



UNIVERSITAS INDONESIA

**UJI PENGHAMBATAN AKTIVITAS XANTIN OKSIDASE
SECARA *IN VITRO* PADA TEH CELUP KOMBINASI DAUN
GANDARUSA (*Justicia gendarussa* Burm.) DAN KALIKS
ROSELA (*Hibiscus sabdariffa* Linn.)**

SKRIPSI

**KURNIAWAN ADI SAPUTRA
0806398373**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
PROGRAM STUDI FARMASI
DEPOK
JULI 2012**



UNIVERSITAS INDONESIA

**UJI PENGHAMBATAN AKTIVITAS XANTIN OKSIDASE
SECARA *IN VITRO* PADA TEH CELUP KOMBINASI DAUN
GANDARUSA (*Justicia gendarussa* Burm.) DAN KALIKS
ROSELA (*Hibiscus sabdariffa* Linn.)**

SKRIPSI

Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana sains

**KURNIAWAN ADI SAPUTRA
0806398373**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
PROGRAM STUDI FARMASI
DEPOK
JULI 2012**

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

Skripsi ini adalah hasil karya saya sendiri, dan semua sumber baik yang dikutip maupun dirujuk telah saya nyatakan dengan benar.

Nama : Kurniawan Adi Saputra

NPM : 0806398373

Tanda Tangan :



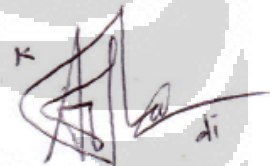
Tanggal : Juli 2012

SURAT PERNYATAAN BEBAS PLAGIARISME

Saya yang bertanda tangan di bawah ini dengan sebenarnya menyatakan bahwa skripsi ini saya susun tanpa tindakan plagiarisme sesuai dengan peraturan yang berlaku di Universitas Indonesia.

Jika di kemudian hari ternyata saya melakukan plagiarisme, saya akan bertanggung jawab sepenuhnya dan menerima sanksi yang dijatuhkan oleh Universitas Indonesia kepada saya.

Depok, Juli 2012

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Kurniawan Adi Saputra', with a small 'K' and 'di' visible.

Kurniawan Adi Saputra

HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh :

Nama : Kurniawan Adi Saputra

NPM : 0806398373

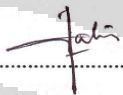
Program Studi : Farmasi

Judul Skripsi : Uji Penghambatan Aktivitas Xantin Oksidase Secara *In Vitro* pada Teh Celup Kombinasi Daun Gandarusa (*Justicia gendarussa* Burm.) dan Kaliks Rosela (*Hibiscus sabdariffa* Linn.)

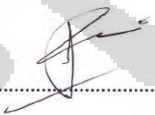
Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi pada program studi Sarjana Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia

DEWAN PENGUJI

Pembimbing I : Dr. Katrin, M.S

()


Pembimbing II : Dra. Juheini Amin, M.Si., Apt.

()

Penguji I : Dr. Berna Elya, M.Si

()

Penguji II : Drs. Hayun, M.Si

()

Ditetapkan di :

Tanggal : Juli 2012

KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur kepada Allah SWT yang senantiasa mencurahkan nikmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi ini. Penulisan skripsi ini dilakukan dalam rangka memenuhi persyaratan untuk mencapai gelar Sarjana Farmasi Departemen Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia.

Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu penulis selama penelitian dan penyusunan skripsi ini, antara lain kepada:

1. Ibu Dr. Katrin, M.S selaku pembimbing pertama skripsi dan Ibu Dra. Juheini Amin, M.S selaku pembimbing kedua skripsi yang telah meluangkan waktu, tenaga, dan pikiran untuk memberikan bimbingan, saran, dan nasehat dalam penelitian dan penyusunan skripsi ini;
2. Ibu Prof. Dr. Yahdiana Harahap, M.S., Apt. selaku Dekan Fakultas Farmasi UI yang telah memberikan kesempatan pada penulis untuk melaksanakan penelitian;
3. Bapak Sutriyo, M.S., Apt. selaku pembimbing akademik yang telah memberikan saran dan ijin untuk dapat melakukan penelitian dan penyusunan skripsi ini;
4. PT. Kimia Farma atas pemberian Allopurinol yang diperlukan selama penelitian;
5. Seluruh dosen pengajar, laboran, dan staf karyawan Fakultas Farmasi UI yang telah membantu kelancaran dalam perkuliahan, penelitian, dan penyusunan skripsi ini;
6. Ibu, ayah, adik, dan seluruh keluarga besarku yang selalu memberikan doa, kasih sayang, semangat, nasehat, motivasi, dan dukungan material;
7. Teman-teman penelitianku, Wardah, Trias, Nita, Devin, Yunita, Tice, Kak Atika, Mamik, Indah, Bianca, Purwa, Ebong, Novia dan Yudhi yang telah banyak membantu dan menemani selama masa-masa penelitian sehingga setiap pekerjaan menjadi lebih mudah ketika dikerjakan bersama-sama;
8. Teman-teman KBI Fitokimia yang selalu memberikan semangat dan dukungan selama melaksanakan penelitian ini;

9. Teman-teman Farmasi angkatan 2008 yang telah berjuang dan menghabiskan waktu bersama di farmasi sehingga membuat masa-masa perkuliahan menjadi menyenangkan.

Penulis berharap Allah SWT membalas segala kebaikan semua pihak yang telah membantu. Penulis menyadari masih terdapat banyak kekurangan dalam penulisan skripsi. Semoga skripsi ini bermanfaat bagi pengembangan ilmu farmasi.

Penulis,

2012



**HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI
TUGAS AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

Sebagai sivitas akademik Universitas Indonesia, saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Kurniawan Adi Saputra
NPM : 0806398373
Program Studi : Farmasi
Departemen : Farmasi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Jenis karya : Skripsi

demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Indonesia Hak Bebas Royalti Noneksklusif (*Non-exclusive Royalty Free Right*) atas karya ilmiah saya yang berjudul :

Uji Penghambatan Aktivitas Xantin Oksidase Secara *In Vitro* pada Teh Celup Kombinasi Daun Gandarusa (*Justicia gendarussa* Burm.) dan Kaliks Rosela (*Hibiscus sabdariffa* Linn.)

beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Indonesia berhak menyimpan, mengalihmedia/format-kan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (database), merawat, dan memublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Depok
Pada tanggal : Juli 2012
Yang menyatakan



(Kurniawan Adi Saputra)

Abstrak

Nama : Kurniawan Adi Saputra
Program Studi : Farmasi
Judul : **Uji Penghambatan Aktivitas Xantin Oksidase Secara *In Vitro* pada Teh Celup Kombinasi Daun Gandarusa (*Justicia gendarussa* Burm.) dan Kaliks Rosela (*Hibiscus sabdariffa* Linn.).**

Gandarusa dan rosela merupakan tanaman obat yang sering digunakan dalam pengobatan tradisional untuk menurunkan kadar asam urat dalam darah. Kedua tanaman ini banyak mengandung metabolit sekunder sehingga berpotensi sebagai penghambat aktivitas enzim xantin oksidase dalam mengkatalisis oksidasi xantin menjadi asam urat, yang berperan penting dalam penyakit reumatik. Dalam penelitian ini, dilakukan uji fitokimia terhadap ekstrak air daun gandarusa (*Justicia gendarussa*) dan kaliks rosela (*Hibiscus sabdariffa*), serta dikombinasikan menjadi sediaan teh herbal dalam berbagai perbandingan (10:0, 7:3, 5:5, 3:7 dan 0:10) dan dilakukan uji penghambatan aktivitas enzim xantin oksidase secara *in vitro* dari seduhan yang dibuat dengan menggunakan standard alopurinol sebagai pembanding. Uji fitokimia ekstrak air daun gandarusa menunjukkan adanya senyawa alkaloid, flavonoid, saponin dan glikosida, namun pada ekstrak air kaliks rosela tidak terdapat adanya alkaloid. Ekstrak air daun gandarusa memiliki aktivitas penghambatan terhadap enzim xantin oksidase lebih baik daripada kaliks rosela, dengan nilai IC_{50} sebesar 6,48 $\mu\text{g/ml}$ dan kaliks rosela sebesar 19,51 $\mu\text{g/ml}$, namun masih lebih rendah aktivitasnya bila dibandingkan dengan alopurinol dengan nilai IC_{50} 0,02 $\mu\text{g/ml}$. Dari semua ekstrak uji, kombinasi ekstrak air daun gandarusa dan kaliks rosela pada perbandingan 5:5 memiliki aktivitas penghambatan yang paling baik dengan nilai IC_{50} sebesar 4,24 $\mu\text{g/ml}$ sehingga berpotensi sebagai obat reumatik.

Kata Kunci : Xantin oksidase; gandarusa; rosela; flavonoid; alopurinol; daya inhibisi; konsentrasi inhibisi (IC_{50})

xiv + 80 halaman : 20 gambar; 31 tabel; 6 lampiran
Daftar Pustaka : 41 (1959-2011)

Abstract

Name : Kurniawan Adi Saputra
Program Study : Farmasi
Title : ***In Vitro* Inhibition of Xanthine Oxidase by Herbal Tea Combination from Gendarussa Leaves (*Justicia gendarussa* Burm.) and Roselle (*Hibiscus sabdariffa* Linn.)**

Gendarussa and roselle as common medicine herbs used in many traditional treatment for lowering uric acid on blood. Both plants have many secondary metabolite compounds potentially as xanthine oxidase inhibitory which is catalyses xanthine oxidation into uric acid, which plays a crucial role in gout. In this research, gendarussa leaves (*Justicia gendarussa*) and roselle's flower (*Hibiscus sabdariffa*) do a phytochemical test and both plants be combined to herbal tea in variant concentration (10:0, 7:3, 5:5, 3:7 and 0:10) and inhibition assay to xanthine oxidase activity by *in vitro*, compared by allopurinol as positive control. Gendarussa leaves phytochemical assay showed that alkaloid, flavonoid, saponin and glicoside compounds but alkaloid was not detected in roselle extract. Water extract from gendarussa leaves showed a bigger inhibition of xanthine oxidase with inhibition concentration 6,48 µg/ml than water roselle extract (19,51 µg/ml). But allopurinol is still have a high inhibition of xanthine oxidase activity than both water extracts with IC₅₀ value as 0,02 µg/ml. Among all water extracts, combination of gendarussa leaves and roselle on 5:5 had the biggest inhibition of xanthine oxidase activity with IC₅₀ value as 4,24 µg/ml indicated that it is potential to be development as gout's medicine.

Keywords : Xanthine oxidase; gendarussa; roselle; flavonoid; allopurinol; inhibition activity; inhibition concentration (IC₅₀)

xiv + 80 pages : 20 pictures; 31 tabels; 6 appendixs

References : 41 (1959-2011)

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	ii
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS.....	iii
HALAMAN BEBAS PLAGIARISME	iv
HALAMAN PENGESAHAN.....	v
KATA PENGANTAR	vi
HALAMAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH	viii
ABSTRAK	ix
ABSTRACT	x
DAFTAR ISI.....	.xi
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR TABEL.....	xiv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xv
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Tujuan Penelitian	3
1.3 Manfaat Penelitian	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....	4
2.1 Teh Herbal.....	4
2.2 Gandarusa (<i>Justicia gendarussa</i> Burm.).....	5
2.2.1 Klasifikasi Tanaman	5
2.2.2 Nama Daerah dan Nama Asing	5
2.2.3 Ekologi dan Penyebaran	5
2.2.4 Deskripsi Tanaman	6
2.2.5 Kandungan Kimia	6
2.2.6 Khasiat dan Kegunaan	6
2.3 Rosela (<i>Hibiscus sabdariffa</i> Linn.)	7
2.3.1 Klasifikasi Tanaman	7
2.3.2 Nama Daerah dan Nama Asing	7
2.3.3 Ekologi dan Penyebaran	8
2.3.4 Kandungan Kimia.....	8
2.3.5 Khasiat dan Kegunaan	8
2.4 Hiperurisemia	8
2.5 Xantin Oksidase	10
2.6 Alopurinol.....	12
2.7 Kromatografi	12
2.7.1 Kromatografi Lapis Tipis.....	13
2.8 Spektrofotometri UV-Vis.....	13
2.9 Uji Penghambatan Aktivitas Enzim Xantin Oksidase	15
2.10 Uji Kinetika Penghambatan Aktivitas Enzim Xantin Oksidase	15
BAB 3. METODE PENELITIAN.....	19
3.1 Lokasi Penelitian.....	19
3.2 Alat.....	19

3.3 Bahan	19
3.3.1 Bahan Uji	19
3.3.2 Bahan Kimia	19
3.4 Cara Kerja	20
3.4.1 Penyiapan Serbuk Simplisia	20
3.4.2 Penyiapan Larutan Uji Teh Celup Daun Gandarusa dan Kaliks Rosela	20
3.4.3 Pengujian Terhadap Simplisia dan Larutan Uji Daun Gandarusa dan Kaliks Rosela	20
3.4.3.1 Parameter Non-Spesifik	21
a. Persentase Kadar Air yang Hilang dari Simplisia	21
b. Kadar Abu Total	21
c. Kadar Abu Tak Larut dalam Asam	21
3.4.3.2 Parameter Spesifik	21
a. Uji Organoleptik	21
b. Uji Kadar Sari yang Terlarut dalam Pelarut Air	22
c. Uji Kadar Sari yang Terlarut dalam Pelarut Etanol	22
d. Uji Kandungan Kimia Ekstrak Secara KLT	22
e. Penetapan Kadar Flavonoid	22
3.4.3.3 Identifikasi Golongan Senyawa Kimia	23
a. Identifikasi Alkaloid	23
b. Identifikasi Flavonoid	24
c. Identifikasi Sterol / Terpen	24
d. Identifikasi Tanin	24
e. Identifikasi Saponin	25
f. Identifikasi Glikon	25
g. Identifikasi Kuinon dan Antrakuinon	25
3.4.4 Formulasi Teh Celup Kombinasi Daun Gandarusa dan Kaliks Rosela	26
3.4.5 Uji Penghambatan Aktivitas Enzim Xantin Oksidase	26
3.4.5.1 Pembuatan Larutan Substrat Xantin	26
3.4.5.2 Pembuatan Larutan Standard Alopurinol	27
3.4.5.3 Pembuatan Larutan Xantin Oksidase	27
3.4.5.4 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum	28
3.4.5.5 Penentuan Suhu Optimum	29
3.4.5.6 Penentuan pH Optimum	29
3.4.5.7 Penentuan Konsentrasi Substrat Xantin Optimum	29
3.4.5.8 Perhitungan Aktivitas Enzim	30
3.4.5.9 Pengujian Sampel	30
3.4.5.10 Pengujian Kontrol Sampel	31
3.4.5.11 Pengujian Standard	31
3.4.5.12 Perhitungan Penghambatan Aktivitas XOD	32
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	33
4.1 Penyiapan Bahan	33
4.2 Karakterisasi Simplisia	34
4.2.1 Karakterisasi Non-Spesifik Simplisia	34

4.2.1.1	Persentase Kadar Air yang Hilang dari Simplisia	34
4.2.1.2	Kadar Air	34
4.2.1.3	Kadar Abu Total	35
4.2.1.4	Kadar Abu Tak Larut dalam Asam	35
4.2.2	Karakterisasi Spesifik Simplisia	35
4.2.2.1	Kadar Sari yang Terlarut dalam Air	35
4.2.2.2	Kadar Sari yang Terlarut dalam Etanol	35
4.2.2.3	Pengujian Organoleptis	35
4.2.2.4	Pola Kromatogram	36
4.2.3	Identifikasi Golongan Senyawa	38
4.2.3.1	Identifikasi Alkaloid	39
4.2.3.2	Identifikasi Flavonoid	39
4.2.3.3	Identifikasi Glikon	39
4.2.3.4	Identifikasi Saponin	40
4.2.3.5	Identifikasi Sterol	40
4.2.3.6	Identifikasi Tanin	40
4.2.4	Penetapan Kadar Flavonoid	41
4.3	Uji Penghambatan Aktivitas Xantin Oksidase Secara In Vitro pada Teh Celup Kombinasi Daun Gandarusa dan Kaliks Rosela	42
4.3.1	Optimasi Panjang Gelombang Maksimum	43
4.3.2	Optimasi Suhu Pra-Inkubasi dan Inkubasi	43
4.3.3	Optimasi pH Larutan	43
4.3.4	Optimasi Konsentrasi Substrat	44
4.3.5	Uji Penghambatan Aktivitas Xantin Oksidase oleh Alopurinol ..	45
4.3.6	Uji Penghambatan Aktivitas Xantin Oksidase oleh Sampel	46
4.3.7	Uji Kinetika Penghambatan Xantin Oksidase	49
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN		51
5.1	Kesimpulan	51
5.2	Saran	51
DAFTAR PUSTAKA		52

DAFTAR GAMBAR

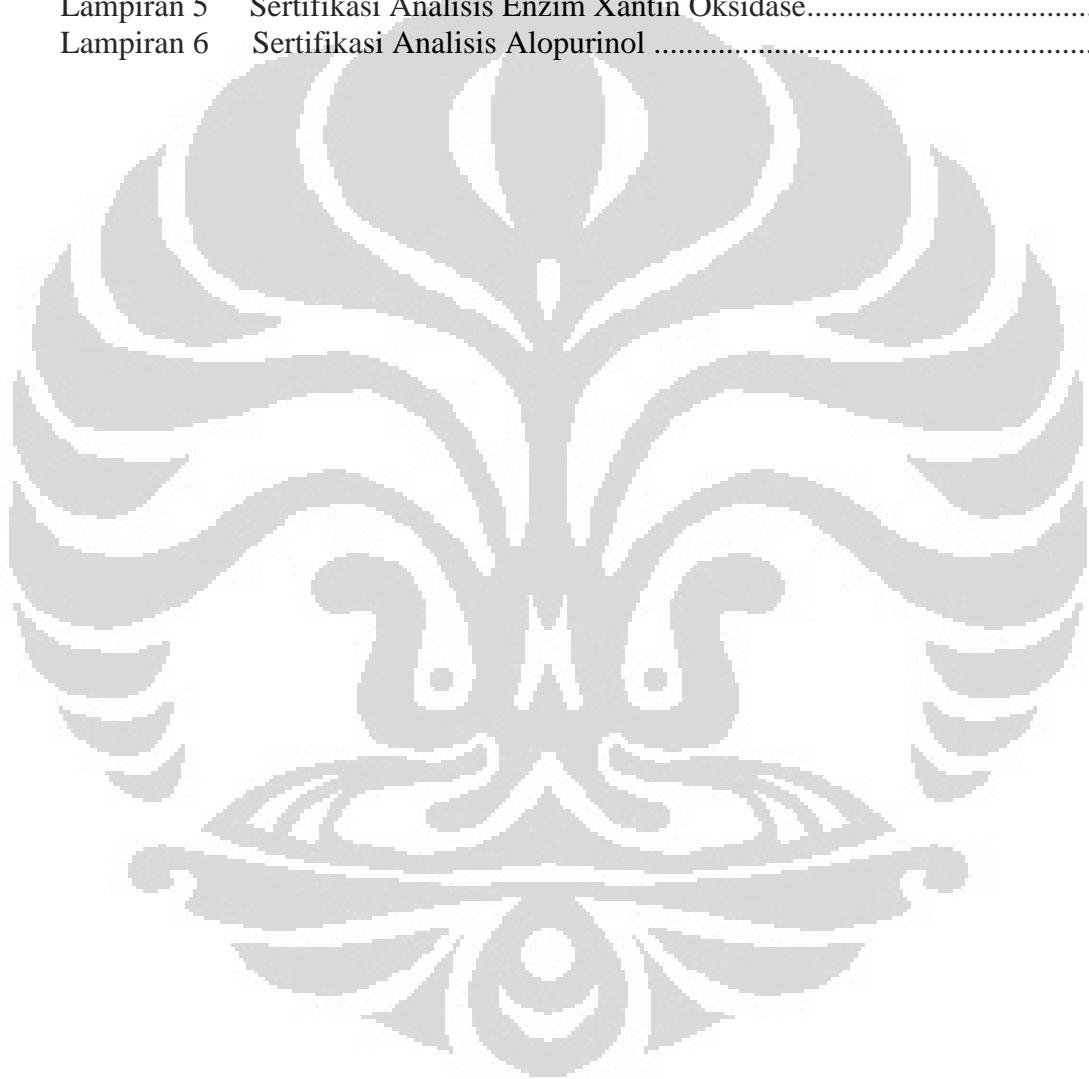
Gambar 2.1	Bagan Reaksi Perubahan Hipoxantin Menjadi Xantin	11
Gambar 2.2	Rumus Struktur Alopurinol	12
Gambar 2.3	Skema Kerja Alopurinol dalam Menghambat Pembentukan Asam Urat oleh Xantin Oksidase	12
Gambar 2.4	Plot Lineweaver-Burk dari $1/V_i$ terhadap $1/[S]$	17
Gambar 2.5	Plot Lineweaver-Burk yang Memperlihatkan Inhibisi Kompetitif ...	18
Gambar 2.6	Plot Lineweaver-Burk Untuk Inhibisi Nonkompetitif.....	19
Gambar 4.1	Hasil Elusi Ekstrak Air daun Gandarusa dan Kaliks Rosela Menggunakan Eluen Butanol : Asam Asetat : Air (4 : 1 : 5)	38
Gambar 4.2	Kurva Linieritas Standard Kuersetin pada λ 415,0 nm.....	44
Gambar 4.3	Kurva Optimasi Suhu untuk Uji Penghambatan Aktivitas Enzim Xantin Oksidase	46
Gambar 4.4	Kurva Optimasi pH untuk Uji Penghambatan Aktivitas Enzim Xantin Oksidase	46
Gambar 4.5	Kurva Data Optimasi Konsentrasi Substrat Xantin	47
Gambar 4.6	Kurva Linieritas Standard Alopurinol pada λ 281,5 nm.....	48
Gambar 4.7	Grafik Persen Inhibisi dari Seluruh Ekstrak Uji (50 ppm) dan Standard Alopurinol pada Konsentrasi (1 ppm).....	50
Gambar 4.8	Nilai IC_{50} dari Seluruh Ekstrak dan Standard Alopurinol	51
Gambar 4.9	Plot Lineaweaver-Burk Ekstrak Air Daun Gandarusa : Kaliks Rosela (5:5) pada Konsentrasi 50 ppm	52
Gambar 4.10	Kelopak Bunga Rosela	58
Gambar 4.11	Daun Gandarusa.....	58
Gambar 4.12	Simplisia Kelopak Bunga Rosela	58
Gambar 4.13	Simplisia Daun Gandarusa	58
Gambar 4.14	Kurva Linieritas Konsentrasi Larutan Terhadap Persen Inhibisi pada Ekstrak Air Daun Gandarusa 3,0 gram	59
Gambar 4.15	Kurva Linieritas Konsentrasi Larutan Terhadap Persen Inhibisi pada Ekstrak Air Daun Gandarusa 2,1 gram dengan Kaliks Rosela 0,9 gram	59
Gambar 4.16	Kurva Linieritas Konsentrasi Larutan Terhadap Persen Inhibisi pada Ekstrak Air Daun Gandarusa 1,5 gram dengan Kaliks Rosela 1,5 gram	59
Gambar 4.17	Kurva Linieritas Konsentrasi Larutan Terhadap Persen Inhibisi pada Ekstrak Air Daun Gandarusa 0,9 gram dengan Kaliks Rosela 2,1 gram	60
Gambar 4.18	Kurva Linieritas Konsentrasi Larutan Terhadap Persen Inhibisi pada Ekstrak Air Kaliks Rosela 3,0 gram	60
Gambar 4.19	Hasil Optimasi Panjang Gelombang Maksimum untuk Uji Penghambatan Aktivitas Enzim Xantin Oksidase	61
Gambar 4.20	Kurva Kinetika pada Ekstrak Uji Daun Gandarusa dan Kaliks Rosela dengan Tiga Macam Perbandingan (10 : 0; 5 : 5; dan 0 : 10)	62

