangan pada tikus putih galur wistar. Menurut Wa Ode (2020) perasan daun kersen dapat menurunkan kadar asam urat hiperurisemia pada mencit. Namun pada penelitian tersebut masih belum diketahui mekanisme yang spesifik untuk penurunan kadar asam urat, sehingga perlu dilakukan penelitian untuk menguji penurunan kadar asam urat secara *in vitro* dengan mekanisme penghambatan xantin oksidase.

Xantin oksidase adalah enzim yang berperan dalam mengkatalisis oksidasi hipoxantin menjadi xantin dan menjadi asam urat (Ursini *et al*; 2021). Inhibisi pada xantin oksidase dapat menekan biosintesis asam urat yang menjadi salah satu pendekatan untuk pengobatan hiperurisemia (Ayyappan *et al*; 2020). Hiperurisemia adalah peningkatan kadar asam urat di atas normal. Konsentrasi asam urat yang normal dalam darah adalah 7 mg/dL untuk pria dan untuk wanita sebesar 6 mg/dL.

Berdasarkan hal tersebut akan dilakukan uji aktivitas ekstrak etanol daun kersen (*Muntingia calabura L*) sebagai inhibitor enzim xantin oksidase untuk pengobatan hiperurisemia.

2. METODE PENELITIAN

2.1 Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental yang dilakukan di Laboratorium Universitas Bojonegoro.

2.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juni - Agustus 2022 di Laboratorium Kimia Program Studi Kimia Fakultas Sains dan Teknik Universitas Bojonegoro.

2.3 Alat dan Bahan Penelitian

2.3.1 Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *rotary vacuum evaporator*, pisau, erlenmeyer, tabung reaksi, corong kaca, pipet volume. Gelas ukur, neraca analitik, dan spektrofotometer UV-Vis.

2.3.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah xantin (Sigma Aldrich), daun kersen, pH universal, Tablet Allopurinol 100 mg Generik (Indofarma), buffer fosfat 0,05 M pH 7,5, etanol 70%, reagen Mayer, Wagner, Dragendorff, FeCl₃ 1%, Amonia dan NaOH 1N.

2.4 Prosedur

2.4.1 Persiapan Simplisia

Daun kersen sebanyak 2000 g dicuci dan dibersihkan dari kotoran berupa debu dan kotoran dengan air yang mengalir dan dipotong kecil-kecil kemudian dikeringkan di bawah sinar matahari. Setelah itu, daun kersen yang sudah kering diblender hingga menjadi serbuk, Diperoleh serbuk simplisia halus sebanyak 694 g.

2.4.2 Ekstraksi Simplisia

Serbuk daun kersen diekstraksi dengan menggunakan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 70%. Metode maserasi dilakukan selama 24 jam sambil dilakukan pengadukan. Sampel yang telah direndam selama 24 jam disaring dengan corong yang dilapisi kain untuk memisahkan ampas dan filtrat. Filtrat yang diperoleh dari proses ekstraksi diuapkan dengan *rotary evaporator* dengan suhu 40-50°C dengan kecepatan 30 rpm sampai diperoleh ekstrak kental. Ekstrak kemudian dihitung rendemennya menggunakan rumus berikut.

$$\% \text{ rendemen} = \frac{\text{Bobot Ekstrak kental}}{\text{Bobot Simplisia yang diekstraksi}} \times 100\%$$

Bobot ekstrak etanol daun kersen yang diperoleh yaitu 87,09 g.

2.4.3 Uji Kualitatif Metabolit Sekunder

2.4.3.1 Alkaloid

Sebanyak 1 g ekstrak etanol daun kersen di larutkan dalam 5 mL kloroform ditambahkan 5 mL amoniak dan 10 tetes HCl 2 M hasilnya dibagi menjadi 2 tabung. Tabung 1 ditambahkan reagen Dragendroff, tabung 2 ditambahkan reagen Wagner. Hasil uji positif alkaloid untuk pereaksi dragendroff menunjukkan adanya endapan jingga sedangkan hasil uji positif untuk pereaksi wagner adanya endapan coklat.