DAFTAR TABEL

Tabel 4.1	Hasil Pengujian Organoleptis Teh Celup Kombinasi Daun Gandarusa dan Kaliks Rosela	37
Tabel 4.2	Nilai Rf KLT pada Ekstrak Air Daun Gandarusa 3,0 gram dengan Eluen Butanol : Asam Asetat : Air (4 : 1 : 5)	39
Tabel 4.3	Nilai Rf KLT pada Ekstrak Air Kaliks Rosela 3,0 gram dengan Eluen Butanol : Asam Asetat : Air (4 : 1 : 5).....	39
Tabel 4.4	Identifikasi Golongan Senyawa pada Ekstrak Air Daun Gandarusa dan kaliks Rosela.....	43
Tabel 4.5	Persentase Daun Gandarusa Kering terhadap Daun Gandarusa Segar	63
Tabel 4.6	Persentase Kaliks Rosela Kering terhadap Kaliks Rosela Segar.....	63
Tabel 4.7	Kadar Air Daun Gandarusa	63
Tabel 4.8	Kadar Air Kaliks Rosela.....	63
Tabel 4.9	Kadar Abu Total Daun Gandarusa	64
Tabel 4.10	Kadar Abu Total Kaliks Rosela.....	64
Tabel 4.11	Kadar Abu Tak Larut Asam Daun Gandarusa	64
Tabel 4.12	Kadar Abu Tak Larut Asam kaliks Rosela.....	64
Tabel 4.13	Kadar Sari yang Terlarut dalam Air Daun Gandarusa	65
Tabel 4.14	Kadar Sari yang Terlarut dalam Air Kaliks Rosela.....	65
Tabel 4.15	Kadar Sari yang Terlarut dalam Etanol Daun Gandarusa	65
Tabel 4.16	Kadar Sari yang Terlarut dalam Etanol Kaliks Rosela.....	65
Tabel 4.17	Persamaan Regresi Linier Standard Kuersetin untuk Perhitungan Penetapan Kadar Flavonoid	66
Tabel 4.18	Penetapan Kadar Flavonoid pada Sampel Uji	66
Tabel 4.19	Data Optimasi Suhu Optimum	67
Tabel 4.20	Data Optimasi pH Optimum.....	67
Tabel 4.21	Data Optimasi Konsentrasi Substrat Optimum	68
Tabel 4.22	Uji Penghambatan Aktivitas Enzim Xantin Oksidase pada Standard Alopurinol	68
Tabel 4.23	Nilai Persen Inhibisi dan IC ₅₀ pada Ekstrak Air Daun Gandarusa 3,0 gram.....	69
Tabel 4.24	Nilai Persen Inhibisi dan IC ₅₀ pada Ekstrak Air Daun Gandarusa 2,1 gram dengan Kaliks Rosela 0,9 gram.....	69
Tabel 4.25	Nilai Persen Inhibisi dan IC ₅₀ pada Ekstrak Air Daun Gandarusa 1,5 gram dengan Kaliks Rosela 1,5 gram.....	70
Tabel 4.26	Nilai Persen Inhibisi dan IC ₅₀ pada Ekstrak Air Daun Gandarusa 0,9 gram dengan Kaliks Rosela 2,1 gram.....	70
Tabel 4.27	Nilai Persen Inhibisi dan IC ₅₀ pada Ekstrak Air Kaliks Rosela 3,0 gram.....	71
Tabel 4.28	Hasil Uji Kinetika Ekstrak Air Daun Gandarusa 3,0 gram	71
Tabel 4.29	Hasil Uji Kinetika Ekstrak Air Kaliks Rosela 3,0 gram.....	72
Tabel 4.30	Hasil Uji Kinetika Ekstrak Air Daun Gandarusa 1,5 gram dengan Kaliks Rosela 1,5 gram (5 : 5)	72
Tabel 4.31	Hasil Uji Kinetika Non-Inhibitor.....	73

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	Skema Kerja Penelitian	74
Lampiran 1	Perhitungan Penetapan Kadar Flavonoid pada Teh Celup Daun Gandarusa 3,0 gram	75
Lampiran 2	Determinasi Tanaman Gandarusa oleh LIPI, Bogor	76
Lampiran 3	Determinasi Tanaman Rosela oleh LIPI, Bogor.....	77
Lampiran 4	Sertifikasi Analisis Xantin.....	78
Lampiran 5	Sertifikasi Analisis Enzim Xantin Oksidase.....	80
Lampiran 6	Sertifikasi Analisis Alopurinol	81



BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Asam urat merupakan suatu produk akhir metabolisme purin pada manusia yang bersifat tidak larut dalam air, dimana endapannya dalam bentuk kristal dapat menumpuk pada persendian dan ginjal, yang kemudian dapat menyebabkan penyakit pirai atau gout (Kumala *et al*, 1998). Penyakit reumatik gout ini disebabkan oleh tingginya kadar asam urat dalam darah (Dalimartha, 2008)

Seseorang yang berlebihan mengkonsumsi makanan berkadar purin tinggi seperti: daging, jeroan, kepiting, kerang, keju, kacang tanah, bayam, melinjo, sarden, santan, buncis, gorengan dan alkohol dapat meningkatkan produksi asam urat dalam tubuh meningkat. Selain itu adanya gangguan metabolisme urin bawaan, kelainan pembawa sifat atau gen, serta penyakit seperti leukimia (kanker sel darah putih) dan efek dari kemoterapi dan radioterapi, juga dapat menyebabkan peningkatan kadar asam urat dalam tubuh (Misnadiarly, 2008). Kondisi dimana terjadi peningkatan kadar asam urat dalam darah disebut hiperurisemia, sedangkan kadar asam urat normal pada pria adalah berkisar antara 3,5 – 7 mg/dl dan pada perempuan 2,6 – 6 mg/dl (Dalimartha, 2008).

Alopurinol dapat digunakan untuk mengobati penyakit pirai atau reumatik karena dapat menurunkan kadar asam urat. Alopurinol dapat menyebabkan efek samping seperti gangguan saluran cerna dan reaksi alergi berupa kulit kemerahan, demam, menggigil, leukopenia atau leukositosis, eosinofilia, artralgia dan pruritus (Wilmana dan Sulistia, 2007). Pengobatan herbal atau obat yang berbahan baku tumbuhan obat juga bermanfaat dalam mengontrol kadar asam urat dalam darah. Saat ini, penggunaan tanaman obat sebagai obat alternatif oleh masyarakat semakin meningkat, sehingga diperlukan penelitian agar penggunaannya sesuai dengan kaidah pelayanan kesehatan, yaitu secara medis harus dapat dipertanggungjawabkan secara ilmiah tentang khasiat, keamanan, dan standar kualitasnya (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2002).

Tanaman gandarusa (*Justicia gendarussa* Burm.) termasuk suku Acanthaceae dan merupakan salah satu tanaman obat yang digunakan oleh masyarakat. Tanaman gandarusa bersifat cepat tumbuh dan merupakan tanaman yang banyak ditemukan di negara India dan juga wilayah Asia seperti Malaysia, Indonesia dan Srilanka (The Wealth of India, 1959). Daun gandarusa memiliki efek dalam menurunkan kadar serum asam urat pada tikus (Katrin *et al*, 2011), memiliki aktivitas antinosiseptif (Rantnaasooriya, 2007), anti-tukak, antiviral, anti-inflamasi (Correa dan Alcantara, 2011) dan dapat mencegah penetrasi pada fertilisasi in vitro pada tikus (Handayani, 2007).

Pada penelitian terdahulu, menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun gandarusa termasuk dalam kategori praktis tidak toksik, dengan nilai LD₅₀ adalah 31,99 g/Kg bb untuk mencit jantan dan 27,85 g/Kg bb untuk mencit betina (Berna *et al*, 2010). Ekstrak etanol dari daun *Justicia gendarussa* pada dosis 1,3; 2,6 dan 5,2 g/Kg bb, dapat menurunkan kadar serum asam urat pada tikus yang dibuat hiperurisemik. Berdasarkan penelitian tersebut, dosis 5,2 g/kg bb merupakan dosis yang menunjukkan keefektifan menurunkan kadar asam urat yang sangat baik (Katrin *et al*, 2011).

Selain tanaman gandarusa, tanaman rosela (*Hibiscus sabdariffa* Linn.) yang termasuk dalam suku Malvaceae, juga sering digunakan dalam pengobatan herbal oleh masyarakat Indonesia. Bagian kelopak bunga rosela telah diteliti memiliki efek dalam menurunkan kadar asam urat pada tikus yang dibuat hiperurisemik (Yulianto, 2008).

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, maka pada penelitian ini dilakukan untuk membuat suatu sediaan teh kombinasi dari daun gandarusa dan kelopak bunga rosela. Alasan dibuat kombinasi adalah untuk menutupi bau dan rasa dari seduhan daun gandarusa yang kurang enak. Maka, dibuat kombinasi dengan kelopak bunga rosela agar bau dan rasa dari seduhan daun gandarusa bisa tertutupi. Penelitian ini juga dilakukan uji penghambatan aktivitas enzim xantin oksidase pada sediaan yang dibuat dengan cara metode enzimatis. Hasil proses enzimatis diukur secara spektrofotometri.

1.2 Tujuan Penelitian

- a) Mengetahui kandungan senyawa yang terdapat pada seduhan teh celup daun gandarusa (*Justicia gendarussa* Burm.) dan kelopak bunga rosela (*Hibiscus sabdariffa* Linn.) dari bahan yang distandarisasi melalui penetapan beberapa parameter
- b) Memperoleh sediaan teh celup kombinasi daun gandarusa (*Justicia gendarussa* Burm.) dan kelopak bunga rosela (*Hibiscus sabdariffa* Linn.) dengan aktivitas penghambatan enzim xantin oksidase tertinggi

1.3 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai penggunaan daun gandarusa dan kaliks rosela yang memiliki aktivitas dalam menurunkan kadar asam urat, sehingga dapat mendukung penggunaannya dalam bentuk teh herbal yang dapat digunakan oleh masyarakat Indonesia

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Teh Herbal

Ramuan bunga, daun, biji, akar atau buah kering yang dibuat dalam bentuk teh, disebut dengan teh herbal. Walaupun disebut teh, namun ramuan atau minuman ini tidak mengandung daun dari tanaman teh (*Camellia sinensis*). Minuman teh herbal dibuat dengan cara menambahkan sejumlah air mendidih ke daun tanaman yang akan dibuat teh dan membiarkannya selama 3 sampai 5 menit untuk mengekstraksi sejumlah maksimal dari stimulan dan kandungan yang ada di dalamnya (Miller, 1962). Saat ini penggunaan teh berkembang menjadi suatu produk sediaan herbal, yang disebut teh herbal, yaitu produk minuman teh yang dapat dibuat dalam bentuk tunggal atau campuran herbal.

Terdapat beberapa faktor yang harus diperhatikan dalam membuat sediaan herbal, seperti kestabilan karena sangat berpengaruh terhadap khasiat dan keamanan penggunaan sediaan herbal tersebut untuk pengobatan. Penetapan kestabilan kadar senyawa aktif merupakan syarat mutlak mutu ekstrak yang diproduksi. Oleh sebab itu setiap ekstrak harus distandarisasi (Ditjen POM, 2000).

Standarisasi dalam kefarmasian adalah serangkaian parameter, prosedur dan cara pengukuran yang hasilnya merupakan unsur-unsur terkait paradigma mutu kefarmasian, yaitu memenuhi syarat standard, termasuk jaminan (batas-batas) stabilitas sebagai produk kefarmasian umumnya. Persyaratan mutu terdiri dari berbagai parameter standar umum dan parameter standar spesifik. Pengertian standarisasi juga berarti proses yang menjamin bahwa produk akhir (obat, ekstrak atau produk ekstrak) mempunyai nilai parameter tertentu yang konstan dan ditetapkan (dirancang dalam formula) terlebih dahulu (Ditjen POM, 2000).

2.2 Gandarusa (*Justicia gendarussa* Burm.)

2.2.1 Klasifikasi Tanaman

Gandarusa memiliki klasifikasi tanaman sebagai berikut (Jones dan Luchsinger, 1987) :

Kerajaan : Plantae
 Super Divisi : Spermatophyta
 Divisi : Magnoliophyta
 Kelas : Magnoliopsida (Dikotil)
 Sub-kelas : Asteridae
 Bangsa : Scrophulariales
 Suku : Acanthaceae
 Marga : Justicia
 Jenis : *Justicia gendarussa* Burm.

2.2.2 Nama Daerah dan Nama Asing

Pada beberapa daerah di Indonesia, tanaman ini dikenal dengan nama : Besi-besi (Aceh), Gandarusa (Melayu), Handarusa (Sunda), Gandarusa, Tetean, Trus (Jawa), Ghandharusa (Madura), Gandarisa (Bima), Puli (Ternate) (Heyne, 1987).

2.2.3 Ekologi dan Penyebaran

Tempat tumbuh asal tidak diketahui. Di Jawa terdapat pada ketinggian 1 meter sampai 500 meter dari permukaan laut. Pada umumnya ditanam sebagai pagar hidup dan juga tumbuh liar secara lokal di kawasan hutan dan tanggul sungai (Tim Monografi Vademekum Bahan Obat Alam, 1989).

2.2.4 Deskripsi Tanaman

Tanaman gendarusa (*Justicia gendarussa* Burm.) merupakan tanaman perdu (Direktorat Pengawasan Obat Tradisional, 1983). Memiliki daun tunggal, helaian daun serupa kulit tipis, bentuk lanset, ujung meruncing, pangkal runcing atau agak meruncing, pinggir beringgit lebar dan tidak dalam; permukaan daun buram, licin tidak berambut, warna permukaan bawah lebih pucat. Penulangan menyirip, menonjol pada permukaan bawah warna agak keunguan. Panjang daun 5 sampai 20 cm, lebar 1 sampai 3,5 cm; panjang tangkai 5 sampai 8 mm (Departemen Kesehatan RI, 1995). Tanaman ini dapat memiliki tinggi hingga 1,5 meter. Berbatang bulat sampai persegi, yang muda berwarna ungu sampai coklat (Direktorat Pengawasan Obat Tradisional, 1983).

2.2.5 Kandungan Kimia

Kandungan kimia yang terdapat pada tanaman gendarusa adalah umbelliferon, lignan, saponin, triterpen (Correa dan Alcantara, 2011), alkaloida, flavonoid, flavonol-3-glikosida, flavon, iso-orientin (luteolin-6-C-glikosida), iridoid, kumarin, luteolin, minyak atsiri, saponin, dan gandarusin A (Prajogo, 2007). Bagian daun memiliki kandungan kimia yaitu kalium, alkaloida, saponin, flavonoid (Tim Monografi Vademekum Bahan Obat Alam, 1989), steroid kampesterol, stigmasterol, sitosterol dan sitosterol-D-glukosida (Correa dan Alcantara, 2011).

2.2.6 Khasiat dan Kegunaan

Daun gendarusa (*Justicia gendarussa* Burm.) dapat berkhasiat dalam mengatasi pegal linu, encok, reumatik, pusing, haid tak teratur, nyeri lambung, batuk, peluruh dahak, masuk angin, bisul, memar, keseleo, malaria dan memiliki efek analgesik (Syamsuhidayat *et al*, 1991). Bagian akar dan daun juga bisa digunakan sebagai obat kontrasepsi untuk laki-laki dalam ramuan dibuat dengan cara merebus akar dan daun gendarusa dan airnya diminum dua kali dalam sebulan. Di India, tanaman ini digunakan sebagai obat sakit kepala, kelumpuhan otot wajah, reumatik kronis,

bengkak, nyeri telinga, dan pendarahan dalam (The Wealth of India, 1959).

Pada penelitian terdahulu, bagian daun gandarusa memiliki efek dalam menurunkan kadar serum asam urat pada tikus dalam ekstrak etanolnya (Katrin *et al*, 2011), memiliki aktivitas antinosiseptif (Rantnaasooriya, 2007), anti-tukak, antiviral, anti-inflamasi (Correa dan Alcantara, 2011) dan dapat mencegah penetrasi pada fertilisasi *in vitro* pada tikus (Handayani, 2007). Pada penelitian sebelumnya diketahui bahwa daun gandarusa termasuk dalam kategori praktis tidak toksik, sehingga gandarusa memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai bahan obat (Berna *et al*, 2010).

2.3 Rosela (*Hibiscus sabdariffa*)

2.3.1 Klasifikasi Tanaman

Rosela memiliki klasifikasi tanaman sebagai berikut (Jones dan Luchsinger, 1987) :

Kerajaan : Plantae
 Super Divisi : Spermatophyta
 Divisi : Magnoliophyta
 Kelas : Magnoliopsida (Dikotil)
 Bangsa : Malvales
 Suku : Malvaceae
 Marga : *Hibiscus*
 Jenis : *Hibiscus sabdariffa*

2.3.2 Nama Daerah dan Nama Asing

Pada beberapa daerah di Indonesia, tanaman ini lebih banyak dikenal dengan nama Rosela, Garnet Balonda (Sunda), Mrambos (Jawa Tengah) dan Kasturi Roriha (Ternate).

2.3.3 Ekologi dan Penyebaran

Rosela merupakan tanaman asli dari negara Afrika, namun saat ini rosela telah menyebar secara luas ke negara-negara tropik dan subtropik, seperti India, Thailand, Malaysia dan Indonesia.

2.3.4 Kandungan Kimia

Bagian akar dari tanaman rosela mengandung saponin, saponaretin, vitexin (Thomas, 2006). Bagian biji mengandung sterol, yaitu ergosterol sebesar 3,2 %. Bagian daun mengandung sitosterol-beta-D-galaktosida dan juga ditemukan saponin. Bagian bunga mengandung mirisetin, kaemferol, kuersetin (Khare, 2007), flavonoid gosipetin, hibisketin, sabdaretin, asam sitrat, dan pektin (Duke, 2002).

2.3.5 Khasiat dan Kegunaan

Ekstrak air dari bunga rosela dilaporkan dapat menurunkan tekanan darah tinggi, antibakteri, dan antifungi (Khare, 2007). Bagian daun, bunga serta akar rosela memiliki khasiat sebagai diuretik, ekspektoran, mencegah vertigo, sedatif, emolien, anti-piretik, anti-spasmodik, anti-skorbat, laksatif, uterorelaksan, melancarkan gerak peristaltik usus dan anti-reumatik (Duke, 2002).

Pada penelitian terdahulu, bagian bunga rosela dilaporkan memiliki khasiat sebagai anti-reumatik (Yulianto, 2008), diuretik, koleretik (Blunden *et al.* 2005), menurunkan tekanan darah tinggi, dan menurunkan demam (Wang *et al.* 2000). Selain itu, adanya pigmen antosianin pada kelopak bunga rosela dapat digunakan sebagai pewarna makanan (Esselen dan Sammy, 1975).

2.4 Hiperurisemia

Suatu keadaan dimana terjadi peningkatan kadar asam urat normal dalam tubuh disebut hiperurisemia. Kadar asam urat yang normal pada pria adalah dibawah 7 mg/dl, sedangkan pada wanita adalah dibawah 6 mg/dl. Asam urat adalah hasil produksi oleh tubuh yang merupakan hasil

akhir dari metabolisme purin. Purin adalah protein yang termasuk golongan nukleo-protein. Purin didapat dari makanan dan juga berasal dari penghancuran sel-sel tubuh yang sudah tua. Didalam tubuh, purin mengalami metabolisme dan mengalami oksidasi menjadi asam urat, dan kelebihan asam urat akan dibuang melalui ginjal melalui urin dan usus. Hiperurisemia yang berkepanjangan dapat menyebabkan timbulnya penyakit gout atau pirai, namun tidak semua hiperurisemia akan menimbulkan kelainan patologi berupa gout. Penyakit gout adalah salah satu tipe dari arthritis (reumatik) yang disebabkan terlalu banyaknya atau tidak normalnya kadar asam urat di dalam tubuh karena tubuh tidak bisa mengekskresikan asam urat secara normal, sehingga menimbulkan gejala nyeri hebat pada bagian sendi, seperti pada mata kaki, lutut, pergelangan tangan dan siku. Masalah tersebut timbul karena terbentuknya kristal-kristal dari monosodium urat monohidrat (bentuk garam dari asam urat yang terbentuk) yang terdapat pada sendi-sendi dan jaringan sekitarnya (Misnadiarly, 2008).

Penyebab tingginya asam urat dalam darah dapat disebabkan oleh beberapa hal, seperti adanya gangguan metabolisme purin bawaan, adanya kelainan pembawa sifat atau gen, kelebihan mengkonsumsi makanan berkadar purin tinggi (seperti daging, jeroan, kerang, kepiting, keju, gorengan, tape, bayam, buncis, kacang tanah, petai, alpukat, dan alkohol), dan efek dari penyakit seperti leukemia, kemoterapi dan radioterapi (Murray, *et al.* 2006).

Penghambatan ekskresi asam urat dari dalam tubuh juga dapat menyebabkan peningkatan kadar asam urat dalam darah. Terdapat beberapa faktor yang dapat menghambat ekskresi asam urat dari dalam tubuh, antara lain karena minum obat tertentu (diuretik), dalam keadaan puasa atau diet yang terlalu ketat, keracunan, olah raga terlalu berat, meningkatnya kadar kalsium darah akibat penyakit hiperparatiroid atau juga hipertiroid, hipertensi dan gagal ginjal (Misnadiarly, 2008).

Terdapat gambaran klinis bagi seseorang yang menderita penyakit gout atau arthritis, yaitu pada tahap I, terjadi hiperurisemia asimtomatik dan belum menunjukkan gejala selain peningkatan urat serum. Lalu pada tahap II, terjadi pembengkakan mendadak dan nyeri luar biasa, sendi-sendi lain dapat terserang termasuk sensi-sendi jari tangan, lutut mata kaki, pergelangan tangan dan siku. Tahap kedua ini disebut tahap arthritis gout akut. Pada tahap III terjadi interkritikal, dimana pada tahap ini tidak ditemui gejala-gejala klinis tertentu dan berlangsung selama beberapa bulan sampai tahun. Lalu, pada tahap IV yaitu tahap gout kronis, dimana pada tahap ini terjadi penimbunan asam urat yang terus bertambah dalam kurun waktu beberapa tahun jika pengobatan tidak dilakukan. Peradangan kronik akibat kristal-kristal asam urat mengakibatkan nyeri, sakit dan kaku juga pembesaran dan penonjolan sendi yang bengkak (Wilmana dan Sulistia, 2007).