2.4.3.2 Saponin

Ekstrak etanol daun kersen sebanyak 1 g dilarutkan dengan air panas sebanyak 15 mL kemudian dipanaskan selama 5 menit dan disaring. Filtrat diambil 10 mL dimasukkan ke tabung reaksi. Lrutan dikocok selama 10 detik. Adanya buih atau busa menandakan adanya saponin dalam sampel.

2.4.3.3 Flavonoid

Ekstrak etanol daun kersen sebanyak 1 g dimasukkan dalam 5 mL etanol 70% dan HCl 37% sebanyak 10 tetes. Larutan tersebut dipanaskan dalam penanagas air. Hasil positif ditunjukkan oleh adanya perubahan warna menjadi kuning, jingga atau merah.

2.4.3.4 Tanin

Sampel ekstrak etanol daun kersen sebanyak 1 g ditambahkan 10 mL air, dididihkan selama 5 menit dan disaring, Filtrat diambil 10 mL kemudian ditambahkan gelatin, Adanya tanin ditunjukkan dengan pembentukan endapan putih.

2.4.3.5 Terpenoid

Ekstrak kental etanol yang diperoleh pada tahap ekstraksi ditimbang sebanyak 1 g dan ditambahkan 2 mL etanol, 1 mL kloroform dan 1 mL H₂SO₄ pekat. Adanya terpenoid ditunjukkan dengan adanya perubahan warna larutan menjadi merah.

2.4.3.6 Steroid

Ekstrak daun kersen sebanyak 1 g ditambahkan 1 mL kloroform dan ditambahkan 3 tetes H₂SO₄ 3 M. Uji positif adanya steroid terjadinya perubahan warna menjadi coklat.

2.4.4 Uji Inhibisi Xantin Oksidase

Uji inhibisi xantin oksidase dilakukan terhadap allopurinol dan ekstrak etanol daun kersen dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Pengujian ini dilakukan untuk mengukur asam urat yang terbentuk dari reaksi yang dikatalisis oleh xantin oksidase. Pengujian dilakukan pada larutan blanko, kontrol allopurinol, dan kontrol sampel. Kontrol positif digunakan allopurinol dengan konsentrasi 0,1; 0,2; 0,5; dan 1,0 µg/mL. Kontrol positif dibuat dengan 10 mg allopurinol yang dilarutkan dengan 4 tetes NaOH 1 N dan diencerkan dengan 10 mL aquades.

Untuk pengujian sampel ekstrak etanol daun kersen dengan cara mereaksikan sebanyak 1 mL sampel dengan dapar fosfat pH 7,5 sebanyak 3 mL dan ditambahkan substrat xantin 0,15 mM. Sampel dibuat dengan konsentrasi 1; 5; 10; 20; 50 dan 100 µg/mL. Lalu diinkubasi pada suhu 30°C selama 10 menit. Campuran

tadi ditambahkan xantin oksidase sebanyak 0,1 mL dan dukur pada panjang gelombang 290 nm. Prosedur pengujian penghambatan aktivitas xantin oksidase dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1: Prosedur pengujian penghambatan aktivitas xantin oksidase

Bahan	Volume (mL)		
	Sampel	Kontrol Positif	Blanko
Larutan ekstrak (1,5,10,20,50,100 µg/mL)	1	-	-
Larutan Allopurinol (0,1;0,2;0,5;1,0 µg/mL)	-	1	-
Fosfat pH 7,5	3	3	3
Substrat xantin 0,15 mM	2	2	
Diinkubasi 30°C selama 10 menit			
Larutan xantin oksidase	0,1	0,1	0,1
Diinkubasi 25°C selama 30 menit			
HCl	1	1	1
Absorbansi diukur pada 290 nm			

Adanya inhibisi xantin oksidase dapat diketahui dari nilai % penghambatan yang dihitung dengan persamaan sebagai berikut:

$$\% \text{ penghambatan} = \frac{\text{Absorbansi blanko} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi blanko}} \times 100\%$$

Nilai IC_{50} menunjukkan jumlah penghambat yang dibutuhkan untuk mencapai penghambat 50% enzim. IC_{50} ditentukan melalui regresi linier, dimana sumbu x menunjukkan konsentrasi sampel dan sumbu y menunjukkan % penghambatan. Dari persamaan $y = a + bx$ dapat dihitung nilai IC_{50} menggunakan rumus berikut:

$$IC_{50} = \frac{50 - a}{b}$$

2.5 Teknik Pengumpulan Dan Analisis Data

Penelitian ini dilakukan dengan teknik pengumpulan data secara kualitatif dan kuantitatif. Penelitian kualitatif dilakukan untuk mendapatkan data kandungan metabolit sekunder pada daun kersen. Penelitian kuantitatif dilakukan untuk mengukur daya hambat xantin oksidase pada ekstrak etanol daun kersen dan allopurinol. Analisis data dalam penelitian ini berdasarkan hasil pengukuran absorbansi terhadap penghambatan aktivitas xantin oksidase pada ekstrak etanol daun kersen dan tablet allopurinol,

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun kersen yang diambil di pekarangan Fakultas Sains dan Teknik Universitas Bojonegoro. Sampel dicuci dan dibersihkan dari pengotor berupa debu sebelum dilakukan proses ekstraksi dan dikeringkan di bawah sinar matahari. Proses pengeringan bertujuan untuk menghilangkan kadar air karena dapat mengganggu proses penarikan zat aktif dan kandungan air juga dapat menyebabkan tumbuhnya jamur pada sampel. Setelah sampel kering dihaluskan dan dilakukan pengayakan dengan ayakan 100 mesh. Proses ini bertujuan untuk memperluas permukaan sampel dengan pelarut sehingga proses ekstraksi menjadi optimal. Proses pengayakan bertujuan untuk menyeragamkan ukuran partikel.

Pada penelitian ini dilakukan uji kualitatif golongan senyawa metabolit sekunder dan uji aktivitas ekstrak etanol daun kersen sebagai inhibitor enzim xantin oksidase. Tahapan awal yang dilakukan pada penelitian ini adalah dengan pembuatan ekstrak daun kersen menggunakan metode ekstraksi cara dingin yaitu maserasi. Proses ekstraksi daun kersen dilakukan dengan cara maserasi menggunakan pelarut etanol 70%. Metode ini dipilih karena mudah dilakukan dan murah. Selain itu proses perendaman yang lama memungkinkan terjadi pemecahan dinding dan membran sel akibat perbedaan tekanan di dalam dan di luar sel, sehingga metabolit sekunder yang ada di dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut (Harbone, 1987). Hasil yang diperoleh dari metode ekstraksi daun kersen dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2: Persen Rendemen Ekstrak Etanol Daun Kersen (*Muntingia calabura L*)

Jenis Pelarut	Volume Pelarut (mL)	Berat Sampel Kering (g)	Berat Ekstrak (g)	Persen Rendemen (%)
Etanol 70 %	7000	694	87,09	12,54

Pemilihan pelarut etanol ialah karena gugus OH dalam etanol memiliki kemampuan melarutkan molekul polar, ion-ion dan gugus alkilnya dapat berikatan dengan bahan non polar. Dengan demikian etanol dapat melarutkan baik molekul polar maupun nonpolar (Hayatus *et al*; 2015). Adapun ekstrak etanol daun kersen yang diperoleh yaitu 87,09 gram dengan persen rendemen yang diperoleh sebesar 12,54 %.

Pengujian fitokimia secara kualitatif dilakukan untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder pada ekstrak etanol daun kersen. Pengujian fitokimia untuk metabolisme sekunder golongan alkaloid, tanin, terpenoid, saponin, flavonoid dan steroid. Pengujian metabolit sekunder ini menggunakan pereaksi berwarna kecuali untuk pengujian saponin. Hasil identifikasi secara kualitatif senyawa golongan metabolit sekunder ditunjukkan pada Tabel 3.