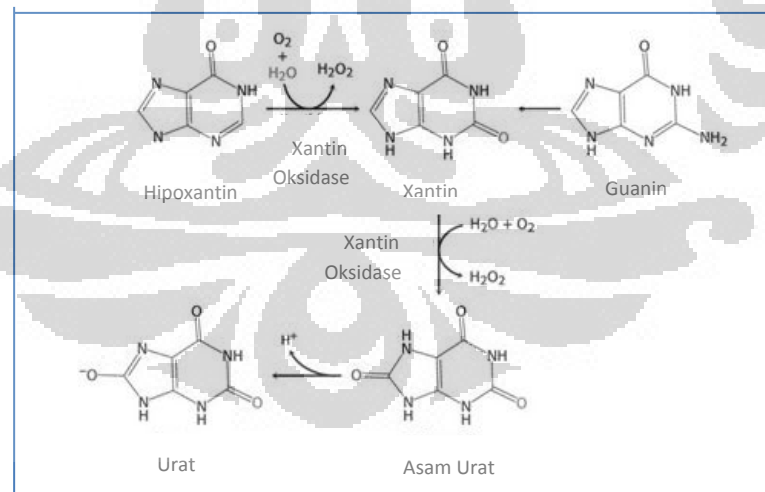
Untuk pengobatan hiperurisemia, strategi yang dapat dilakukan adalah dengan cara meningkatkan ekskresi asam urat atau dengan cara menghambat enzim xantin oksidase, yaitu suatu enzim yang dapat mengubah hipoxantin menjadi xantin dan selanjutnya menjadi asam urat (Wilmana dan Sulistia, 2007). Terdapat obat konvensional yang dapat digunakan dalam mengurangi gejala yang diberikan oleh penyakit ini, yaitu alopurinol. Dapat digunakan juga pengobatan tradisional menggunakan tanaman herbal (Misnadiarly, 2008), seperti herba kumis kucing, daun salam (Muflihat, 2008), rosela, ciplukan (Yulianto, 2009), tempuyung (Susanti, 2011) dan daun gandarusa (Katrin *et al*, 2011).

2.5 Xantin Oksidase

Biosintesis purin dan pirimidin diatur dan dikoordinasikan dengan ketat oleh mekanisme umpan balik yang menjamin agar waktu dan jumlah produksi kedua zat tersebut selalu sesuai dengan kebutuhan fisiologis yang bervariasi. Salah satu penyakit genetik metabolisme purin adalah gout (Murray *et al*, 2006).

Xantin oksidase merupakan 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. Satu unit 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).

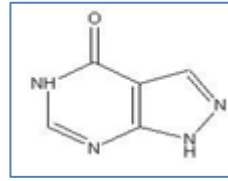
Katalisis xantin oleh enzim xantin oksidase dapat mengakibatkan akumulasi asam urat ($\text{xantin} + \text{O}_2 + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{urat} + \text{H}_2\text{O}_2$), dan penumpukan urat tersebut dapat menimbulkan penyakit gout (Owen *et al.*, 1975). Xantin oksidase mampu mengoksidasi hipoxantin menjadi xantin dan selanjutnya menjadi asam urat. Dengan kata lain, enzim xantin oksidase berperan penting dalam perubahan basa purin menjadi asam urat. Selama proses oksidasi xantin membentuk asam urat, atom oksigen ditransfer dari molibdenum ke xantin. Perombakan pusat molibdenum yang aktif terjadi dengan penambahan air (Murray *et al.*, 2006). Alopurinol merupakan inhibitor xantin oksidase yang sering digunakan pada penyakit gout kronik, bertindak sebagai substrat dan bersifat inhibitor kompetitif bagi enzim xantin oksidase (Owen *et al.*, 1975).



(Sumber : Berg, Tymoczko & Stryer, 2002, dengan sedikit modifikasi)

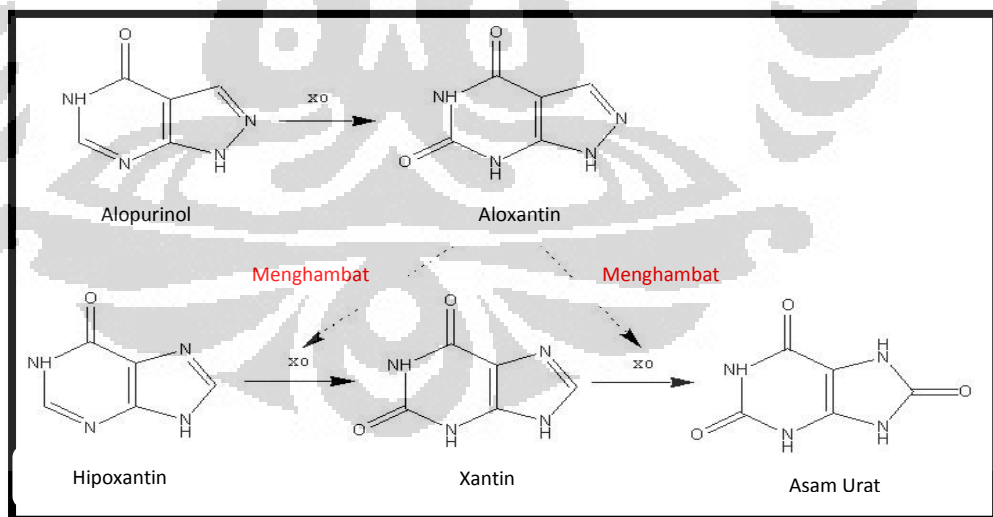
(Gambar 2.1 Bagan reaksi perubahan hipoxantin menjadi xantin oleh enzim xantin oksidase hingga menjadi asam urat)

2.6 Alopurinol



(Gambar 2.2 Rumus Struktur Alopurinol)

Alopurinol merupakan obat yang memiliki efek dalam menurunkan kadar asam urat dan berguna dalam mengobati penyakit pirai. Obat ini bekerja dengan menghambat enzim xantin oksidase, yaitu enzim yang mengubah hipoxantin menjadi xantin dan selanjutnya menjadi asam urat. Melalui mekanisme umpan balik, alopurinol menghambat sintesis purin yang merupakan prekursor xantin. Mekanisme kerjanya adalah alopurinol mengalami biotransformasi oleh enzim xantin oksidase menjadi aloxantin, sehingga tidak terbentuk adanya asam urat. Aloxantin memiliki masa paruh yang lebih panjang daripada alopurinol, maka alopurinol yang masa paruhnya pendek cukup diberikan satu kali sehari (Wilmana dan Sulistia, 2007).



(Sumber : Berg, Tymoczko & Stryer, 2002, dengan sedikit modifikasi)

(Gambar 2.3 Skema Kerja Alopurinol dalam Menghambat Pembentukan Asam Urat oleh Xantin Oksidase)

Efek samping alopurinol yang sering terjadi adalah reaksi kulit. Bila kemerahan kulit timbul, obat harus dihentikan karena gangguan mungkin akan lebih berat. Reaksi alergi berupa demam, menggigil, leukopenia atau leukositosis, eosinofilia, artralgia dan pruritus juga pernah dilaporkan. Gangguan saluran cerna kadang-kadang juga dapat terjadi. Dosis untuk penyakit pirai ringan yaitu 200 – 400 mg sehari dan 400 – 600 mg untuk penyakit yang lebih berat (Wilmana dan Sulistia, 2007).

2.7 Kromatografi

Cara pemisahan zat berkhasiat dan zat lain yang ada dalam sediaan, dengan jalan penyarian, penyerapan, atau penukaran ion pada zat berpori, menggunakan cairan atau gas yang mengalir disebut kromatografi. Zat yang diperoleh dapat digunakan untuk percobaan identifikasi atau penetapan kadar. Kromatografi yang sering dilakukan adalah kromatografi kertas, kolom, lapisan tipis dan kromatografi gas. Sebagai bahan penyerap selain kertas, digunakan juga zat penyerap silika gel, kieselgur dan harsa sintetik. Bahan tersebut dapat digunakan sebagai penyerap tunggal atau campurannya atau sebagai penyangga bahan lain. Kromatografi kertas dan kromatografi lapis tipis umumnya lebih berguna untuk percobaan identifikasi karena cara ini khas dan mudah dilakukan untuk zat dengan jumlah sedikit. Kromatografi gas memerlukan alat yang lebih rumit, tetapi cara tersebut sangat berguna untuk percobaan identifikasi dan penetapan kadar (Departemen Kesehatan RI, 1995).

2.7.1 Kromatografi Lapis Tipis

Pada pemisahan zat secara cepat dapat digunakan kromatografi lapis tipis, dengan menggunakan zat penyerap berupa serbuk halus yang dilapiskan serba rata pada lempeng kaca. Lempeng yang dilapis, dapat dianggap sebagai “kolom kromatografi terbuka” dan pemisahan didasarkan pada penyerapan, pembagian atau gabungannya, tergantung dari jenis zat penyerap dan cara pembuatan lapisan zat penyerap dan jenis pelarut. Kromatografi lapis tipis dengan penyerap penukar ion dapat

digunakan untuk pemisahan senyawa polar. Harga R_f yang diperoleh pada kromatografi lapis tipis, tidak tetap jika dibandingkan dengan yang diperoleh pada kromatografi kertas. Karena itu pada lempeng yang sama disamping kromatogram dari zat pembanding kimia, lebih baik dengan kadar yang berbeda-beda. Perkiraan identifikasi diperoleh dengan pengamatan 2 bercak dengan harga R_f dan ukuran yang kurang lebih sama. Ukuran dan intensitas bercak dapat digunakan untuk memperkirakan kadar. Penetapan kadar yang lebih teliti dapat dilakukan dengan cara densitometri atau dengan mengambil bercak dengan hati-hati dari lempeng, kemudian disari dengan pelarut yang cocok dan ditetapkan dengan cara spektrofotometri. Pada kromatografi lapis tipis dua dimensi, lempeng yang telah dieluasi diputar 90° dan dieluasi lagi, umumnya menggunakan bejana lain yang berisi pelarut lain (Departemen Kesehatan RI, 1995).

2.8 Spektrofotometri UV-Vis

Spektrum UV-Vis merupakan hasil interaksi antara radiasi elektromagnetik (REM) dengan molekul. REM merupakan bentuk energi radiasi yang mempunyai sifat gelombang dan partikel (foton). Karena bersifat sebagai gelombang, maka beberapa parameter perlu diketahui, seperti panjang gelombang, frekuensi, bilangan gelombang dan serapan (Harmita, 2006).

Spektrofotometer dapat digunakan untuk mengukur besarnya energi yang diabsorpsi atau diteruskan. Salah satu syarat agar suatu zat atau senyawa dapat dianalisa secara spektrofotometri adalah senyawa tersebut memiliki gugus kromofor, yaitu gugus fungsional yang mengabsorpsi radiasi ultraviolet dan tampak, jika mereka diikat oleh senyawa-senyawa bukan pengabsorpsi (auksokrom). Yang menentukan suatu kromofor dapat memberikan serapan pada spektrum serapan yang dibuat adalah senyawa tersebut memiliki panjang gelombang lebih besar dari 190 nm dan daya serap molar (ϵ_{maks}) lebih besar dari 1000 agar konsentrasi yang digunakan tidak terlalu besar (Harmita, 2006).

Penggunaan spektrofotometer UV-Vis dapat digunakan untuk analisa kuantitatif maupun kualitatif. Untuk analisa kualitatif, yang perlu diperhatikan adalah membandingkan λ maksimum, serapan, daya serap dan spektrum serapannya. Pengukuran serapan dapat dilakukan pada panjang gelombang daerah ultraviolet (panjang gelombang 190 – 380 nm) atau pada daerah cahaya tampak (panjang gelombang 380 – 780 nm) (Harmita, 2006).

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 sama sekali), tebal larutan atau tebal kuvet yang digunakan, dan lebar celah (Harmita, 2006).

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

2.9 Uji Penghambatan Aktivitas Enzim Xantin Oksidase

Uji penghambatan aktivitas enzim xantin oksidase dilakukan dengan metode *Continuous Spectrophotometric Rate Determination*, menggunakan reagen larutan dapar fosfat 0,05 M pH 7,5, larutan substrat xantin 0,15 M, dan larutan enzim xantin oksidase. Reaksi enzimatik diinkubasikan selama 30 menit dibawah kondisi aerob dengan suhu optimum. Kemudian reaksi dihentikan dengan penambahan larutan HCl 1 N. Pengujian dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 290 nm sebanyak 3 kali (Umamaheswari, 2009).

2.10 Uji Kinetika Penghambatan Aktivitas Enzim Xantin Oksidase

Persamaan Michaelis-Menten digunakan dalam menghubungkan kecepatan awal reaksi yang dikatalisis enzim V_i , dengan konsentrasi substrat S , dan dua tolok ukur, K_m dan V_{max} (Marks et al, 1996).

$$V_i = \frac{V_{maks} [S]}{K_m + [S]}$$

Dimana :	V_i	= Kecepatan reaksi awal
	V_{maks}	= Kecepatan maksimal
	K_m	= Konstanta Michaelis
	$[S]$	= Konsentrasi substrat

Konstanta Michaelis K_m adalah konsentrasi substrat dengan V_i adalah separuh kecepatan maksimal ($V_{max}/2$) yang dapat dicapai pada konsentrasi tertentu enzim. Oleh karena itu, K_m memiliki besaran konsentrasi substrat.

Ketergantungan percepatan awal reaksi (V_i) terhadap nilai $[S]$ dan K_m , dapat dievaluasi sebagai berikut :

- Bila $[S]$ jauh lebih kecil dari K_m atau konsentrasi substrat di bawah konsentrasi yang diperlukan untuk menghasilkan separuh-percepatan maksimal (nilai K_m), maka percepatan awal (V_i), akan bergantung pada konsentrasi substrat $[S]$.
- Bila konsentrasi substrat $[S]$ jauh melampaui K_m , maka percepatan awal V_i , merupakan percepatan maksimal (V_{maks}).
- Bila konsentrasi substrat sama dengan nilai K_m , maka percepatan awal V_i separuh dari percepatan maksimal (Murray et al, 2006).

Pengukuran langsung nilai numerik V_{max} , dan karenanya perhitungan K_m sering memerlukan konsentrasi substrat yang sangat tinggi untuk mencapai kondisi jenuh. Bentuk linier persamaan Michaelis-Menten mengatasi masalah ini dan memungkinkan V_{max} dan K_m diekstrapolasikan dari data kecepatan awal yang diperoleh pada

konsentrasi substrat lebih rendah dari pada konsentrasi jenuh. Dimulai dari persamaan:

$$V_i = \frac{V_{maks} [S]}{K_m + [S]} \quad (2.1)$$

Persamaan dibalik
$$\frac{1}{V} = \frac{K_m + [S]}{V_{maks} [S]} \quad (2.2)$$

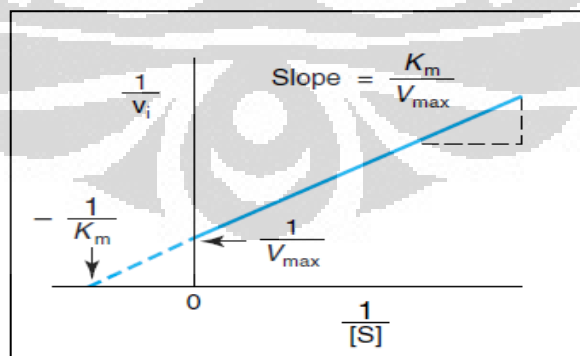
Difaktorkan
$$\frac{1}{V_i} = \frac{K_m}{V_{maks}} \times \frac{1}{[S]} + \frac{[S]}{V_{maks}[S]} \quad (2.3)$$

Sederhanakan
$$\frac{1}{V_i} = \frac{K_m}{V_{maks}} \times \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{maks}} \quad (2.4)$$

Persamaan 2.4 adalah persamaan untuk garis lurus, $y=a+bs$, dengan $y= 1/V_i$ dan $x=1/[S]$. Oleh karena itu, plot $1/V_i$ sebagai y yang merupakan fungsi dari $1/[S]$ sebagai x menghasilkan garis lurus yang memotong y di $1/V_{max}$ dengan kecuraman K_m/V_{max} . Plot tersebut disebut dengan Plot Lineweaver-Burk. Dengan menempatkan y pada persamaan 2.5 di nol dan menghitung x diperoleh bahwa garis memotong di $-1/K_m$.

$$0 = ax + b; \text{ maka } x = -\frac{b}{a} = -\frac{1}{K_m} \quad (2.5)$$

Oleh karena itu, K_m mudah dihitung dari nilai negatif garis memotong sumbu x .



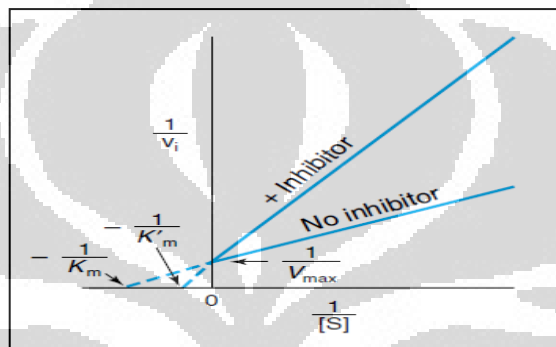
[Sumber : Murray et al., 2006]

Gambar 2.4 Plot Lineweaver Burk dari $1/V_i$ terhadap $1/[S]$

Plot Lineweaver-Burk dapat membedakan antara inhibitor kompetitif dan nonkompetitif serta mempermudah evaluasi konstanta inhibisi.

a) Inhibisi Kompetitif

Untuk inhibisi kompetitif, garis yang menghubungkan titik-titik data eksperimen bertemu di sumbu y (Gambar 2.3). Karena perpotongan garis disumbu y sama dengan $1/V_{max}$, pola ini menunjukkan bahwa jika $1/[S]$ mendekati 0, V_i tidak bergantung pada keberadaan inhibitor.



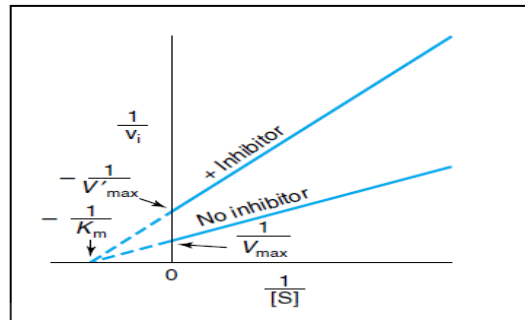
[Sumber : Murray et al., 2006]

Gambar 2.5 Plot Lineweaver Burk yang memperlihatkan inhibisi kompetitif.

Kecepatan pembentukan produk bergantung pada konsentrasi enzim-substrat. Bila konsentrasi inhibitor tetap, ditambahkan lebih banyak substrat, akan meningkatkan probabilitas bahwa enzim akan lebih banyak berikatan dengan substrat dibandingkan dengan inhibitor (Murray et al., 2003).

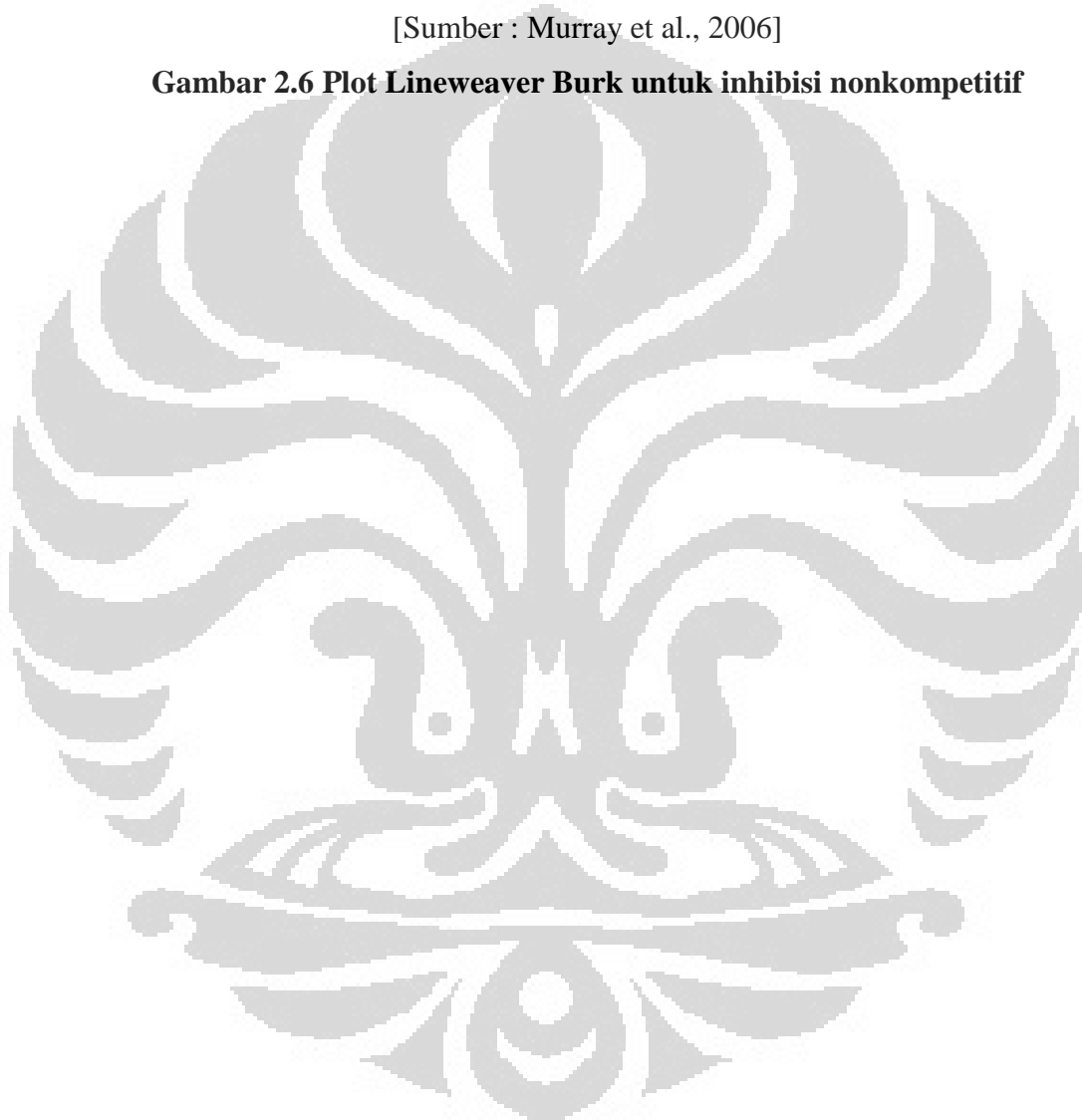
b) Inhibisi Non Kompetitif

Pada inhibisi non kompetitif, pengikatan inhibitor tidak memengaruhi pengikatan substrat. Di dalam inhibisi nonkompetitif tidak terjadi persaingan antara substrat dengan inhibitor. Struktur inhibitor biasanya sedikit atau tidak mirip dengan substrat. Karena inhibitor dan substrat dapat berikatan di tempat yang berlainan, pembentukkan enzim-inhibitor dan kompleks enzim-substrat (Murray et al., 2003).



[Sumber : Murray et al., 2006]

Gambar 2.6 Plot Lineweaver Burk untuk inhibisi nonkompetitif



BAB 3

METODE PENELITIAN

3.1 Lokasi Penelitian

Penelitian dilakukan dari bulan Januari 2012 hingga Juni 2012, di laboratorium Fitokimia, Departemen Farmasi, Universitas Indonesia, Depok.

3.2 Alat

Pada penelitian ini menggunakan alat-alat sebagai berikut: Rotary Evaporator (Butchi), pH-meter (Eutech Instrument), timbangan analitik (Acculab dan Sartorius BP 221), alat vortex (Health H-VM-300 Touch), penangas air (Lab-Line), oven (Jumo), Alat Spektrofotometer UV-Vis (Jasco V-530), kuvet (Merck), blender, alat refluks, alat maserasi, alat-alat gelas, dan kertas kantung teh.

3.3 Bahan

3.3.1 Bahan Uji

Daun *Justicia gendarussa* Burm (Acanthaceae) dan kaliks rosela (*Hibiscus sabdariffa*) dikumpulkan dari kebun Departemen Farmasi Universitas Indonesia di daerah Depok, Indonesia. Setelah dikumpulkan, dilakukan determinasi tanaman oleh Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) di daerah Bogor, Indonesia.

3.3.2 Bahan Kimia

Pada penelitian ini menggunakan bahan-bahan kimia sebagai berikut: n-heksan (Merck), diklormetan (Merck), etanol 96% (Merck), substrat xantin (Sigma), enzim xantin oksidase (Sigma), n-butanol (Merck), metanol (Merck), aquadest, asam klorida (Merck), asam sulfat (Merck), asam asetat glasial (Merck), aseton (Merck), kloroform (Merck), Al (III) Klorida dan Natrium asetat (Merck).

3.4 Cara Kerja

3.4.1 Penyiapan Serbuk Simplisia

Daun gandarusa segar dan kelopak bunga rosela dikumpulkan dari kebun Departemen Farmasi Universitas Indonesia di daerah Depok, Indonesia. Daun gandarusa yang diperoleh dipilih dan diambil bagian daun pertama hingga daun ketiga dari tanaman gandarusa, lalu dilakukan penimbangan. Untuk tanaman rosela, bunga yang diambil dipisahkan dari bijinya. Selanjutnya, dilakukan pencucian terhadap daun gandarusa dan kelopak bunga rosela dengan air bersih, lalu dikeringkan pada suhu ruang (27°C) selama enam hari. Kemudian, dilakukan proses pembuatan serbuk dari daun gandarusa kering dan dilakukan pengeringan menggunakan oven pada suhu 40°C selama satu jam. Proses pembuatan serbuk dilakukan dengan menggunakan alat penggiling hingga didapat serbuk berukuran 20 mesh. Serbuk yang telah diayak tersebut ditimbang.

3.4.2 Penyiapan Larutan Uji Teh Celup Daun Gandarusa dan Kaliks Rosela

Serbuk kasar daun gandarusa dan kaliks rosela berukuran 20 mesh, masing-masing dibuat menjadi sediaan teh dalam bentuk kantung teh. Teh diseduh dengan air panas ($80\text{-}90^{\circ}\text{C}$) dan dibiarkan selama 5 menit. Dosis yang digunakan yaitu dosis yang biasa digunakan masyarakat ketika meminum teh, yaitu 3 gram teh yang diseduh dalam segelas air panas 200 ml.

3.4.3 Pengujian Terhadap Simplisia dan Larutan Uji Daun Gandarusa dan Kaliks Rosela

Pengujian terhadap simplisia dan larutan uji daun gandarusa dan kaliks rosela sebagai tahap standarisasi dilakukan beberapa penetapan parameter simplisia sesuai dengan monografi resmi Materia Medika Indonesia (MMI) dan uji kandungan kimia ekstrak dilakukan sebagai tambahan parameter ekstrak yang mengacu pada prosedur Parameter Standard Umum Ekstrak Tumbuhan Obat dari Departemen Kesehatan.

3.4.3.1 Parameter Non-Spesifik

a. Kadar Air

Simplisia dikeringkan pada suhu 105°C selama 1 jam dan ditimbang. Lanjutkan pengeringan dan timbang pada jarak 1 jam sampai perbedaan antara 2 penimbangan berturut-turut tidak lebih dari 0,25% (Ditjen POM, 2000).

b. Kadar Abu Total

Lebih kurang dua gram sampai tiga gram simplisia ditimbang saksama, kemudian dimasukkan ke dalam krus platina atau krus silikat yang telah dipijar dan ditara, lalu diratakan. Krus yang berisi ekstrak dipijar perlahan-lahan hingga arang habis, dinginkan, lalu dilakukan proses penimbangan. Jika arang tidak dapat dihilangkan, maka dapat ditambahkan air panas, lalu disaring melalui kertas saring bebas abu. Sisa dan kertas saring dipijar dalam krus yang sama. Kemudian, filtrat dimasukkan ke dalam krus, lalu diuapkan dan dipijar hingga bobot tetap, lalu ditimbang. Kadar abu dihitung terhadap bahan yang telah dikeringkan di udara (Ditjen POM, 2000).

c. Kadar Abu yang Tak Larut dalam Asam

Abu yang diperoleh pada *Penetapan Kadar Abu*, dididihkan dengan 25 ml asam klorida encer P selama 5 menit. Lalu, bagian yang tidak larut dalam asam dikumpulkan dan disaring melalui kaca masir atau kertas saring bebas abu. Kemudian, dicuci dengan air panas, dilakukan pemijaran hingga bobot tetap, dan ditimbang. Kadar abu yang tak larut dalam asam dihitung terhadap bahan yang telah dikeringkan di udara (Ditjen POM, 2000).

3.4.3.2 Parameter Spesifik

a. Uji Organoleptik

Panca indera digunakan untuk melakukan uji organoleptik dalam mendiskripsikan bentuk, warna, rasa, dan bau, dengan kriteria bentuk meliputi padat; serbuk kering; cair atau kental, warna meliputi kuning; coklat; dan lain-lain, bau meliputi bau aromatik; tidak berbau; dan lain-lain, serta rasa yang meliputi pahit; asam; manis; dan lain-lain (Ditjen POM, 2000).

b. Uji Kadar Sari yang Terlarut dalam Pelarut Air

Sejumlah 5,0 gram serbuk simplisia dimaserasi selama 24 jam dengan 100 ml air kloroform LP menggunakan labu bersumbat sambil berkali-kali dikocok selama 6 jam pertama dan kemudian dibiarkan selama 18 jam. Lalu disaring dan 20 ml filtrat yang didapat diuapkan hingga kering dalam cawan dangkal berdasar rata yang telah ditara. Residu dipanaskan pada suhu 105° C hingga bobot tetap. Kadar dihitung dalam persen senyawa yang larut dalam air, dihitung terhadap ekstrak awal (Ditjen POM, 2000).

c. Uji Kadar Sari yang Terlarut dalam Pelarut Etanol

Sejumlah 5,0 gram serbuk simplisia dimaserasi selama 24 jam dengan 100 ml etanol (95%) menggunakan labu bersumbat sambil berkali-kali dikocok selama 6 jam pertama dan kemudian dibiarkan selama 18 jam. Proses penyaringan dilakukan dengan cepat untuk menghindari adanya penguapan etanol, kemudian 20 ml filtrat diuapkan hingga kering dalam cawan dangkal berdasarkan rata yang telah ditara. Residu dipanaskan pada suhu 105° C hingga bobot tetap. Kadar dihitung dalam persen senyawa yang larut dalam etanol (95%), dihitung terhadap ekstrak awal (Ditjen POM, 2000)

d. Uji Kandungan Kimia Ekstrak secara Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Uji kandungan kimia ekstrak ini dilakukan untuk mengetahui pola kromatogram secara KLT pada larutan uji teh celup daun gandarusa yang dibuat menjadi ekstrak kental. Umumnya dibuat kromatogram pada lempeng silika gel dengan berbagai jenis fase gerak sesuai dengan golongan kandungan kimia sebagai sasaran analisis. Evaluasi dapat dilakukan dengan dokumentasi foto hasil pewarnaan lempeng kromatografi dengan pereaksi yang sesuai (Ditjen POM, 2000)

e. Penetapan Kadar Flavonoid

Prosedur penetapan kadar flavonoid menggunakan metode Chang dengan menggunakan pembanding kuersetin. Kurva kalibrasi yang dibuat dibandingkan dengan pembanding kuersetin. Cara membuat larutan baku kuersetin, yaitu

sebanyak 10,0 mg standard kuersetin ditimbang dan dimasukkan ke dalam labu takar 10,0 ml, sehingga didapat larutan induk kuersetin dengan konsentrasi 1000 ppm. Larutan kemudian ditambahkan 10,0 ml metanol hingga garis batas labu ukur. Lalu, larutan induk dipipet dan dibuat pengenceran yang berbeda sehingga didapat variasi konsentrasi. Larutan yang telah diencerkan masing-masing dipipet sebanyak 0,5 ml dan dilarutkan dalam 1,5 ml metanol pada tabung reaksi, lalu ditambahkan pereaksi yang terdiri dari 0,1 ml AlCl_3 10% (b/v), 0,1 ml Na-asetat 1M dan 2,8 ml aquadest. Larutan dicampur homogen dan didiamkan dalam inkubator pada suhu 27°C selama 30 menit. Setelah diinkubasi, dilakukan pengukuran menggunakan alat spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum. Setelah dilakukan pengukuran pada semua konsentrasi pengenceran, lalu kurva kalibrasi standard kuersetin dibuat untuk digunakan nantinya dalam perhitungan kadar flavonoid sampel uji.

Untuk membuat larutan sampel, sebanyak 1,0 gram sampel ditimbang. Lalu, dilakukan hidrolisis menggunakan HCl 4N sebanyak 40 ml. Selanjutnya, ekstrak dipartisi dengan 15 ml etil asetat sebanyak 3 kali dan fraksi etil asetat dikumpulkan dan dipekatkan di atas penangas air. Hasil ekstrak etil asetat dimasukkan ke dalam labu bersumbat 25,0 ml, lalu dilarutkan dalam metanol dan ditambahkan hingga garis batas. Larutan tersebut kemudian diambil sebanyak 0,5 ml, lalu dilarutkan dalam 1,5 ml metanol pada tabung reaksi dan ditambahkan pereaksi AlCl_3 10% (b/v) sebanyak 0,1 ml, Na-asetat 1 M sebanyak 0,1 ml dan 2,8 ml aquadest. Larutan dicampur homogen dan didiamkan selama 30 menit. Lalu, dilakukan pengukuran pada panjang gelombang maksimum yang didapatkan oleh standard kuersetin dan hasil serapan yang terbaca dicatat (Chang, *et al.* 2002).

3.4.3.3 Identifikasi Golongan Senyawa Kimia

Larutan yang didapat dari seduhan teh celup gandarusa dan rosela diuapkan hingga kental dan didapat ekstrak kental. Ekstrak ini digunakan untuk menguji identifikasi golongan senyawa kimia yang ada pada ekstrak tersebut.

a. Identifikasi alkaloid (Departemen Kesehatan RI, 1995)

Ekstrak kental beberapa mg dilarutkan dengan 10 ml campuran air suling dan HCl 2 N (9:1), dipanaskan selama 2 menit. Selanjutnya disaring dan 1 ml

filtrat digunakan sebagai larutan percobaan yang selanjutnya dilakukan sebagai berikut :

- 1) Ditambahkan 2 tetes Bouchardat LP. Hasil positif dengan terbentuk endapan coklat sampai hitam.
- 2) Ditambahkan 2 tetes Mayer LP. Hasil positif dengan terbentuk endapan menggumpal berwarna putih atau kuning yang larut dalam metanol.
- 3) Ditambahkan 2 tetes Dragendorff LP. Hasil positif terbentuk endapan jingga coklat.

b. Identifikasi flavonoid (Departemen Kesehatan RI, 1995)

Beberapa mg ekstrak ditambahkan 4 ml etanol 95% hingga ekstrak larut.

- 1) Dua ml larutan uji ditambahkan 0,5 gram serbuk seng, kemudian ditambahkan 2 ml HCl 2N, didiamkan 1 menit. Kemudian ditambahkan 10 tetes HCl pekat P. Dikocok perlahan, kemudian didiamkan 2-5 menit. Terbentuk warna merah intensif (positif flavonoid).
- 2) Dua ml larutan uji ditambahkan 0,1 gram serbuk magnesium. Kemudian ditambahkan 10 tetes HCl pekat P. Dikocok perlahan. Terbentuk warna merah jingga hingga merah ungu (positif flavonoid) atau kuning jingga (flavon, kalkon, auron).
- 3) Ekstrak ditambahkan aseton, dilarutkan. Kemudian ditambahkan sedikit serbuk halus asam borat dan asam oksalat, dipanaskan hati-hati dan hindari pemanasan berlebihan. Kemudian ditambahkan 10 ml eter. Diamati dengan sinar ultraviolet 366 nm. Larutan akan berfluoresensi kuning intensif (positif flavonoid).

c. Identifikasi sterol/terpen (Departemen Kesehatan RI, 1995)

Beberapa mg ekstrak digunakan untuk reaksi Liberman-Bouchard : 5 ml larutan eter diuapkan di dalam cawan penguap, ke dalam residu ditambahkan 2 tetes asam asetat anhidrat, kemudian 1 tetes asam sulfat pekat. Filtrat mengandung sterol/ terpen apabila terbentuk warna merah-hijau-violet-biru.

d. Identifikasi tanin (Departemen Kesehatan RI, 1995)

Beberapa mg ekstrak kental ditambahkan 15 ml air panas. Kemudian panaskan hingga mendidih selama 5 menit. Disaring filtrat (filtrat c)

- 1) Ditambahkan beberapa tetes FeCl_3 1 % menghasilkan warna hijau violet.

- 2) Ditambahkan beberapa tetes gelatin membentuk endapan putih.
- 3) Dijenuhkan dengan Na asetat ditambah FeCl_3 1% menghasilkan warna biru tinta atau hitam, menunjukkan adanya tanin galat.

e. Identifikasi saponin (Departemen Kesehatan RI, 1995)

Beberapa mg ekstrak ditambahkan 10 ml air panas, didinginkan dan kemudian dikocok kuat-kuat selama 10 detik, kemudian didiamkan selama 10 menit. Terbentuk buih yang mantap setinggi 1 hingga 10 cm. Pada penambahan 1 tetes HCl 2N buih tidak hilang.

f. Identifikasi glikon (Departemen Kesehatan RI, 1995)

Beberapa mg ekstrak ditambahkan 20 ml etanol 70%, kemudian ditambahkan 25 ml air dan 25 ml timbal (II) asetat 0,4M, dikocok, didiamkan selama 5 menit dan saring. Filtrat disari tiga kali, tiap kali dengan 20 ml campuran (3:1) kloroform P dan isopropanol. Kumpulan sari ditambahkan natrium sulfat anhidrat, disaring dan diuapkan pada suhu tidak lebih dari 50°C . Sisa dilarutkan dengan 2 ml metanol.

- 1) Larutan percobaan sebanyak 1 ml diuapkan hingga kering, sisanya ditambahkan 20 tetes asam asetat anhidrat P dan 1 tetes asam sulfat P. Hasil positif terbentuknya warna biru / hijau.
- 2) Larutan percobaan sebanyak 1 ml diuapkan hingga kering, sisanya dilarutkan dengan 2 ml air dan 5 tetes Mollisch LP. Kemudian ditambahkan dengan hati-hati 2 ml asam sulfat P. Hasil positif terbentuknya cincin berwarna ungu pada batas cairan (Reaksi Molisch).

g. Identifikasi kuinon dan antrakuinon (Departemen Kesehatan RI, 1995)

Beberapa mg ekstrak kental ditambahkan 10 ml air panas. Kemudian dipanaskan hingga mendidih selama 5 menit. Filtrat disaring. Kedalam 5 ml filtrat ditambahkan beberapa tetes larutan NaOH 1 N, terbentuk warna merah (positif kuinon).

Beberapa mg ekstrak dilarutkan dengan 5 ml asam sulfat 2N, dipanaskan sebentar kemudian didinginkan. Ditambahkan 10 ml benzen P, dikocok, didiamkan. Lapisan benzena dipisahkan, disaring, filtrat berwarna kuning menunjukkan adanya antrakuinon. Lapisan benzena dikocok dengan 1 ml sampai

2 ml natrium hidroksida 2N, didiamkan, lapisan air berwarna merah intensif dan lapisan benzena tidak berwarna.

3.4.4 Formulasi Teh Celup Kombinasi Daun Gandarusa dan Kaliks Rosela

Berat satu kantung teh celup yang dibuat adalah 3 gram. Berat ini disesuaikan pada berat maksimal pada isi kantung teh celup yang ada di masyarakat. Berikut adalah formulasi teh celup kombinasi daun gandarusa dan kaliks rosela yang digunakan dalam penelitian ini :

	Perbandingan Gandarusa : Rosela	Berat Daun Gandarusa (gram)	Berat Kaliks Rosela (gram)
1	10 : 0	3,0	-
2	7 : 3	2,1	0,9
3	5 : 5	1,5	1,5
4	3 : 7	0,9	2,1
5	0 : 10	-	3,0

Dari masing-masing formulasi teh celup diatas, dilakukan uji organoleptis dan uji penghambatan aktivitas enzim xantin oksidase.

3.4.5 Uji Penghambatan Aktivitas Enzim Xantin Oksidase

Uji penghambatan aktivitas xantin oksidase dilakukan dengan menggunakan metode spektrofotometri, yaitu dengan mengukur jumlah asam urat yang terbentuk akibat adanya penghambatan pembentukan asam urat oleh enzim xantin oksidase. Metode yang digunakan adalah metode pengujian yang dilakukan oleh Umamaheswari (2007) dengan sedikit modifikasi.

3.4.5.1 Pembuatan larutan Substrat xantin

Xantin , BM = 152,1 (Sigma Aldrich)

Substrat xantin yang ditimbang = 15,21 mg

$$\text{mmol xantin} = \frac{15,21 \text{ mg}}{152,1} = 0,1 \text{ mmol}$$

Dilarutkan dengan 5 tetes NaOH 1 M dan encerkan dengan aquadest sampai dengan 100 ml (0,1 liter)

$$\text{mM larutan substrat xantin} = \frac{0,1 \text{ mmol}}{0,1 \text{ liter}} = 1 \text{ mM}$$

Sebanyak 15,21 mg xantin ditimbang seksama dan ditambahkan dengan lima tetes NaOH 1 M hingga larut, setelah itu diencerkan dengan air suling demineral bebas CO₂ sampai dengan 100 ml (konsentrasi 1 mM). Larutan xantin dibuat dengan mengencerkan larutan induk sampai diperoleh larutan xantin dengan konsentrasi 0,05 mM; 0,1 mM; 0,15 mM; 0,2 mM dan 0,25 mM.

3.4.5.2 Pembuatan Larutan Standar Alopurinol

Standar Alopurinol dibuat dengan konsentrasi 1000 ppm. Ditimbang seksama 10 mg, lalu ditambahkan NaOH 1 N beberapa tetes hingga larut lalu diencerkan dengan air suling demineral bebas CO₂ di dalam labu ukur 100,0 ml, kemudian dicukupkan volumenya hingga batas dan diperoleh larutan induk dengan konsentrasi 1000 µg/ml. Larutan standar Alopurinol dibuat dengan mengencerkan larutan induk hingga diperoleh larutan standar Alopurinol dengan konsentrasi 5; 10; 20; 50 dan 100 µg/ml.

3.4.5.3 Pembuatan Larutan Xantin Oksidase

Pada label kemasan dituliskan :

45,45 mg solid 0,11 unit/mg solid

0,8 unit/ mg protein

Keterangan :

Solid = Xantin Oksidase

a. Perhitungan Unit Xantin Oksidase :

Jumlah total unit enzim:

$$45,45 \text{ mg solid} \times 0,11 \text{ unit/mg solid} = 4,9995 \text{ unit}$$

$$\frac{4,9995 \text{ unit}}{0,8 \frac{\text{unit}}{\text{mg}} \text{ protein}} = 6,249375 \text{ mg} \approx 6,25 \text{ mg protein}$$

$$\frac{45,45 \text{ mg solid}}{6,25 \text{ mg protein}} = \frac{7,27 \text{ mg solid}}{1 \text{ mg protein}} = 7,27 \text{ mg solid/ 1 mg protein.}$$

Perhitungan yang diperoleh dari keterangan pada label kemasan xantin oksidase diperoleh : 1 mg protein ~ 7,27 mg solid ~ 0,8 unit. Konsentrasi larutan enzim yang dibuat adalah 0,1 unit/ml.

b. Pembuatan Larutan Xantin Oksidase 0,1 unit/ml :

Untuk tiap ml diperlukan xantin oksidase sebanyak :

$$\frac{0,1 \text{ unit}}{0,8 \text{ unit}} \times 7,272 \text{ mg solid} = 0,909 \text{ mg}$$

Jika dibuat dalam 10 ml, maka jumlah enzim yang harus ditimbang sebanyak:
0,909 mg/ml x 10 ml = 9,09 mg

Cara pembuatan, ditimbang 9,09 mg xantin oksidase, kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur dan dilarutkan dengan dapar fosfat sampai dengan 10,0 ml.

3.4.5.4 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Sebelum dilakukan optimasi suhu, pH dan konsentrasi substrat optimum, terlebih dahulu dilakukan penentuan panjang gelombang maksimum untuk menentukan panjang gelombang pengukuran yang digunakan pada pengujian selanjutnya. Pada penentuan panjang gelombang maksimum digunakan pH 7,5 dan suhu 25° C yang terdapat pada prosedur pengerjaan yang berasal dari Sigma (Sigma Aldrich, 1994).

Larutan dapar fosfat 0,05 M pH 7,5 sebanyak 2,9 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan 2 ml larutan substrat xantin dengan konsentrasi 0,15 mM kemudian dilakukan pra inkubasi pada suhu 25° C selama 10 menit. Setelah pra inkubasi selesai, sebanyak 0,1 ml larutan xantin oksidase ditambahkan ke dalam tabung reaksi dan dihomogenkan menggunakan vortex mixer. Campuran diinkubasi pada suhu 25° C selama 30 menit. Kemudian segera tambahkan 1 ml HCl 1 N untuk menghentikan reaksi. Serapan diukur pada berbagai macam panjang gelombang dengan menggunakan alat spektrofotometer untuk menentukan serapan yang paling baik sebagai panjang gelombang maksimum.

3.4.5.5 Suhu Optimum

Larutan dapar fosfat 0,05 M pH 7,5 sebanyak 2,9 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan 2 ml larutan substrat xantin dengan konsentrasi 0,15 mM kemudian dilakukan prainkubasi masing-masing pada suhu 20, 25, 30, 35 dan 40°C selama 10 menit. Setelah prainkubasi selesai 0,1 ml larutan xantin oksidase ditambahkan ke dalam tabung reaksi dan dihomogenkan menggunakan vortex mixer. Campuran diinkubasi pada suhu 20, 25, 30, 35 dan 40 °C selama 30 menit. Kemudian segera tambahkan 1 ml HCl 1 N untuk menghentikan reaksi. Serapan diukur menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang maksimum.

3.4.5.6 Penentuan pH Optimum

Larutan dapar fosfat 0,05 M pada pH 7,5; 7,8; 8,0; 8,3 dan 8,5 sebanyak 2,9 ml, masing-masing dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu masing-masing tabung reaksi ditambahkan 2 ml larutan substrat xantin dengan konsentrasi 0,15 mM dan dilakukan prainkubasi pada suhu optimum selama 10 menit. Setelah prainkubasi selesai 0,1 ml larutan xantin oksidase ditambahkan ke dalam tabung reaksi dan dihomogenkan menggunakan vortex mixer. Campuran diinkubasi pada suhu optimum selama 30 menit. Kemudian segera tambahkan 1 ml HCl 1 N untuk menghentikan reaksi. Serapan diukur menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang maksimum.