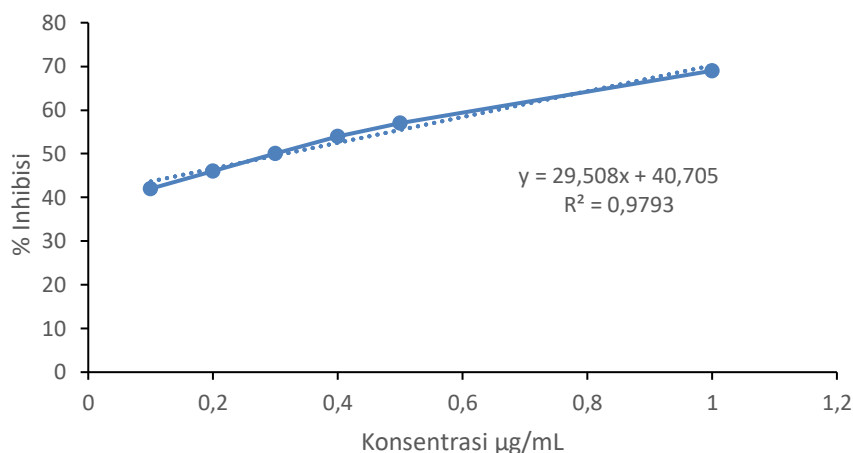
Tabel 3: Hasil Identifikasi secara Kualitatif Senyawa Fitokimia

Ekstrak	Senyawa Fitokimia					
	Alkaloid	Terpenoid	Saponin	Flavonoid	Steroid	Tanin
Etanol 70 %	+	-	+	+	+	+

Berdasarkan hasil uji kualitatif senyawa metabolit sekunder didapatkan bahwa ekstrak etanol daun kersen mengandung senyawa alkaloid, saponin, flavonoid, steroid dan tannin. Senyawa aktif alkaloid dan flavonoid mampu menghambat xantin oksidase karena alkaloid memiliki gugus hidroksil sebagai akseptor electron dari xantin oksidase sedangkan flavonoid mempunyai gugus hidroksil dari atom C5 dan C7 serta ikatan rangkap antara C2 dan C3 yang dapat menghambat xantin oksidase. Metabolit sekunder tersebut terdapat pada daun kersen sehingga berpotensi sebagai inhibitor enzim xantin oksidase (Azmi *et al*; 2012).

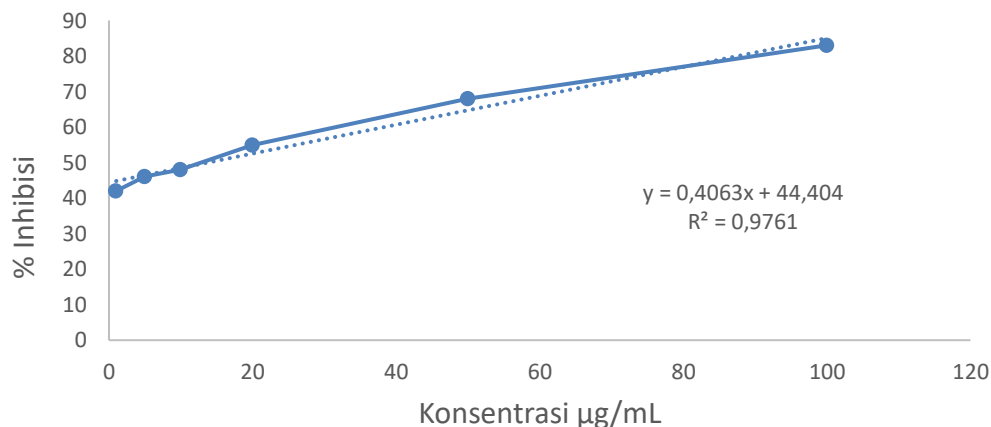
Uji Inhibisi enzim xantin oksidase menggunakan ekstrak etanol daun kersen dan allopurinol. Penggunaan Allopurinol digunakan sebagai kontrol positif karena obat ini mampu menghambat enzim xantin oksidase secara maksimal. Allopurinol memiliki struktur yang mirip dengan substrat xantin oksidase sehingga akan berkompetisi memperebutkan sisi aktif enzim. Langkah pertama yang dilakukan adalah uji pendahuluan untuk menentukan kondisi optimum dari konsentrasi substrat, pH fosfat, suhu pra inkubasi dan inkubasi agar aktivitas enzim dapat bekerja secara optimal. Pengujian penghambatan aktivitas xantin oksidase dilakukan pada panjang gelombang 290 nm.

Berdasarkan hasil uji pendahuluan penghambatan aktivitas xantin oksidase maka diperoleh kondisi pengukuran pada panjang gelombang 290 nm, suhu inkubasi 30°C, pH fosfat 7,5 dan konsentrasi substrat 0,15 mM. Pengujian dilakukan pada larutan blanko, kontrol allopurinol dan kontrol sampel. Pengujian larutan blanko dilakukan untuk mengetahui aktivitas enzim tanpa penambahan ekstrak. Hasil pengujian standar allopurinol diperoleh nilai IC₅₀ sebesar 0,50 µg/mL. Lihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Data Pengukuran IC_{50} Alopurinol terhadap Aktivitas Xanthin Oksidase

Selanjutnya, pengujian daya hambat xantin oksidase pada ekstrak etanol daun kersen dibuat dengan konsentrasi 1, 5, 10, 15, 20, 50 dan 100 µg/mL. Hasil pengujian ekstrak etanol daun kersen diperoleh nilai IC_{50} sebesar 1,17 µg/mL. Lihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Data Pengukuran IC_{50} Ekstrak Daun Kersen terhadap Aktivitas Xanthin Oksidase

4. SIMPULAN DAN SARAN

4.1 Simpulan

Senyawa yang terdapat pada ekstrak etanol daun kersen adalah flavonoid, saponin, tanin, steroid dan alkaloid. Uji penghambatan terhadap xantin oksidase pada Alopurinol memiliki nilai IC_{50} sebesar 1,17 µg/mL sedangkan ekstrak daun kersen memiliki nilai IC_{50} sebesar 2,59 µg/mL.

4.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk dapat memastikan metabolit sekunder pada ekstrak etanol daun kersen yang mampu menghambat enzim xantin oksidase

5. DAFTAR PUSTAKA

- Ayyapan, P., Nampoothiri S. (2020). Bioactive natural products as potent inhibitors of xanthin oxidase. *Journal of Natural Products Chemistry*, 64 (13), 391-416
- Azmi, S.M.N., Jamal P., Amid A. (2012). Xanthine oxidase inhibitory activity from potential Malaysian medicinal plant as remedies for gout. *Int Food Res Journal*, 19(1), 159-165
- Balbaa, M. (2012). Enzyme inhibitors as therapeutic tools. *Journal of Biochem Physiol*, 1 (2), 100-103
- Harborne, J.B. (1987). Metode Fitokimia: Penuntun cara modern menganalisis tumbuhan (Diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro). Bandung: ITB Press
- Hayatus, S., Henny, N. (2015) Perbandingan pelarut etanol dan air pada pembuatan ekstrak umbi bawang tiwai (*Eleutherine americana* Merr) menggunakan metode maserasi. *Jurnal ilmiah hanuntung*, 1 (2), 149-153
- Ikafah. (2018). Daun kersen (*Muntingia calabura* L) sebagai alternatif terapi pada penderita gout arthritis. *Pharmacy Medical Journal*, 1 (1), 33-41
- Kuncoro, H., Intan P. (2019). Uji firokimia kersen (*Muntingia calabura* L) dan pemanfaatannya sebagai alternatif penyembuhan luka. Prossiding, Seminar dan Musyawarah Nasional MIPA yang diselenggarakan oleh FMIPA UMRI, tanggal 1 Agustus 2019. Riau: Universitas Riau
- Mahmood, N., Nasir N., Rofiee M. *et al* (2014). *Muntingia calabura*: a review of its traditional uses, chemical properties. And pharmacological observations. *Journal of Pharm Biol.*, 52 (12), 1598-1628
- Ursini, F., De Giorgi, A., Fabbian, F., *et al.* (2021). Chronobiology and chronotherapy in inflammatory joint diseases. *Pharmaceutics*, 13, 1832
- Wa Ode, H., Sitti, W.A., Jusrianti. (2020). Kadar asa murat menciit hiperurisemia setelah pemberian perasan daun kersen (*Muntingia calabura* L.) dan daun kelor (*Moringa oleifera* L). *Journal of biological research*, 7(1), 1090-1096