3.4.5.7 Penentuan Konsentrasi Substrat Xantin Optimum

Larutan dapar fosfat 0,05 M pH optimum sebanyak 2,9 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan 2 ml larutan substrat xantin dengan konsentrasi 0,05; 0,10; 0,15; 0,20 dan 0,2 mM kemudian dilakukan prainkubasi masing-masing pada suhu optimum selama 10 menit. Setelah prainkubasi selesai 0,1 ml larutan xantin oksidase ditambahkan ke dalam tabung reaksi dan dihomogenkan menggunakan vortex mixer. Campuran diinkubasi pada suhu optimum selama 30 menit. Kemudian segera tambahkan 1 ml HCl 1 N untuk menghentikan reaksi. Serapan diukur menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang maksimum

3.4.5.8 Perhitungan Aktivitas Enzim

Kondisi optimum dapat ditentukan dengan menentukan aktivitas enzim yang dihitung dengan menggunakan :

$$\text{Aktivitas} = \frac{(\text{Serapan blanko} - \text{serapan kontrol blanko}) \times \text{vol} \times \text{df}}{12,2 \times 0,1} \dots\dots\dots (5.1)$$

Keterangan: vol : Total volume saat pengujian

df : faktor pengenceran

12,2 : Koefisien ekstinsi asam urat pada 290 nm (mM)

0,1 : Volume xantin oksidase yang digunakan (unit/ml)

Satu unit xantin oksidase akan mengkonversi 1,0 μmol xantin menjadi asam urat per menit pada pH 7,5 dan suhu 25⁰C (Sigma Aldrich, 1994).

3.4.5.9 Pengujian Sampel

Sampel yang digunakan yaitu larutan uji teh celup kombinasi daun gandarusa dan kelopak bunga rosela dengan berbagai perbandingan, yaitu bentuk sediaan teh celup dengan dosis masing-masing 3 gram dalam satu kantung teh, lalu diseduh dengan 200 ml air panas (70 – 80° C) selama 5 menit. Dari larutan tersebut, kemudian dilakukan pengenceran dalam berbagai konsentrasi untuk dilakukan pengukuran penghambatan terhadap aktivitas enzim xantin oksidase. Pengujian dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer di bawah kondisi aerob. Dari masing-masing larutan yang telah diencerkan dalam berbagai konsentrasi (ppm), diambil larutan uji sebanyak 1 ml dan ditambahkan 2,9 ml dapar fosfat 0,05 M pH optimum dan 2 ml larutan substrat xantin pada konsentrasi optimum kemudian dilakukan prainkubasi masing-masing pada suhu optimum selama 10 menit. Setelah prainkubasi selesai 0,1 ml larutan xantin oksidase ditambahkan ke dalam tabung reaksi dan dihomogenkan menggunakan vortex mixer. Larutan campuran kemudian diinkubasikan pada suhu optimum selama 30 menit. Reaksi dihentikan dengan penambahan 1 ml HCl 1 N, kemudian diukur serapannya pada panjang gelombang maksimum menggunakan spektrofotometer.

3.4.5.10 Pengujian Kontrol Sampel

Larutan uji sebanyak 1 ml ditambahkan 3,0 ml dapar fosfat 0,05 M pH optimum dan 2 ml larutan substrat xantin pada konsentrasi optimum. Larutan dilakukan prainkubasi selama 10 menit, kemudian ditambahkan larutan HCl 1 N. Larutan campuran kemudian diinkubasikan pada suhu optimum selama 30 menit. Setelah inkubasi selesai larutan diukur serapannya menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang maksimum.

3.4.5.11 Pengujian Standar

Larutan standar Alopurinol sebanyak 1 ml (konsentrasi 0,1; 0,2; 0,5; dan 1,0 $\mu\text{g/ml}$) ditambahkan 2,9 ml dapar fosfat 0,05 M pH optimum dan 2 ml larutan substrat xantin pada konsentrasi optimum, kemudian dilakukan prainkubasi masing-masing pada suhu optimum selama 10 menit. Setelah prainkubasi selesai 0,1 ml larutan xantin oksidase ditambahkan ke dalam tabung reaksi dan dihomogenkan menggunakan vortex mixer. Larutan campuran kemudian diinkubasikan pada suhu optimum selama 30 menit. Reaksi dihentikan dengan penambahan 1 ml HCl 1 N, kemudian diukur serapannya pada panjang gelombang maksimum menggunakan spektrofotometer.

a. Pengujian Kontrol Standar

Larutan standar Alopurinol sebanyak 1 ml dengan konsentrasi 5; 10; 20; 50 dan 100 $\mu\text{g/ml}$ ditambahkan 3,0 ml dapar fosfat 0,05 M pH optimum dan 2 ml larutan substrat xantin pada konsentrasi optimum. Larutan dilakukan prainkubasi selama 10 menit, kemudian ditambahkan larutan HCl 1 N. Larutan campuran kemudian diinkubasikan pada suhu optimum selama 30 menit. Setelah inkubasi selesai, larutan diukur serapannya menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang maksimum.

b. Pengujian Blanko

Dapar fosfat 0,05 M pH optimum sebanyak 2,9 ml dan 2 ml larutan substrat xantin pada konsentrasi optimum kemudian dilakukan prainkubasi masing-masing pada suhu optimum selama 10 menit. Setelah prainkubasi selesai 0,1 ml larutan xantin oksidase ditambahkan ke dalam tabung reaksi dan dihomogenkan menggunakan vortex mixer. Larutan campuran kemudian

diinkubasikan pada suhu optimum selama 30 menit. Reaksi dihentikan dengan penambahan 1 ml HCl 1 N, kemudian diukur serapannya pada panjang gelombang maksimum menggunakan spektrofotometer.

c. Pengujian Kontrol Blanko

Dapar fosfat 0,05 M pH optimum sebanyak 3,0 ml dan 2 ml larutan substrat xantin pada konsentrasi optimum. Larutan dilakukan preinkubasi selama 10 menit, kemudian ditambahkan larutan HCl 1 N. Larutan campuran kemudian diinkubasikan pada suhu optimum selama 30 menit. Setelah masa inkubasi selesai larutan diukur serapannya menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang maksimum.

3.4.5.12 Perhitungan Penghambatan Aktivitas Xantin Oksidase (IC₅₀)

$$\text{Rumus : \% inhibisi} = \left(1 - \frac{B}{A}\right) \times 100\% \dots\dots\dots(5.2)$$

Keterangan:

A : Perubahan absorbansi larutan uji tanpa ekstrak formulasi sediaan teh celup kombinasi daun gandarusa dan kaliks rosela

Blanko (abs dengan enzim) – Kontrol blanko (abs tanpa enzim)

B : Perubahan absorbansi larutan uji dengan ekstrak formulasi sediaan teh celup daun gandarusa dan kaliks rosela

Sampel (abs dengan enzim) – Kontrol sampel (abs tanpa enzim)

Sebagai kontrol positif digunakan Alopurinol dengan konsentrasi 5, 10, 20, 50 dan 100 µg/ml. Nilai IC₅₀ dihitung menggunakan rumus persamaan regresi sebagai berikut:

$$y = a + bx \dots\dots\dots(5.3)$$

Keterangan :

variabel x = konsentrasi sampel

variabel y = % inhibisi

BAB 4

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Penyiapan Bahan

Simplisia yang digunakan pada penelitian ini adalah bagian daun dari tanaman gendarusa dan bagian kelopak bunga dari tanaman rosela yang diperoleh dari kebun Farmasi UI, Depok dan dideterminasi oleh Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (Lampiran 3 dan 4). Hasil determinasi menunjukkan bahwa tanaman yang diambil benar merupakan tanaman gendarusa (*Gendarussa vulgaris* atau *Justicia gendarussa* Burm.) dan tanaman rosela (*Hibiscus sabdariffa* Linn.). Determinasi perlu dilakukan untuk menunjukkan keaslian tanaman yang akan digunakan pada saat penelitian.

Daun dari tanaman *Justicia gendarussa* yang digunakan adalah bagian daun kedua hingga keempat dari pucuk tanaman gendarusa, sedangkan untuk tanaman *Hibiscus sabdariffa*, diambil bagian bunga dan dipisahkan dari bijinya untuk mendapatkan kelopaknya. Selanjutnya, disortasi basah untuk memisahkan kotoran dan dilakukan pencucian. Bagian daun gendarusa dan kaliks rosela dilakukan perajangan untuk memperkecil ukuran. Pengeringan dilakukan pada tempat yang teduh dan tidak terkena sinar matahari langsung. Setelah didapat simplisia yang sudah mulai mengering, dilakukan pengeringan dalam oven bersuhu 40° C selama satu jam untuk lebih menghomogenkan pengeringan simplisia. Pengeringan dilakukan dengan tujuan memperkecil kadar air yang terdapat dalam simplisia. Selain itu pengeringan simplisia juga ditujukan untuk menghambat pertumbuhan jamur atau bakteri penyebab pembusukan simplisia.

Simplisia daun gendarusa dan kaliks rosela yang telah kering dijadikan serbuk menggunakan mesin penggiling sehingga luas permukaan simplisia menjadi lebih besar agar kandungan kimia yang dapat diekstraksi menjadi lebih banyak. Namun, bila ukuran serbuk simplisia terlalu kecil, maka akan dapat menyulitkan proses penyaringan karena serbuk akan menutupi pori-pori kertas saring dan bila ukuran serbuk terlalu besar, dapat menyebabkan proses penyarian simplisia kurang optimal. Simplisia kaliks rosela dapat dilihat pada Gambar 4.11. Sedangkan, simplisia daun gendarusa dapat dilihat pada Gambar 4.12.

4.2 Karakterisasi Simplisia

Karakterisasi simplisia terdiri dari dua bagian, yaitu karakterisasi simplisia yang bersifat non-spesifik dan spesifik. Karakterisasi non-spesifik simplisia yang dilakukan pada daun gandarusa dan kaliks rosela antara lain adalah menetapkan persentase simplisia kering terhadap simplisia segar, penetapan kadar air, kadar abu total dan kadar abu tak larut dalam asam. Sedangkan, untuk karakterisasi spesifik simplisia yang dilakukan adalah penetapan kadar sari yang terlarut dalam air, kadar sari yang terlarut dalam etanol, pengujian organoleptis, pola kromatogram, identifikasi golongan senyawa kimia pada ekstrak uji, dan penetapan kadar flavonoid.

4.2.1 Karakterisasi Non Spesifik Simplisia

4.2.1.1 Penyusutan Simplisia

Tujuan penetapan kadar air yang hilang dari simplisia kering terhadap simplisia segar adalah untuk memberi batasan minimal pada rentang besarnya kadar air yang hilang pada proses pengeringan. Persentase pengeringan simplisia daun gandarusa dan kaliks rosela yang digunakan pada penelitian ini berturut-turut adalah 62,91 % dan 65,29 %. Hasil selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 4.5 dan Tabel 4.6.

4.2.1.2 Kadar Air

Penetapan kadar air adalah pengukuran kandungan air pada simplisia yang telah dikeringkan dan diserbukkan. Tujuannya adalah memberikan batasan minimal rentang besarnya kandungan air di dalam serbuk simplisia tersebut. Persentase kadar air daun gandarusa dan kaliks rosela yang digunakan pada penelitian ini berturut-turut adalah 9,08 % dan 9,71 %. Hasil selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 4.7 dan Tabel 4.8.

4.2.1.3 Kadar Abu Total

Penetapan kadar abu total dilakukan untuk mengetahui kandungan mineral total yang terkandung didalam simplisia. Persentase kadar abu total daun gandarusa dan kaliks rosela yang digunakan pada penelitian ini berturut-turut

adalah 4,37 % dan 3,60 %. Hasil selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 4.9 dan Tabel 4.10.

4.2.1.4 Kadar Abu Tak Larut dalam Asam

Persentase kadar abu tak larut dalam asam daun gandarusa dan kaliks rosela yang digunakan pada penelitian ini berturut-turut adalah 0,68 % dan 0,30 %. Hasil selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 4.11 dan Tabel 4.12.

4.2.2 Karakterisasi Spesifik Simplisia

4.2.2.1 Kadar Sari yang Terlarut dalam Air

Penetapan kadar sari yang larut dalam air dilakukan dengan tujuan untuk menentukan jumlah senyawa yang dapat larut dalam air. Persentase kadar air daun gandarusa dan kaliks rosela yang digunakan pada penelitian ini berturut-turut adalah 64,05 % dan 34,66 %. Hasil selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 4.13 dan Tabel 4.14.

4.2.2.2 Kadar Sari yang Terlarut dalam Etanol

Penetapan kadar sari yang larut dalam etanol dilakukan dengan tujuan untuk menentukan jumlah senyawa yang dapat larut dalam etanol. Persentase kadar air daun gandarusa dan kaliks rosela yang digunakan pada penelitian ini berturut-turut adalah 44,47 % dan 41,89 %. Hasil selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 4.15 dan Tabel 4.16.

4.2.2.3 Pengujian Organoleptis

Hasil pengujian organoleptik dilakukan dalam berbagai perbandingan komposisi simplisia dan dimasukkan ke dalam kantung teh. Lalu, dilakukan proses pencelupan kantung teh ke dalam air panas bersuhu 75° – 80° C selama 10 menit sambil diaduk. Larutan uji ini kemudian dilakukan uji organoleptik. Pemeriksaan ini ditujukan untuk memberikan identitas objektif dan untuk pengenalan awal larutan dari sediaan yang dibuat secara sederhana. Hasil uji organoleptik selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 4.1

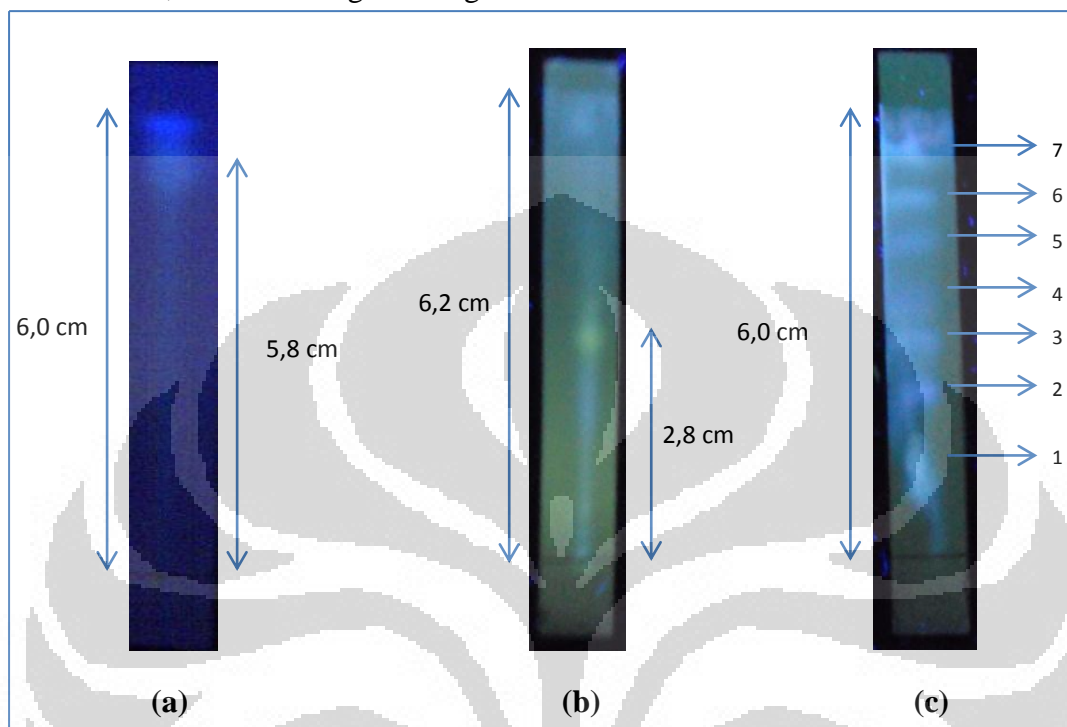
Tabel 4.1 Hasil Pengujian Organoleptis Teh Celup Kombinasi Daun Gandarusa dan Kaliks Rosela dalam Berbagai Perbandingan

No.	Perbandingan Daun Gandarusa : Kaliks Rosela	Berat Daun Gandarus a (gram)	Berat Kaliks Rosela (gram)	Hasil Pengujian Organoleptis		
				Warna	Bau	Rasa
1	10 : 0	3,0	-	Coklat Keruh	Khas Daun Gandarusa	Tawar dan agak asam
2	7 : 3	2,1	0,9	Coklat (tidak keruh)	Khas Rosela	Sedikit asam
3	5 : 5	1,5	1,5	Coklat	Khas Rosela	Asam
4	3 : 7	0,9	2,1	Coklat	Khas Rosela	Asam
5	0 : 10	-	3,0	Coklat	Khas Rosela	Sangat Asam

4.2.2.4 Pola Kromatogram

Pengujian pola kromatogram dilakukan pada larutan uji teh celup daun gandarusa dan kaliks rosela yang telah dikentalkan diatas penangas air, dan dilarutkan dalam aseton untuk melarutkan ekstrak kental yang akan ditotolkan pada lempeng KLT untuk uji pola kromatogram. Eluen yang digunakan adalah larutan butanol : asam asetat : air (4 : 1 : 5). Hasil elusi kemudian disemprot dengan pereaksi semprot yang spesifik untuk flavonoid, yaitu $AlCl_3$ 10%. Hasil positif adanya flavonoid pada hasil elusi ditunjukkan dengan adanya bercak berwarna kuning terang pada panjang gelombang 366 nm di bawah sinar tampak. Munculnya warna ini disebabkan karena terbentuknya senyawa kompleks tahan asam antara gugus hidroksi yakni 5-hidroksi-flavonoid dan keton yang bertetangga, serta membentuk kompleks yang tidak tahan asam dengan gugus

ortodihidroksi. Berikut ini adalah hasil pengelusan pada ekstrak air daun gandarusa dan kaliks rosela, beserta nilai Rf yang didapatkan dari masing-masing ekstrak, dan dibandingkan dengan standard kuersetin :



Keterangan : Gambar diatas merupakan hasil dari uji pola kromatogram pada ekstrak air daun gandarusa dan kaliks rosela, menggunakan eluen butanol : asam asetat : air dengan perbandingan 4 : 1 : 5. Hasil elusi disemprot dengan AlCl_3 10% dan diamati dibawah sinar tampak 366 nm; gambar (a) merupakan hasil elusi kuersetin sebagai standard; gambar (b) merupakan hasil elusi ekstrak air daun gandarusa dan gambar (c) merupakan hasil elusi ekstrak air kaliks rosela

Gambar 4.1 Hasil Elusi Ekstrak Air Daun Gandarusa dan Kaliks Rosela pada Lempeng KLT Menggunakan Eluen Butanol : Asam Asetat : Air dengan Perbandingan 4 : 1 : 5

Gambar 4.1 (a) merupakan hasil elusi dari senyawa kuersetin yang termasuk ke dalam golongan flavonoid. Senyawa kuersetin dijadikan standard pada pengujian pola kromatogram ini, untuk membandingkan bercak yang didapat oleh sampel dengan standard setelah keduanya dielusikan menggunakan eluen butanol : asam asetat : air (4 : 1 : 5). Bercak yang dihasilkan oleh kuersetin setelah dielusi dan disemprot dengan pereaksi AlCl_3 10% adalah warna kuning dibawah sinar tampak 366 nm. Berdasarkan hasil yang didapat, nilai Rf standard kuersetin adalah 0,967.

Pada gambar 4.1 (b), pemisahan pada ekstrak air gandarusa dapat terlihat setelah dilakukan penyemprotan dengan reaksi semprot AlCl_3 10% dan diamati di bawah sinar UV 366 nm. Nilai Rf yang diperoleh oleh bercak yang timbul dapat dilihat pada Tabel 4.2.

Tabel 4.2 Nilai Rf KLT pada ekstrak air daun gandarusa dengan fase gerak butanol : asam asetat : air (4 : 1 : 5)

Bercak	Rf	Warna
1	0,45	Kuning

Berdasarkan literatur, *Justicia gendarussa* memiliki kandungan flavonoid seperti falvonol-3-glikosida, flavon, luteolin, iso-orientin (luteolin-6-C-glikosida), dan gandarusin A (Prajogo, 2007).

Pada gambar 4.1 (c), pemisahan pada ekstrak air kaliks rosela dapat terlihat setelah dilakukan penyemprotan dengan reaksi semprot AlCl_3 10% dan diamati di bawah sinar UV 366 nm. Nilai Rf yang diperoleh oleh bercak yang timbul dapat dilihat pada Tabel 4.3.

Tabel 4.3 Nilai Rf KLT pada ekstrak air kaliks rosela dengan fase gerak butanol : asam asetat : air (4 : 1 : 5)

Bercak	Rf	Warna
1	0,13	Kuning
2	0,22	Biru
3	0,40	Kuning
4	0,53	Biru
5	0,70	Biru
6	0,80	Biru
7	0,97	Kuning

Berdasarkan literatur, *Hibiscus sabdariffa* memiliki kandungan flavonoid antara lain flavonoid mirisetin, kaemferol, kuersetin (Khare, 2007) dan flavonoid

gosipetin (Duke, 2002). Terdapat literatur yang menyebutkan bahwa flavonoid yang memiliki penghambatan terhadap xantin oksidase adalah flavonoid golongan flavon, seperti apigenin, luteolin dan golongan flavonol seperti kaempferol, quercetin, dan myricetin (van Horn et al., 2002).

4.2.3 Identifikasi Golongan Senyawa

Identifikasi kandungan golongan senyawa dilakukan untuk mengidentifikasi keberadaan senyawa berdasarkan golongannya sebagai informasi awal kandungan senyawa yang terdapat pada masing-masing ekstrak uji. Identifikasi dilakukan menggunakan kontrol positif berupa simplisia yang telah diketahui memiliki kandungan golongan senyawa yang diuji. Kontrol positif tersebut antara lain kulit batang Kina untuk kontrol positif golongan senyawa alkaloid, Rhei Radix untuk golongan senyawa antrakuinon, daun benalu mangga untuk golongan senyawa flavonoid, daun teh untuk golongan senyawa tanin dan Nerii Folium untuk golongan senyawa glikosida dan saponin.

4.2.3.1 Identifikasi Alkaloid

Senyawa alkaloid merupakan senyawa bersifat basa yang mengandung satu atau lebih nitrogen, biasanya dalam bentuk gabungan, sebagai bagian dari sistem siklik. Pada identifikasi golongan senyawa alkaloid, masing-masing ekstrak ditambahkan campuran air suling dan larutan HCl 2N. Dengan penambahan asam, alkaloid yang bersifat basa akan membentuk garam yang larut di dalam air suling. Masing-masing ekstrak kemudian ditambahkan pereaksi Mayer, Dragendorff dan Bouchardat yang kemudian dibandingkan dengan kontrol positif kulit batang Kina. Adanya alkaloid ditandai dengan terbentuknya endapan berwarna putih susu dengan penambahan pereaksi Mayer, endapan berwarna coklat jingga pada pereaksi Bouchardat dan terbentuknya endapan merah bata dengan pereaksi Dragendorff. Terbentuknya endapan disebabkan karena alkaloid membentuk senyawa adisi yang tidak larut.

4.2.3.2 Identifikasi Flavonoid

Identifikasi flavonoid dilakukan dengan membandingkan kontrol positif, yaitu daun benalu mangga. Hasil positif flavonoid ditunjukkan dengan adanya warna merah pada larutan uji saat direaksikan dengan serbuk Zink dan berwarna jingga saat direaksikan dengan serbuk Magnesium dalam asam klorida 2N.

Untuk pengujian flavonoida, dilakukan penambahan HCl 2N dengan tujuan untuk memutus ikatan hemiasetal pada gugus hidroksil sehingga glikosida yang berikatan dengan flavonoida akan lepas dan flavonoida akan bersifat lebih reaktif. Lalu, logam Zn dan Mg yang ditambahkan saat identifikasi dilakukan, bertujuan untuk mereduksi HCl 2N dan membentuk gelembung-gelembung gas H₂ pada reaksinya, juga flavonoida akan membentuk garam fenolat yang akan menyebabkan timbulnya warna pada larutan.

Pada pengujian flavonoida yang lain, penambahan asam borat dan asam oksalat dengan eter sebagai media pelarutnya, bertujuan untuk membentuk kompleks oksaloborat yang akan bereaksi dengan flavonoida dari ekstrak yang diuji, sehingga menimbulkan fluoresensi kuning di bawah sinar tampak pada panjang gelombang 366 nm.

4.2.3.3 Identifikasi Glikon

Glikosida mengandung dua komponen, yaitu bagian aglikon atau bagian bukan gula dan bagian gula. Jika glikon dan aglikon ini saling terikat, maka akan membentuk suatu senyawa kimia yang disebut sebagai glikosida. Pereaksi spesifik untuk menguji adanya kandungan glikon dalam suatu ekstrak uji adalah dengan melakukan reaksi Molisch, dimana hasil positif glikon dinyatakan dengan terbentuknya cincin ungu setelah dilakukan penambahan asam sulfat pekat. Sebelum dilakukan reaksi Molisch, terlebih dahulu dilakukan hidrolisis dengan menggunakan asam klorida pada ekstrak uji, dengan tujuan untuk melepas ikatan antara glikon dengan aglikon. Identifikasi golongan senyawa glikon dibandingkan dengan kontrol positif yaitu *Nerii Folium*.

4.2.3.4 Identifikasi Saponin

Pada identifikasi golongan senyawa saponin dibandingkan dengan kontrol positif, yaitu dengan *Nerri Folium*. Identifikasi saponin dilakukan dengan cara penambahan air panas pada ekstrak uji dan dilakukan pengocokan kuat selama 10 detik. Bila terdapat buih setelah pengocokan, buih ditunggu selama 10 menit untuk melihat kestabilan buih saat didiamkan dan setelah 10 menit, dilakukan penambahan HCl 2N pada buih yang terbentuk. Hasil positif dinyatakan oleh adanya buih yang tetap ada setelah dilakukan penambahan HCl 2N. Untuk ekstrak air daun gandarusa dan kaliks rosela, keduanya menunjukkan hasil positif saponin, dimana buih yang terbentuk setelah ditambahkan HCl 2N pada ekstrak uji daun gandarusa adalah setinggi 1,2 cm dan untuk kaliks rosela setinggi 1,5 cm.

4.2.3.5 Identifikasi Sterol

Identifikasi golongan senyawa sterol atau terpen dilakukan dengan menggunakan penambahan asam asetat anhidrat dan asam sulfat pekat dan dibandingkan dengan kontrol positif yaitu sterol, jika positif terdapat golongan senyawa terpen maka akan terbentuk warna merah hijau atau hijau biru (Farnsworth, 1966 ; Harborne, 1987). Pada pengujian ini, baik ekstrak uji daun gandarusa dan kaliks rosela, keduanya menunjukkan hasil negatif. Tidak adanya sterol atau terpen mungkin dikarenakan kelarutan terpen pada pelarut non-polar, sedangkan ekstrak yang diuji pada penelitian ini adalah ekstrak air.

4.2.3.6 Identifikasi Tanin

Pada identifikasi tanin, kontrol positif yang digunakan adalah serbuk daun teh. Identifikasi tanin meliputi penambahan FeCl_3 , larutan NaCl-gelatin dan larutan gelatin 10%. Pada penambahan FeCl_3 , didapatkan hasil positif pada ekstrak air daun gandarusa dan kaliks rosela. Hasil positif tersebut ditandai dengan timbulnya perubahan warna menjadi hijau tua. Hal ini menandai bahwa dalam ekstrak air daun gandarusa dan kaliks rosela terdapat kandungan fenol. Lalu, pada identifikasi tanin lainnya, yaitu penambahan larutan NaCl-gelatin dan larutan gelatin pada masing-masing ekstrak air daun gandarusa dan kaliks rosela, hasil yang diberikan negatif pada kedua ekstrak uji karena tidak terbentuk

endapan pada larutan. Dari hasil uji yang dilakukan, disimpulkan bahwa kedua ekstrak uji negatif tanin.

Hasil identifikasi golongan senyawa masing-masing ekstrak daun *Justicia gendarussa* Burm. dan kaliks *Hibiscus sabdariffa* Linn. dapat dilihat pada Tabel 4.4.

Tabel 4.4 Identifikasi golongan senyawa pada ekstrak air daun gandarusa (*Justicia gendarussa* Burm.) dan kaliks rosela (*Hibiscus sabdariffa*)

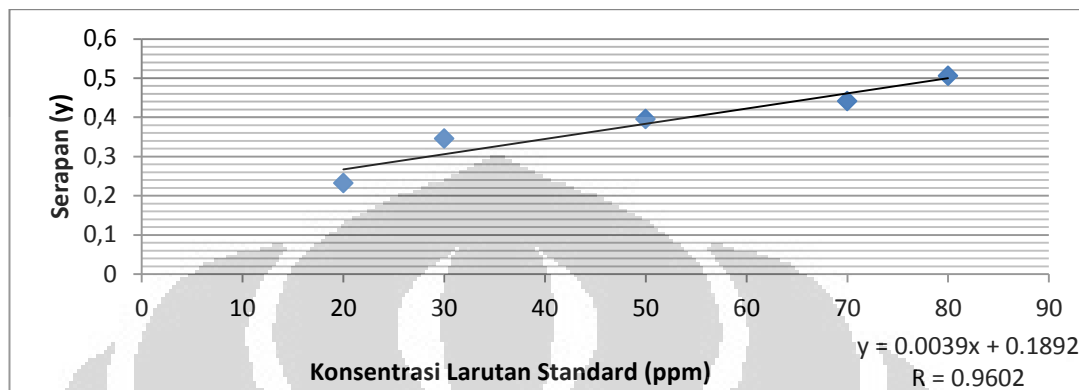
	Ekstrak Air Daun Gandarusa	Ekstrak Air Kaliks Rosela
Alkaloida	+	-
Tanin	-	-
Saponin	+	+
Glikosida	+	+
Glikosida Antrakuinon	-	-
Kuinon	-	-
Flavonoida	+	+
Sterol	-	-

4.2.4 Penetapan Kadar Flavonoid

Penetapan kadar flavonoid juga dilakukan untuk mengetahui besarnya kandungan flavonoid pada ekstrak uji yang digunakan. Penetapan ini dilakukan juga untuk membandingkan pengaruh besarnya kadar flavonoid pada ekstrak dengan kemampuan penghambatan aktivitas enzim xantin oksidase dari ekstrak itu sendiri. Penetapan kadar flavonoid dilakukan berdasarkan metode Chang karena prosedur kerjanya lebih sederhana, cepat dan ekonomis, serta diketahui lebih spesifik untuk flavonoida golongan flavon dan flavonol.

Pada metode ini, dilakukan penambahan HCl 4N dan pemanasan dengan refluks selama 30 menit pada penetapan kadar flavonoida yang bertujuan untuk melepas gugus gula dari ikatan glikosida sehingga flavonoid ditetapkan kadarnya sebagai aglikon. Selain itu, hidrolisis dapat mengurangi jumlah campuran senyawa dan membuat pemisahan kromatografi lebih mudah diperoleh. Kadar flavonoid total dihitung sebagai kesetaraan dengan baku kuersetin.

Dari penelitian yang telah dilakukan, didapat persamaan regresi linier standard kuersetin adalah $y = 0,0039x + 0,1892$, dengan nilai r adalah 0,9602 pada panjang gelombang maksimum 415 nm (Tabel 4.17).



(Gambar 4.2 Kurva linieritas standard kuersetin pada λ 415,0 nm)

Persamaan regresi linier yang didapat kemudian digunakan untuk menghitung kadar flavonoida yang terdapat pada ekstrak air daun gandarusa dan kaliks rosela. Berdasarkan hasil perhitungan, kadar flavonoid ekstrak air daun gandarusa adalah 1,13 % dan kadar flavonoida ekstrak air kaliks rosela adalah 0,48 %. Hasil selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 4.18.

4.3 Uji Penghambatan Aktivitas Enzim Xantin Oksidase Secara *In Vitro* pada Teh Celup Kombinasi Daun Gandarusa dan Kaliks Rosela

Prinsip pengukuran uji penghambatan aktivitas xantin oksidase adalah mengukur jumlah asam urat yang terbentuk pada reaksi yang dikatalisis oleh xantin oksidase. Pengujian ini merupakan model pengujian secara *in vitro* yang dilakukan secara spektrofotometri pada panjang gelombang maksimum. Uji penghambatan aktivitas xantin oksidase terdiri dari uji pendahuluan penghambatan aktivitas xantin oksidase dan pengujian sampel terhadap penghambatan aktivitas xantin oksidase. Uji pendahuluan penghambatan aktivitas xantin oksidase bertujuan untuk menentukan kondisi optimum aktivitas enzim sehingga dapat berlangsung optimal. Uji pendahuluan penghambatan aktivitas enzim xantin oksidase terdiri dari optimasi panjang gelombang maksimum,

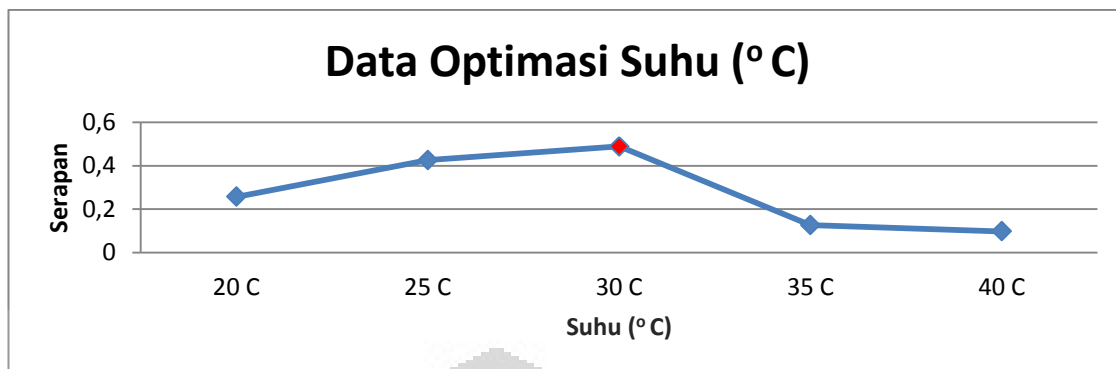
optimasi suhu inkubasi, optimasi pH larutan dan optimasi konsentrasi substrat xantin yang digunakan.

4.3.1 Optimasi Panjang Gelombang Maksimum

Penentuan panjang gelombang maksimum dilakukan sebelum uji inhibisi enzim xantin oksidase. Tujuan dilakukannya penentuan panjang gelombang maksimum adalah untuk menentukan panjang gelombang pengukuran serapan pada pengujian selanjutnya, termasuk penentuan kondisi optimum dan uji sampel terhadap penghambatan aktivitas xantin oksidase. Pengukuran dilakukan dengan menggunakan alat spektrofotometer ultraviolet (UV) pada panjang gelombang 200 – 400 nm. Dari pencarian yang telah dilakukan, diperoleh panjang gelombang maksimum (λ) 281,5 nm. Hal ini menunjukkan adanya ketidaksesuaian panjang gelombang maksimum yang didapat oleh Umamaheswari, yaitu 290 nm, sehingga rumus aktivitas enzim tidak bisa dipakai karena rumus tersebut hanya bisa digunakan pada kondisi optimal yang sama pada λ 290 nm..

4.3.2 Optimasi Suhu Pra-Inkubasi dan Inkubasi

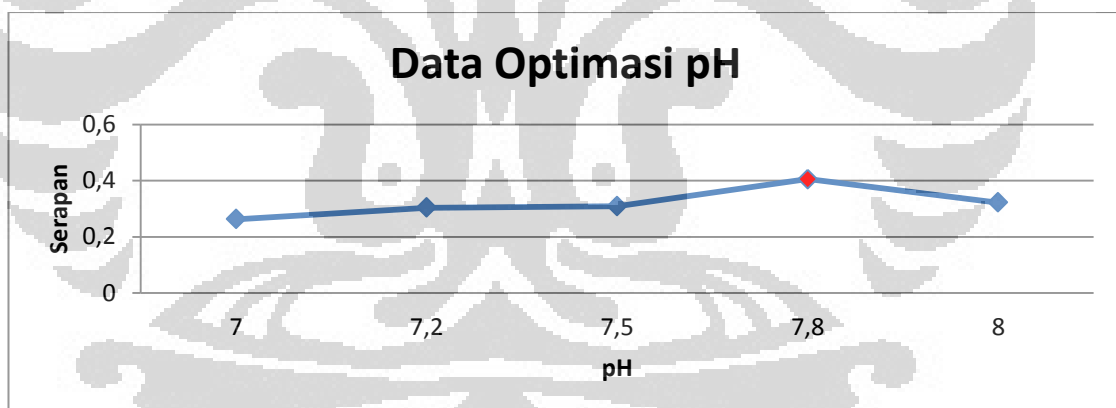
Pada penentuan suhu optimum, masing-masing larutan uji dilakukan prainkubasi dan inkubasi pada suhu 20, 25, 30, 35 dan 40°C. Prainkubasi dilakukan selama 10 menit di dalam inkubator dan bertujuan untuk menyesuaikan suhu larutan uji dengan suhu inkubasi, dimana enzim dapat bekerja dengan optimum. Setelah dilakukan pengukuran, kondisi optimum ditunjukkan pada suhu 30°C, dimana serapan dan aktivitas yang dihasilkan lebih besar dibandingkan dengan pada suhu 20, 25, 30 dan 35°C. Suhu optimum yang diperoleh digunakan pada prainkubasi dan inkubasi pada saat pengujian sampel. Data serapan pada penentuan suhu optimum dapat dilihat pada Tabel 4.19.



(Gambar 4.3 Kurva Optimasi Suhu untuk Uji Penghambatan Aktivitas Enzim Xantin Oksidase)

4.3.3 Optimasi pH Larutan

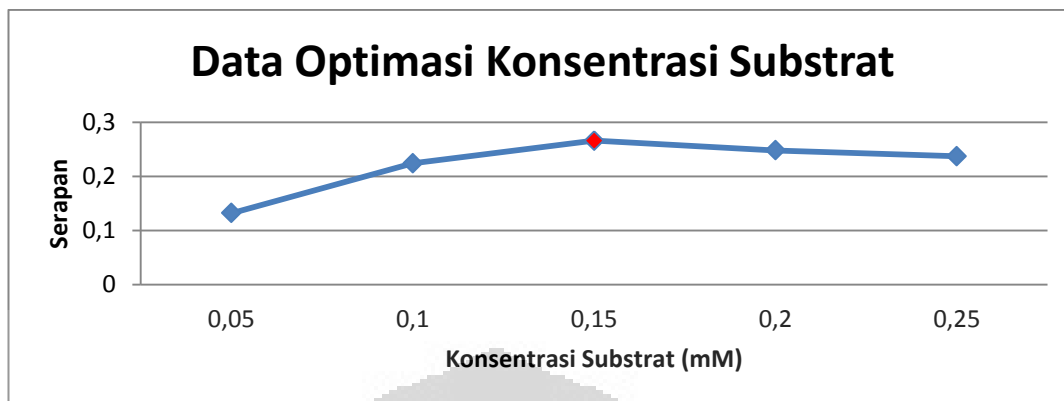
Pada uji optimasi pH, variasi yang digunakan adalah pada pH 7,5 ; 7,8; 8; 8,3 dan 8,5. Kondisi optimum ditunjukkan pada pH 7,8 dengan serapan dan nilai aktivitas yang lebih besar dibandingkan dengan pada pH 7,5 , pH 8, pH 8,3 dan pH 8,5. Nilai pH yang diperoleh pada uji pendahuluan akan digunakan pada saat pengujian selanjutnya, yaitu pada saat pengujian sampel. Data serapan pada penentuan pH optimum dapat dilihat pada Tabel 4.20.



(Gambar 4.4 Kurva Optimasi pH untuk Uji Penghambatan Aktivitas Enzim Xantin Oksidase)

4.3.4 Optimasi Konsentrasi Substrat

Uji konsentrasi substrat dilakukan untuk mengetahui konsentrasi substrat optimum yang sesuai dengan unit enzim yang digunakan. Substrat yang digunakan adalah xantin. Konsentrasi xantin pada penentuan konsentrasi substrat optimum adalah 0,05 ; 0,1 ; 0,15 ; 0,2 dan 0,25 mM.



(Gambar 4.5 Kurva Data Optimasi Konsentrasi Substrat Xantin)

Pada Gambar 4.5 setelah konsentrasi substrat optimum diperoleh, terjadi penurunan aktivitas pada konsentrasi substrat 0,2 mM dan terjadi penurunan kembali pada penambahan substrat dengan konsentrasi 0,25 mM. Penurunan aktivitas ini disebabkan oleh penghambatan aktivitas enzim oleh produk, yaitu asam urat. Penghambatan oleh produk tidak selalu konstan, tetapi penghambatannya dapat meningkat seiring dengan meningkatnya pembentukan produk (Bisswanger, 2002).

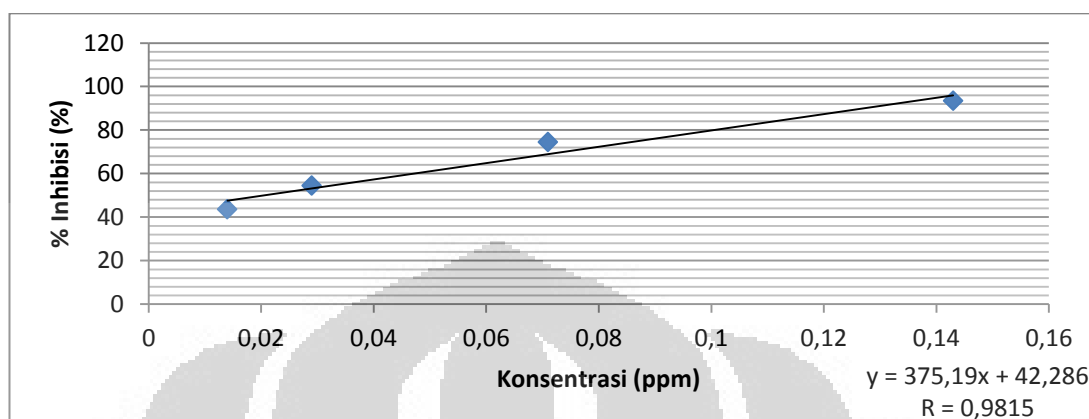
4.3.5 Uji Penghambatan Aktivitas Xantin Oksidase oleh Standard Alopurinol

Berdasarkan hasil yang didapat dari uji pendahuluan, diperoleh bahwa kondisi optimum xantin oksidase adalah pada suhu 30°C, menggunakan dapar fosfat pH 7,8 dan konsentrasi substrat yang digunakan adalah 0,15 mM. Serapan diukur secara spektrofotometri pada panjang gelombang 281,5 nm. Kondisi optimum yang telah diperoleh digunakan pada pengujian standard alopurinol dan sampel.

Pada penelitian ini, yang digunakan sebagai standar adalah alopurinol. Konsentrasi larutan induk yang dibuat adalah 1000 µg/mL. Lalu, dilakukan pengenceran konsentrasi menjadi 0,1; 0,2; 0,5 dan 1 µg/mL dan diperoleh nilai IC₅₀ sebesar 0,02 µg/mL.

Pembuatan kurva standard perlu dilakukan sebelum uji enzimatik untuk mengetahui serapan xantin pada berbagai konsentrasi. Dengan demikian dapat diketahui berapa jumlah xantin yang dikonversi menjadi asam urat dalam reaksi enzimatik. Persamaan linier kurva standard yang diperoleh adalah $y = 42,286 + 375,19x$, dengan nilai Y adalah serapan xantin dengan penambahan ekstrak yang

terukur dan x adalah konsentrasi xantin sisa yang tidak terkonversi menjadi asam urat.



(Gambar 4.6 Kurva linieritas standard alopurinol pada λ 281,5 nm)

Konsentrasi ini dapat diubah menjadi konsentrasi xantin yang bereaksi dengan enzim xantin oksidase. Dengan diperolehnya konsentrasi xantin yang bereaksi, maka akan diketahui seberapa besar aktivitas xantin oksidase dalam mengubah xantin menjadi asam urat, sekaligus dapat ditentukan seberapa besar persen inhibisi ekstrak yang diujikan terhadap aktivitas xantin oksidase.

Terdapat beberapa perbedaan pada nilai IC_{50} Alopurinol pada penelitian yang telah dilakukan. Nilai IC_{50} tersebut adalah 24,4 $\mu\text{g/ml}$ (Kong, Zhang, Pan, Tan & Cheng, 2000); 30,7 $\mu\text{g/ml}$ (Kazuya et al., 2009), 6,75 $\mu\text{g/ml}$ (Umamaheswari et al., 2007). Hal ini mungkin disebabkan karena perbedaan perhitungan satuan konsentrasi, variasi konsentrasi pengujian, dan asal standar tersebut.

4.3.6 Uji Penghambatan Aktivitas Xantin Oksidase oleh Sampel

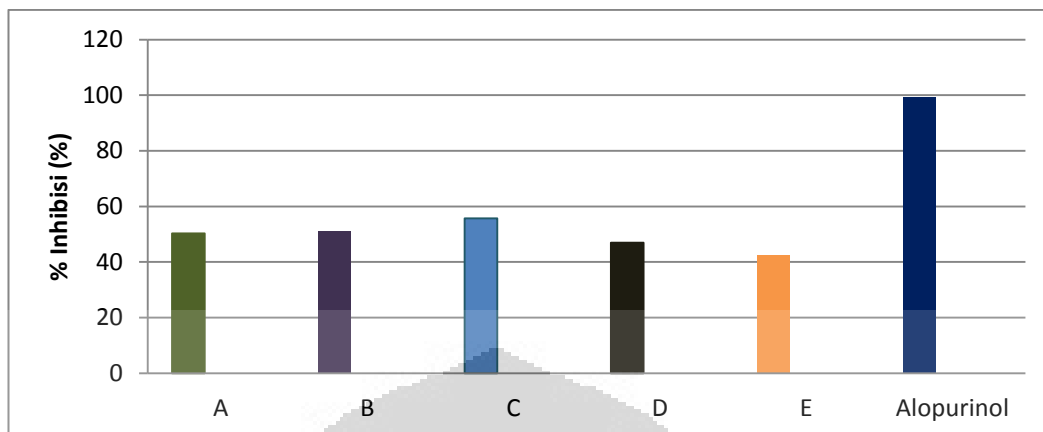
Larutan uji yang digunakan adalah larutan hasil celupan daun gandarusa, kaliks rosela dan kombinasi keduanya yang dibuat dalam berbagai perbandingan. Uji inhibisi pada xantin oksidase dilakukan pada semua ekstrak uji daun gandarusa dan kaliks rosela dalam varian konsentrasi. Pengujian pada konsentrasi beragam ini ditujukan untuk melihat pengaruh penambahan konsentrasi ekstrak pada peningkatan daya inhibisi. Ragam konsentrasi ekstrak yang digunakan adalah 1-50 ppm. Selain itu juga dilakukan pengamatan aktivitas enzim tanpa

penambahan ekstrak (blanko) untuk melihat pengaruh inhibisi ekstrak tersebut pada aktivitas enzim.

Dari hasil uji penghambatan xantin oksidase oleh ekstrak air daun gandarusa dan kaliks rosela, didapat bahwa semua ekstrak sampel yang diuji memiliki nilai serapan yang lebih rendah dibandingkan dengan blanko. Daya inhibisi seluruh ekstrak daun gandarusa dan kaliks rosela, baik dalam kombinasi atau dari tanaman itu sendiri, menunjukkan bahwa hampir semua ekstrak berpotensi menghambat aktivitas xantin oksidase.

Ekstrak air daun gandarusa dan kaliks rosela terbukti dapat menurunkan kerja enzim xantin oksidase cukup baik pada konsentrasi yang paling rendah 1 ppm dengan % inhibisi masing-masing sebesar 36,66 dan 37,57 %. Sementara persen inhibisi tertinggi untuk daun gandarusa sendiri adalah 50,27 % pada konsentrasi 50 ppm dan untuk kaliks rosela yaitu 42,47 % pada 50 ppm. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak air daun gandarusa dan kaliks rosela, maka persen inhibisi xantin oksidase akan meningkat.

Daya inhibisi pada konsentrasi tertinggi (50 ppm) ekstrak air daun gandarusa (50,27%) lebih besar daripada ekstrak kaliks rosela (42,47 %), mungkin dikarenakan tingginya kandungan flavonoid pada ekstrak air daun gandarusa (1,13 %) dibandingkan kaliks rosela (0,48 %), sehingga memiliki efek inhibitor xantin oksidase lebih kuat dibandingkan dengan ekstrak air rosela. Adanya efek sinergis pada metabolit sekunder daun gandarusa, seperti alkaloida, flavonoid, saponin, dan glikosida juga mungkin mempengaruhi daya inhibisi ekstrak air daun gandarusa lebih kuat daripada ekstrak air rosela.



Keterangan :

- Sampel A : Ekstrak Air Daun Gandarusa 3,0 gram**
- Sampel B : Ekstrak Air Daun Gandarusa 2,1 gram : Kaliks Rosela 0,9 gram**
- Sampel C : Ekstrak Air Daun Gandarusa 1,5 gram : Kaliks Rosela 1,5 gram**
- Sampel D : Ekstrak Air Daun Gandarusa 0,9 gram : Kaliks Rosela 2,1 gram**
- Sampel E : Ekstrak Air Kaliks Rosela 3,0 gram**

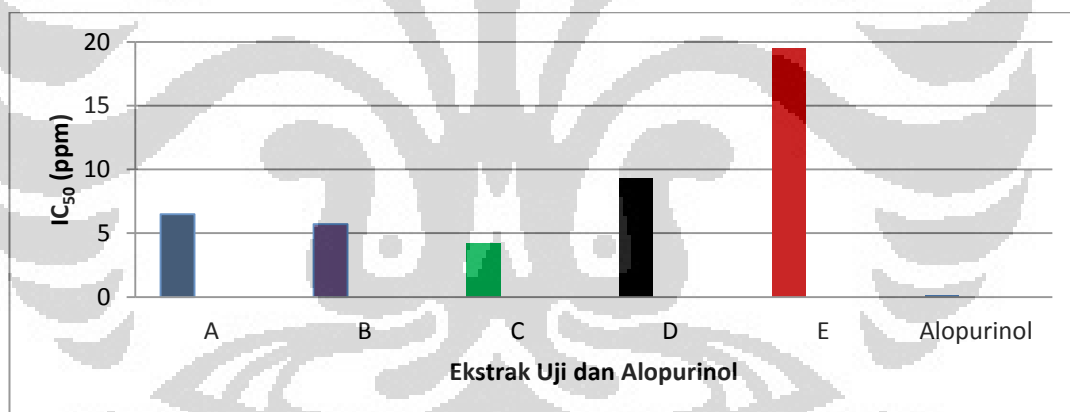
Gambar 4.7 Grafik Persen Inhibisi dari Seluruh Ekstrak Uji (50 ppm) dan Standard Alopurinol (1 ppm)

Adanya kombinasi menggunakan dua tanaman pada variasi perbandingan juga membuat daya inhibisi terhadap xantin oksidase lebih baik dibandingkan ekstrak tanaman asalnya itu sendiri. Komposisi perbandingan daun gandarusa : kaliks rosela yang diuji adalah 10:0 ; 7:3 ; 5:5 ; 3:7 ; dan 0:10. Daya inhibisi pada konsentrasi terkecil (1 ppm) pada komposisi perbandingan 7:3 ; 5:5 ; dan 3:7, berturut-turut adalah 38,29, 33,58, dan 37,75 %. Sedangkan, daya inhibisi pada konsentrasi terbesar (50 ppm) secara berturut-turut yaitu 50,99, 55,72, dan 47,01 %. Adanya peningkatan persen daya inhibisi pada kombinasi dua tanaman ini dibandingkan tanaman asalnya sendiri, mungkin dikarenakan adanya efek sinergis metabolit sekunder antara daun gandarusa dengan kaliks rosela.

Dari hasil penapisan fitokimia, ekstrak air daun gandarusa memiliki kandungan alkaloida, flavonoid, saponin dan juga glikosida. Sedangkan, kaliks rosela memiliki kandungan flavonoida, saponin dan glikosida. Dari hasil penapisan fitokimia, kedua ekstrak uji sama-sama memiliki kandungan flavonoid yang mampu menghambat kerja dari enzim xantin oksidase. Kandungan flavonoid golongan kuersetin, mirsetin, apigenin dan luteolin dari ekstrak tumbuhan sebagai

inhibitor xantin oksidase terkuat disebabkan oleh adanya gugus hidroksil pada C₅ dan C₇. Selain itu, disebabkan juga oleh adanya ikatan rangkap antara C₂ dan C₃ sehingga cincin B koplanar terhadap A, akibatnya lebih memudahkan interaksi dengan xantin oksidase. Sedangkan adanya ikatan rangkap pada flavonoid memungkinkan reaksi adisi (oksidasi oleh xantin oksidase) (Cos *et al.* 1998; Van Hoorn *et al.* 2002). Kemampuan flavonoid dalam menghambat aktivitas xantin oksidase berlangsung melalui mekanisme inhibisi kompetitif dan interaksi dengan enzim pada gugus samping (Lin *et al.* 2002).

Data persen inhibisi selanjutnya digunakan untuk menentukan persamaan kurva kalibrasi, dengan memasukkan nilai x sebagai konsentrasi larutan uji enzimatis dan y sebagai persen inhibisi. Persamaan yang didapat digunakan untuk menghitung nilai IC₅₀ dari masing-masing ekstrak. IC₅₀ merupakan nilai konsentrasi minimal ekstrak yang dapat menginhibisi enzim sampai 50 % (Umamaheswari *et al.* 2009).



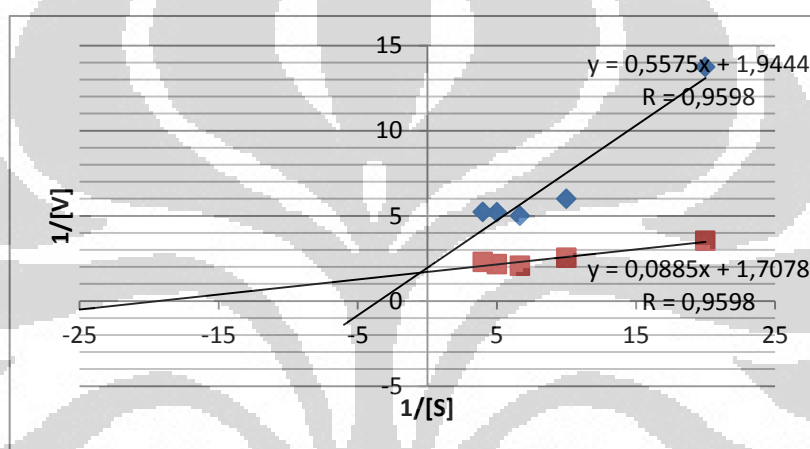
Keterangan :

- Sampel A :** Ekstrak Air Daun Gandarusa 3,0 gram
- Sampel B :** Ekstrak Air Daun Gandarusa 2,1 gram : Kaliks Rosela 0,9 gram
- Sampel C :** Ekstrak Air Daun Gandarusa 1,5 gram : Kaliks Rosela 1,5 gram
- Sampel D :** Ekstrak Air Daun Gandarusa 0,9 gram : Kaliks Rosela 2,1 gram
- Sampel E :** Ekstrak Air Kaliks Rosela 3,0 gram

Gambar 4.8 Nilai IC₅₀ dari Seluruh Ekstrak dan Standard Alopurinol

4.3.7 Uji Kinetika Penghambatan Xantin Oksidase

Analisis kinetika penghambatan xantin oksidase dilakukan menggunakan plot Lineweaver-Burk. Sampel ekstrak yang digunakan adalah ekstrak kental larutan teh celup kombinasi daun gandarusa dan kaliks rosela pada perbandingan 5 : 5, karena memiliki penghambatan yang paling baik dengan IC_{50} terendah dibandingkan dengan ekstrak lainnya. Konsentrasi substrat xantin pada uji kinetika penghambatan xantin oksidase adalah 0,05 ; 0,1 ; 0,15 ; 0,2 ; dan 0,25 mM.



Gambar 4.9 Plot Lineaweaver-Burk ekstrak air daun gandarusa : kaliks rosela (5:5) pada konsentrasi 50 ppm dengan konsentrasi xantin 0,05 ; 0,1 ; 0,15 ; 0,2 dan 0,25 mM (biru)

Pada Gambar 4.7 perpotongan garis regresi linier tanpa inhibitor dan ekstrak uji terletak pada sumbu y, sehingga dapat disimpulkan bahwa jenis kinetika penghambatan ekstrak air daun gandarusa dan kaliks rosela terhadap aktivitas xantin oksidase adalah inhibisi kompetitif. Pada penghambatan jenis ini, inhibitor yang memiliki mekanisme penghambatan kompetitif adalah senyawa yang memiliki struktur menyerupai struktur substrat (Murray et al., 2003).

BAB 5

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

1. Teh herbal daun gandarusa (*Justicia gendarussa* Burm.) memiliki kandungan alkaloida, flavonoid, glikosida dan saponin. Sedangkan, teh herbal kelopak bunga rosela (*Hibiscus sabdariffa* Linn.) mengandung flavonoid, glikosida dan saponin.
2. Nilai IC_{50} ekstrak air daun gandarusa (6,48 μ M) lebih baik dibandingkan IC_{50} ekstrak air kaliks rosela (19,51 μ M). Aktivitas penghambatan xantin oksidase terbaik didapatkan pada teh herbal kombinasi daun gandarusa dan kaliks rosela pada perbandingan 5 : 5, dengan nilai IC_{50} sebesar 4,24 μ M.

5.2 Saran

Untuk lebih memperjelas efek samping dari teh herbal kombinasi daun gandarusa dan kaliks rosela, perlu diadakan penelitian lebih lanjut mengenai uji penghambatan aktivitas enzim xantin oksidase secara *in vivo*. Pengujian toksisitas akut juga perlu dilakukan untuk mengetahui keamanan dari sediaan teh herbal kombinasi yang dibuat.

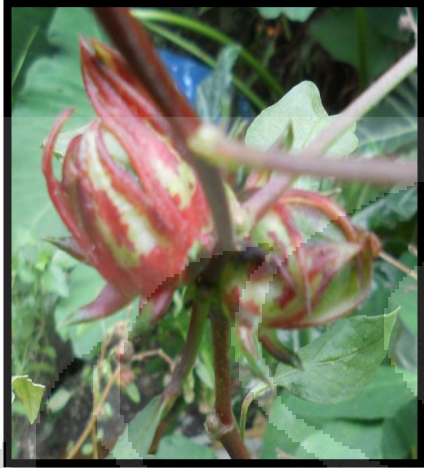
DAFTAR ACUAN

- Anonim. (1959). *The Wealth of India*. New Delhi : CSIR Publications. Hal. 312
- Berg,, Tymoczko, dan Stryer. (2002). *Biochemistry : Fifth Edition*. New York : WH Freeman. Hal. 511
- Berna E., Juheini A., dan Emiyanah. (2010, November). Toksisitas Akut Daun *Justicia gendarussa* Burm., 14, 129 – 134
- Blunden, G., Ali, H.B., dan Wabel, A.N. (2005). Phytochemical, Pharmacological an Toxicological Aspect of *Hibiscus sabdariffa* L. *Phytoter Res* 19 : 369 – 375
- Cameli, R. (2008). Pemeriksaan Kandungan Kimia Ekstrak Etanol Daun Gandarusa (*Justicia gendarussa* Burm.). Depok : Departemen Farmasi Universitas Indonesia
- Chang, Chia-Chi, Yang, Ming-Hua, Wen, Hwei-Mei, dan Chern, Jiing-Chuan. (2002). Estimation of Total Flavonoid Content in Propolis by Two Complementary Colorimetric Methods. *Journal of Food and Drug Analytical*, 10 (3), 178-182
- Correa, Geone M. dan Alcantara C. (2011, November). Chemical Constituents and Biological Activities of Species of *Justicia* – a review. *Rev. Bras. Farmacogn.* Vol. 22 no. 1 Curitiba
- Dalimartha, S. (2008). *Resep Tumbuhan Obat untuk Asam Urat*. Penebar Swadaya. Hal. 3-4
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (1995). *Materia Medika Indonesia Jilid VI*. Jakarta: Direktorat jenderal Pengawasan Obat dan Makanan.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (2002). *Pedoman Pelaksanaan Uji Klinik Obat Tradisional*. Jakarta : Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Hal. 17

- Direktorat Pengawasan Obat Tradisional dan Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan. (1983). *TOGA (Tanaman Obat Keluarga)*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Hal 33
- Ditjen POM. (2000). *Parameter Standard Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Hal 13-36
- Duke, J.A, duCellier, J., Mary J.B., dan K. Duke, P. (2002). *Handbook of Medicinal Herbs, Second Edition*. United States of America : CRC Press LLC
- Esselen, W.B. dan Sammy, G.M. (1975). Roselle : A Natural Red Colorant for Food. *Food Product and Development* 7 : 80 - 82
- Hambali, E., Nasution, M.Z., dan Herliana, E. (2006). *Seri Industri Kecil : Membuat Aneka Herbal Tea*. Jakarta : Penebar Swadaya. Hal 5 – 6
- Handayani, L. (2007). Pil Kontrasepsi Laki-Laki dengan Bahan Dasar Gandarusa (*Justicia gendarussa* Burm.F.). *Majalah Kedokteran Indonesia*, Volume 57, Nomor 8, Agustus 2007.
- Harmita. (2006). *Buku Ajar Analisis Fisikokimia*. Depok : Departemen Farmasi Universitas Indonesia. Hal 15-24
- Heyne, K. Terjemahan oleh Badan Litbang Kehutanan. (1987). *Tumbuhan Berguna Indonesia III*. Jakarta : Yayasan Sarana Wana Jaya. Hal 1759
- Jones, S.B dan Luchsinger, A.E. (1987). *Plant Systematics, Second Edition*. New York : McGraw – Hill Book Company. 477 - 481
- Katrin, B. Elya., Juheini A., dan Iqbal Julian, M. (2011, April). Activity of Ethanolic Extract from *Justicia gendarussa* Burm. Leaves On Decreasing The Uric Acid Plasma, 15, 67 – 70
- Khare, C.P. (2007). *Indian Medicinal Plants : An Illustrated Dictionary*. Springer. 311
- Kumala, P.,Komala S., Santoso, A.H., Sulaiman, J.R dan Rienita, Y. (1998). *Kamus Saku Kedokteran Dorland, edisi 25*. Jakarta : EGC. Hal. 533; 1139

- Mandasari, A. (2009). Pembuatan Teh Herbal Campuran Kelopak Bunga Rosela (*Hibiscus sabdariffa*) dan Herba Seledri (*Apium graveolens*). Depok: Departemen Farmasi Universitas Indonesia
- Miller, S. (1962). *Introduction to Foods and Nutrition*. USA : John Wiley & Sons, Inc. Hal 367 – 368
- Misnadiarly, AS. (2008, Juni). *Mengenal Penyakit Arthritis*. Med!akom, 57
- Muflihat, D.A. (2008). Inhibisi Ekstrak Herba Kumis Kucing dan Daun Salam Terhadap Aktivitas Enzim Xantin Oksidase. Bogor : Departemen Kimia Institut Pertanian Bogor
- Murray, R. (2006). Terjemahan oleh dr. Brahm U. Pedit. *Biokimia Harper edisi 27*. Jakarta: Buku Kedokteran EGC
- Owen, L. Patrick dan Johns, Timothy. (1998). Xantin Oksidase Inhibitory Activity of Northeastern North American Plant Remedies Used for Gout. *Journal of Ethnopharmacology* 64 (1999) 149 – 160
- Prajogo, Bambang E.W., S. Dudy, dan HS. Mulja. (2007). Analisis Kadar Gendarusin A pada Tanaman Budidaya *Justicia gendarussa* Burm. *Jurnal Farmasi Indonesia* Vol. 3 No. 4. 176 - 180
- R, Markham K. (1988). *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*. Penerbit ITB : Bandung. 5-9, 25, 47
- Rantnasooriya, W.D., S.A. Derianyagala dan D.C. Dehigas. (2007). Antinociceptive Activity and Toxicological Study of Aqueous Leaf Extract of *Justicia gendarussa*. *Phcog. Mag.*, 3 : 145 – 155
- Robinson, Trevor. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Penerbit ITB : Bandung. 195
- Susanti, A. (2011). Pengaruh Ekstrak Tempuyung (*Sonchus arvensis*) Terhadap Aktivitas Xantin Oksidase Secara In Vitro Sebagai Dasar Uji Kinetika. Bogor : Departemen Kimia Institut Pertanian Bogor

- Syamsuhidayat, Sri S., Johnny Ria Hutapea. (1991). *Inventaris Tanaman Obat Indonesia*. Jakarta: Departemen Kesehatan, Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan.
- Tim Monografi Vademekum Bahan Obat Alam. (1989). *Vademekum Bahan Obat Alam*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia
- Thomas S.C. Li. (2006). *Taiwanese Native Medicinal Plants : Phytopharmacology and Therapeutic Values*. New York : Taylor and Francis Group
- Umamaheswari, M., Asokkumar K., Subhadradevi, V. Sivashanmugam A.T. (2009). In Vitro Xantine Oxidase Inhibitory Activity of the Fractions of *Erythrina stricta* Roxb. India: Departemen Farmakologi Institut Ilmu Paramedikal Sri Ramakrishna
- Van Hoorn. (2002). Accurate prediction of Xanthine Oxidase Inhibition Based on The Structure of Flavonoids. *European J. Pharm* 451 : 111-118
- Wang, C.J., Wang J.M., dan Lin W.L. (2000). Protective Effect of *Hibiscus anthocyanins* Against tert-butyl-hydroperoxide Induced Hepatic Toxicity in Rats. *Food Chem Toxicol* 38 : 411 - 416
- Wilmana, P. F., dan Sulistia G.G. (2007). Analgesik – Antipiretik, Analgesik – Antiinflamasi Non Steroid dan Obat Pirai. *Farmakologi dan Terapi* (ed. 5). Jakarta : Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, 230 - 246
- Yulianto, D. (2009). Inhibisi Xantin Oksidase Secara In Vitro oleh Ekstrak Rosela (*Hibiscus sabdariffa*) dan Ciplukan (*Physalis angulata*). Bogor : Departemen Kimia Institut Pertanian Bogor

GAMBAR

Gambar 4.10 Tanaman Rosela



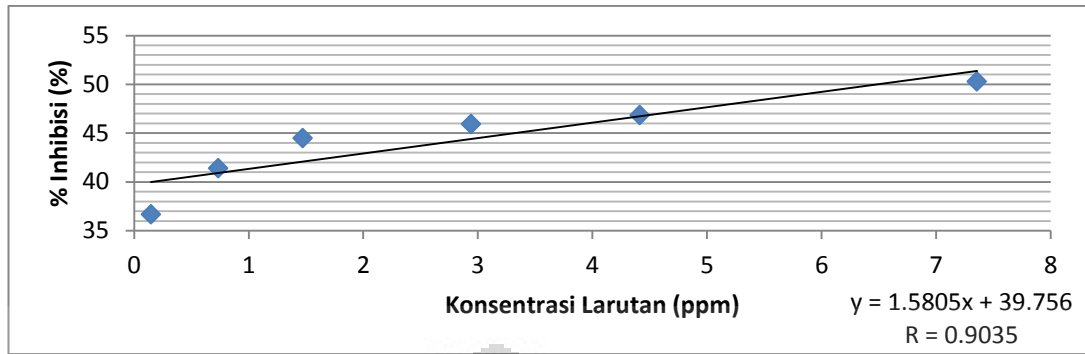
Gambar 4.11 Tanaman Gandarusa



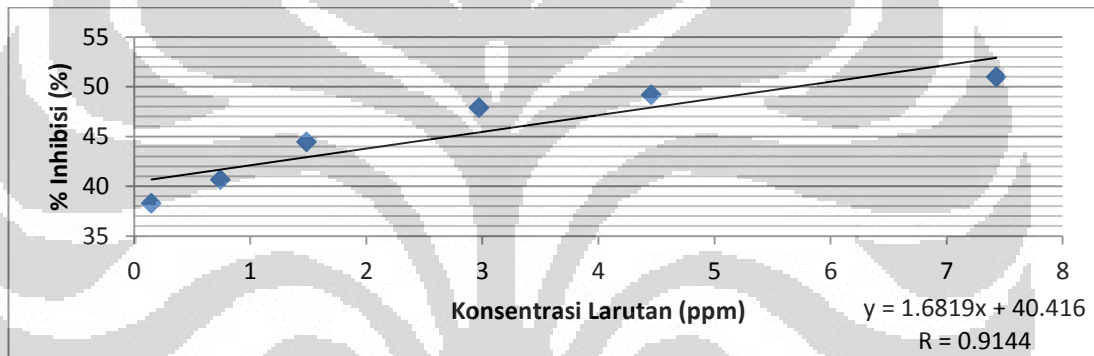
Gambar 4.12 Serbuk Kaliks Rosela



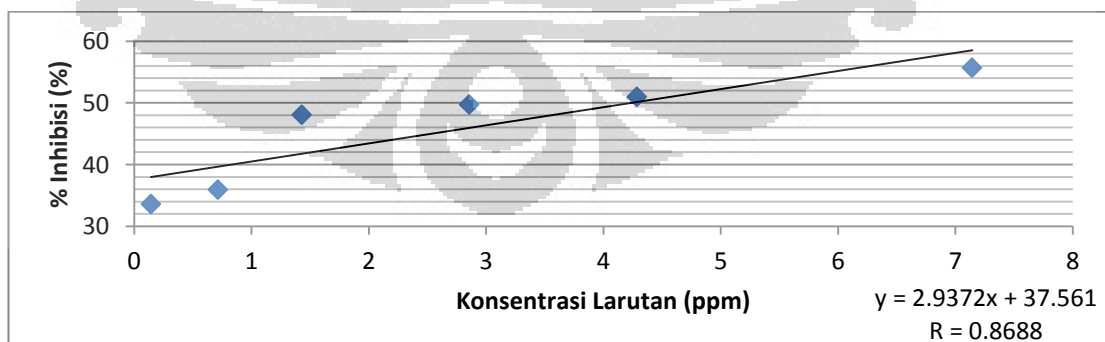
Gambar 4.13 Serbuk Daun Gandarusa



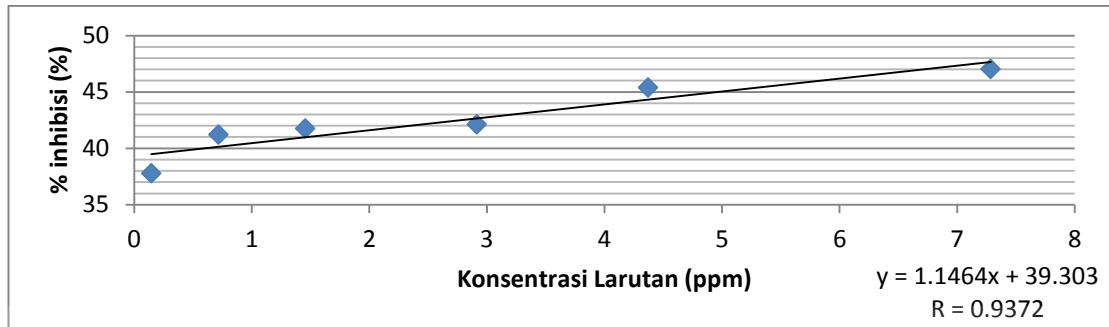
Gambar 4.14 Kurva Linieritas Konsentrasi Larutan terhadap Persen Inhibisi pada Sampel Uji Ekstrak Air Daun Gandarusa 3,0 gram (10:0)



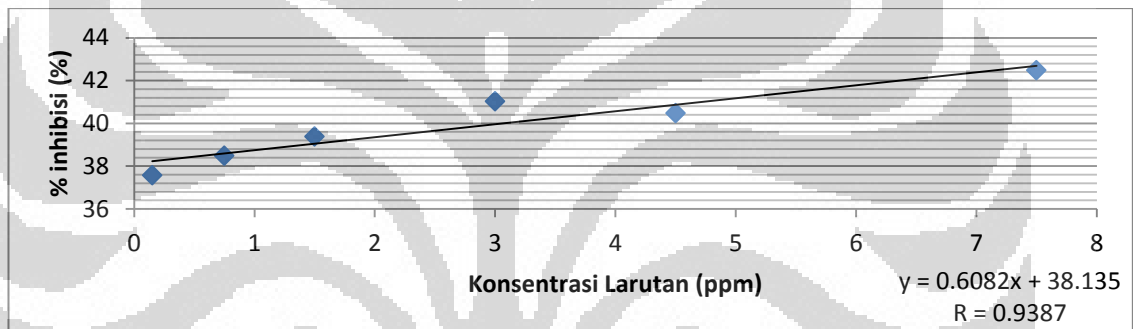
Gambar 4.15 Kurva Linieritas Konsentrasi Larutan terhadap Persen Inhibisi pada Sampel Uji Ekstrak Air Daun Gandarusa 2,1 gram dengan Kaliks Rosela 0,9 gram (7:3)



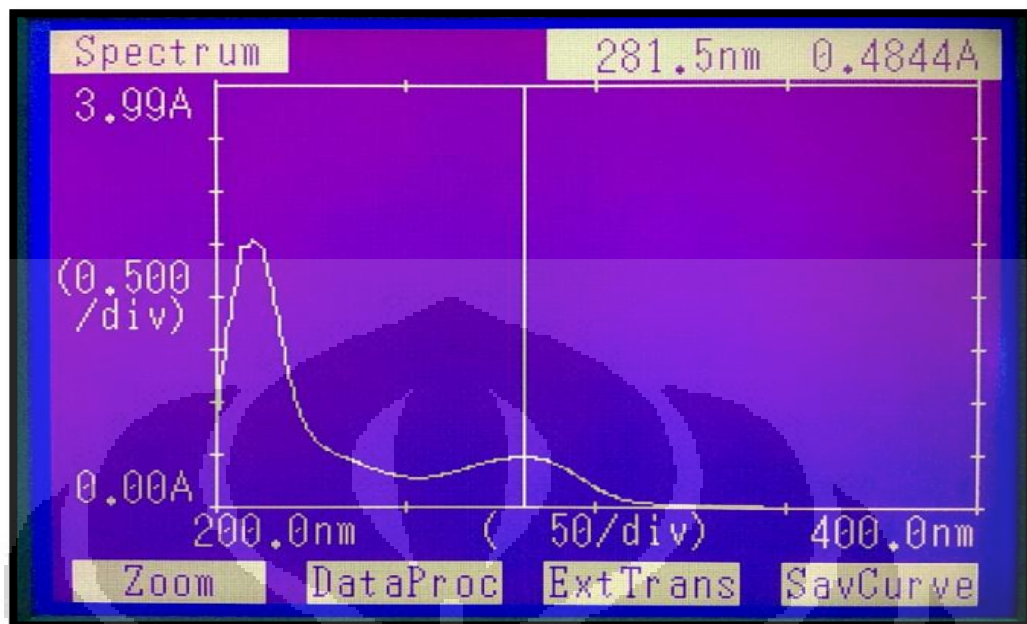
Gambar 4.16 Kurva Linieritas Konsentrasi Larutan terhadap Persen Inhibisi pada Sampel Uji Ekstrak Air Daun Gandarusa 1,5 gram dengan Kaliks Rosela 1,5 gram (5:5)



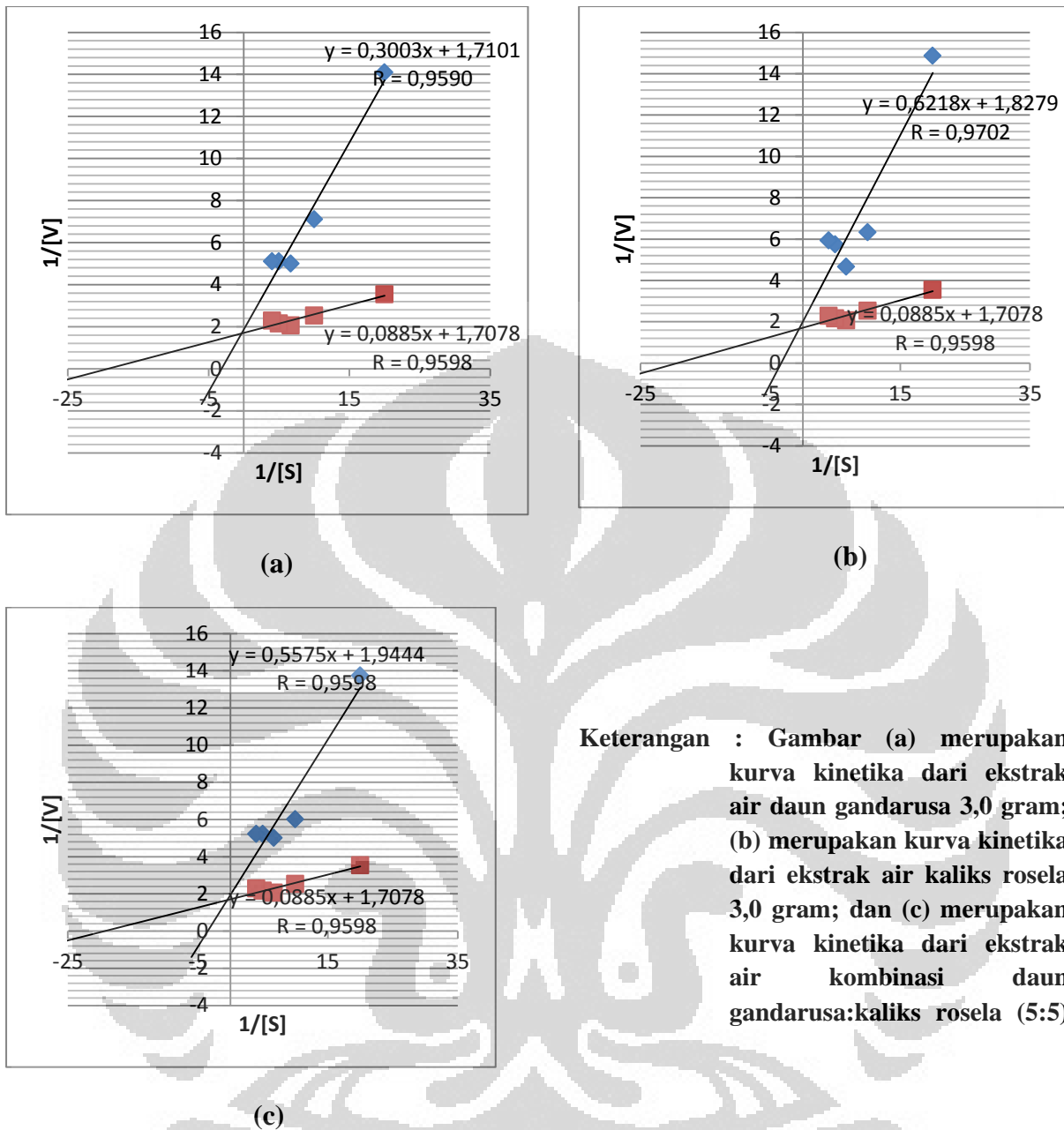
Gambar 4.17 Kurva Linieritas Konsentrasi Larutan terhadap Persen Inhibisi pada Sampel Uji Ekstrak Air Daun Gandarusa 0,9 gram dengan Kaliks Rosela 2,1 gram (3:7)



Gambar 4.18 Kurva Linieritas Konsentrasi Larutan terhadap Persen Inhibisi pada Sampel Uji Ekstrak Air Kaliks Rosela 3,0 gram (0 : 10)



Gambar 4.19 Hasil Optimasi Panjang Gelombang Maksimum untuk Uji Penghambatan Aktivitas Enzim Xantin Oksidase



Gambar 4.20 Kurva Kinetika pada Ekstrak Uji Daun Gandarusa dan Kaliks Rosela dengan Tiga Macam Perbandingan (10 : 0; 5 : 5; dan 0:10)

TABEL

Tabel 4.5 Penyusutan Simplisia Daun Gandarusa

Nomor	Berat Simplisia Basah (gram)	Berat Simplisia Kering (gram)	Kadar (%)
1	380	140	63,16
2	285	106	62,81
3	470	175	62,77
Rata-Rata Kadar (%)			62,91

1

Tabel 4.6 Penyusutan Simplisia Kaliks Rosela

Nomor	Berat Simplisia Basah (gram)	Berat Simplisia Kering (gram)	Kadar (%)
1	862	306	64,50
2	454	154	66,08
3	205	73	64,39
Rata-Rata Kadar (%)			64,99

Tabel 4.7 Kadar Air Daun Gandarusa

Nomor	Berat Simplisia Awal (gram)	Berat Simplisia Akhir (gram)	Kadar (%)
1	3.06	2.7852	8.98
2	3.0579	2.7797	9.1
3	3.055	2.7753	9.16
Rata-Rata Kadar Air Daun Gandarusa (%)			9.08

Tabel 4.8 Kadar Air Kaliks Rosela

Nomor	Berat Simplisia Awal (gram)	Berat Simplisia Akhir (gram)	Kadar (%)
1	3.03	2.7506	9.13
2	3.01	2.7158	9.92
3	3.0296	2.724	10.09
Rata-Rata Kadar Air Kaliks Rosela (%)			9.71

Tabel 4.9 Kadar Abu Total Daun Gandarusa

Nomor	Berat Simplisia Awal (gram)	Berat Abu Total Akhir (gram)	Kadar (%)
1	2,04	0,0847	4,15
2	2,25	0,1077	4,79
3	2,12	0,0886	4,18
Rata-Rata Kadar Abu Total Daun Gandarusa (%)			4,37

Tabel 4.10 Kadar Abu Total Kaliks Rosela

Nomor	Berat Simplisia Awal (gram)	Berat Abu Total Akhir (gram)	Kadar (%)
1	2,18	0,0807	3,70
2	2,12	0,0788	3,72
3	2,05	0,0692	3,38
Rata-Rata Kadar Abu Total Kaliks Rosela (%)			3,60

Tabel 4.11 Kadar Abu Tak Larut Asam Daun Gandarusa

Nomor	Berat Simplisia Awal (gram)	Berat Abu Akhir (gram)	Kadar (%)
1	2,04	0,0129	0,63
2	2,25	0,0150	0,67
3	2,12	0,0154	0,73
Rata-Rata Kadar Abu Tak Larut dalam Asam Daun Gandarusa (%)			0,68

Tabel 4.12 Kadar Abu Tak Larut Asam Kaliks Rosela

Nomor	Berat Abu Awal (gram)	Berat Abu Akhir (gram)	Kadar (%)
1	2,18	0,0064	0,29
2	2,12	0,0061	0,29
3	2,05	0,0063	0,31
Rata-Rata Kadar Abu Tak Larut dalam Asam Kaliks Rosela (%)			0,30

Tabel 4.13 Kadar Sari yang Terlarut dalam Air Daun Gandarusa

Nomor	Berat Ekstrak Awal (gram)	Berat Ekstrak Akhir (gram)	Kadar (%)
1	0,2845	0,1086	61,83
2	0,2572	0,0860	66,56
3	0,2550	0,0924	63,76
Rata-Rata Kadar Sari yang Terlarut dalam Air (%)			64,05

Tabel 4.14 Kadar Sari yang Terlarut dalam Air Kaliks Rosela

Nomor	Berat Ekstrak Awal (gram)	Berat Ekstrak Akhir (gram)	Kadar (%)
1	0,5232	0,3349	35,99
2	0,5217	0,3465	33,58
3	0,5289	0,3469	34,41
Rata-Rata Kadar Sari yang Terlarut dalam Air (%)			34,66

Tabel 4.15 Kadar Sari yang Terlarut dalam Etanol Daun Gandarusa

Nomor	Berat Ekstrak Awal (gram)	Berat Ekstrak Akhir (gram)	Kadar (%)
1	0,2125	0,1185	44,24
2	0,2007	0,1133	43,55
3	0,2082	0,1132	45,63
Rata-Rata Kadar Sari yang Terlarut dalam Etanol (%)			44,47

Tabel 4.16 Kadar Sari yang Terlarut dalam Etanol Kaliks Rosela

Nomor	Berat Ekstrak Awal (gram)	Berat Ekstrak Akhir (gram)	Kadar (%)
1	0,3497	0,2061	41,06
2	0,3244	0,1875	42,20
3	0,3390	0,1952	42,42
Rata-Rata Kadar Sari yang Terlarut dalam Etanol (%)			41,89

Tabel 4.17 Persamaan Regresi Linier Standard Kuersetin untuk Perhitungan Penetapan Kadar Flavonoid

Nomor	Konsentrasi Larutan (ppm)	Serapan (y) $\lambda = 415,0$ nm
1	20	0.232
2	30	0.345
3	50	0.395
4	70	0.441
5	80	0.505

Tabel 4.18 Penetapan Kadar Flavonoid pada Sampel Uji Daun Gandarusa dan Kaliks Rosela

Nomor		10 : 0	7 : 3	5 : 5	3 : 7	0:10
1	Berat Ekstrak yang Ditimbang (mg)	200	211	204	200	197
2	Konsentrasi Larutan Uji (ppm)	4000	4220	4080	4000	3940
3	Serapan yang Diperoleh pada λ 415,0 nm	0,365	0,324	0,309	0,288	0,262
4	% Kadar Flavonoid (%)	1,13	0,82	0,76	0,64	0,48

Keterangan Perbandingan :

1. 10 : 0 = Daun gandarusa 3,0 gram
2. 7 : 3 = Daun gandarusa 2,1 gram : Kaliks rosela 0,9 gram
3. 5 : 5 = Daun gandarusa 1,5 gram : Kaliks rosela 1,5 gram
4. 3 : 7 = Daun gandarusa 0,9 gram : Kaliks rosela 2,1 gram
5. 0 : 10 = Kaliks rosela 3,0 gram

Tabel 4.19 Data Optimasi Suhu Optimum

Suhu	Absorbansi		
	Blangko	Kontrol blangko	B-KB
20°C	0,3432	0,0863	0,2569
25°C	0,5120	0,0864	0,4256
30°C	0,5753	0,0863	0,4890
35°C	0,2131	0,0865	0,1266
40°C	0,1840	0,0858	0,0982

Tabel 4.20 Data Optimasi pH Optimum

pH	Absorbansi		
	Blangko	Kontrol blangko	B-KB
7,0	0,3438	0,0812	0,2626
7,2	0,3848	0,0814	0,3034
7,5	0,3909	0,0822	0,3087
7,8	0,4879	0,0825	0,4054
8,0	0,4031	0,0814	0,3217

Tabel 4.21 Data Optimasi Konsentrasi Substrat Optimum

Kons.substrat	Absorbansi		
	Blangko	Kontrol blangko	B-KB
0,05	0,2109	0,079	0,132
0,1	0,3170	0,093	0,224
0,15	0,3678	0,102	0,266
0,20	0,3528	0,105	0,248
0,25	0,3505	0,114	0,237

Tabel 4.22 Uji Penghambatan Aktivitas Enzim Xantin Oksidase pada Standard Alopurinol

Konsentrasi $\mu\text{g/mL}$ (konsentrasi dalam labu)	Serapan (A)				% Inhibisi (%)	IC ₅₀
	Kons.akhir	Kontrol Standar	Standar	Standard – Kontrol Standard		
0,1	0,014	0,022	0,3334	0,3114	43,485	
0,2	0,029	0,024	0,2756	0,2516	54,337	
0,5	0,071	0,028	0,1694	0,1414	74,337	0,0205
1,0	0,143	0,034	0,1043	0,0703	93,411	
Blanko – Kontrol Blanko			0,551			

Tabel 4.23 Nilai Persen Inhibisi dan IC₅₀ pada Ekstrak Air Daun Gandarusa 3,0 gram

Berat ekstrak yang ditimbang = 10,3 mg

$$\text{Konsentrasi larutan induk} = \frac{10,3 \text{ mg}}{10,0 \text{ ml}} = 1030 \text{ ppm}$$

x (ppm)	x (tabung reaksi)	y' (sampel)	y (kontrol sampel)	% Inhibisi (%)	IC 50
1,03	0,1471	0,379	0,030	36,66	
5,15	0,7357	0,355	0,032	41,38	
10,3	1,4714	0,350	0,044	44,46	6,48
20,6	2,9429	0,346	0,048	45,92	
30,9	4,4143	0,346	0,053	46,82	
51,5	7,3571	0,343	0,069	50,27	
Blanko – Kontrol Blanko			0,550		

Tabel 4.24 Nilai Persen Inhibisi dan IC₅₀ pada Ekstrak Air Daun Gandarusa 2,1 gram dan Kaliks Rosela 0,9 gram

Berat ekstrak yang ditimbang = 10,4 mg

$$\text{Konsentrasi larutan induk} = \frac{10,4 \text{ mg}}{10,0 \text{ ml}} = 1040 \text{ ppm}$$

x (ppm)	x (tabung reaksi)	y' (sampel)	y (kontrol sampel)	% Inhibisi (%)	IC 50
1,04	0,1486	0,365	0,025	38,29	
5,2	0,7429	0,363	0,036	40,65	
10,4	1,4857	0,362	0,056	44,46	5,70
20,8	2,9714	0,344	0,057	47,91	
31,2	4,4571	0,339	0,059	49,18	
52	7,4286	0,333	0,063	50,99	
Blanko – Kontrol Blanko			0,540		

Tabel 4.25 Nilai Persen Inhibisi dan IC₅₀ pada Ekstrak Air Daun Gandarusa 1,5 gram dan Kaliks Rosela 1,5 gram

Berat ekstrak yang ditimbang = 10,0 mg

$$\text{Konsentrasi larutan induk} = \frac{10,0 \text{ mg}}{10,0 \text{ ml}} = 1000 \text{ ppm}$$

x (ppm)	x (tabung reaksi)	y' (sampel)	y (kontrol sampel)	% Inhibisi (%)	IC 50
1	0,143	0,390	0,024	33,58	
5	0,714	0,387	0,034	35,93	
10	1,429	0,330	0,044	48,09	4,24
20	2,857	0,328	0,051	49,73	
30	4,286	0,322	0,052	50,99	
50	7,143	0,311	0,067	55,72	
Blanko – Kontrol Blanko			0,556		

Tabel 4.26 Nilai Persen Inhibisi dan IC₅₀ pada Ekstrak Air Daun Gandarusa 0,9 gram dan Kaliks Rosela 2,1 gram

Berat ekstrak yang ditimbang = 10,2 mg

$$\text{Konsentrasi larutan induk} = \frac{10,2 \text{ mg}}{10,0 \text{ ml}} = 1020 \text{ ppm}$$

x (ppm)	x' (tabung reaksi)	y' (sampel)	y (kontrol sampel)	% Inhibisi (%)	IC 50
1,02	0,1457	0,368	0,025	37,75	
5,1	0,7171	0,360	0,036	41,20	
10,2	1,4571	0,359	0,038	41,74	9,33
20,4	2,9143	0,358	0,039	42,11	
30,6	4,3714	0,339	0,038	45,37	
51	7,2857	0,331	0,039	47,01	
Blanko – Kontrol Blanko			0,561		

Tabel 4.27 Nilai Persen Inhibisi dan IC₅₀ pada Ekstrak Air Kaliks Rosela 3,0 gram

Berat ekstrak yang ditimbang = 10,5 mg

$$\text{Konsentrasi larutan induk} = \frac{10,5 \text{ mg}}{10,0 \text{ ml}} = 1050 \text{ ppm}$$

x (ppm)	x' (tabung reaksi)	y' (sampel)	y (kontrol sampel)	% Inhibisi (%)	IC 50
1,05	0,15	0,367	0,023	37,57	
5,25	0,75	0,379	0,040	38,48	
10,5	1,5	0,373	0,039	39,38	19,51
21,0	3,0	0,366	0,041	41,02	
31,5	4,5	0,371	0,043	40,47	
52,5	7,5	0,362	0,045	42,47	
Blanko – Kontrol Blanko			0,539		

Tabel 4.28 Hasil Uji Kinetika Ekstrak Air Daun Gandarusa 3,0 gram

Konsentrasi xantin (S)	Serapan						Km	Vm
	Blanko (B)	Kontrol Blanko (KB)	B-KB	1/S	1/V			
0,05 mM	0,1455	0,0746	0,0709	20	14,0981	0,176	0,585	
0,1 mM	0,2413	0,1007	0,1406	10	7,112			
0,15 mM	0,3402	0,1403	0,1999	6,6667	5,001			
0,2 mM	0,3865	0,1906	0,1959	5	5,1054			
0,25 mM	0,3538	0,1582	0,1956	4	5,1113			

Tabel 4.29 Hasil Uji Kinetika Ekstrak Air Kaliks Rosela 3,0 gram

Konsentrasi xantin	Blanko (B)	Kontrol		1/S	1/V	Km	Vm
		Blanko (KB)	B-KB				
0,05 mM	0,1138	0,0465	0,0673	20	14,8619	0,340	0,5471
0,1 mM	0,2308	0,0729	0,1579	10	6,3314		
0,15 mM	0,3270	0,1125	0,2145	6,6667	4,6622		
0,2 mM	0,3399	0,1658	0,1741	5	5,7431		
0,25 mM	0,3007	0,1322	0,1685	4	5,9348		

Tabel 4.30 Hasil Uji Kinetika Ekstrak Air Teh Celup Kombinasi Daun Gandarusa : Kaliks Rosela (5:5)

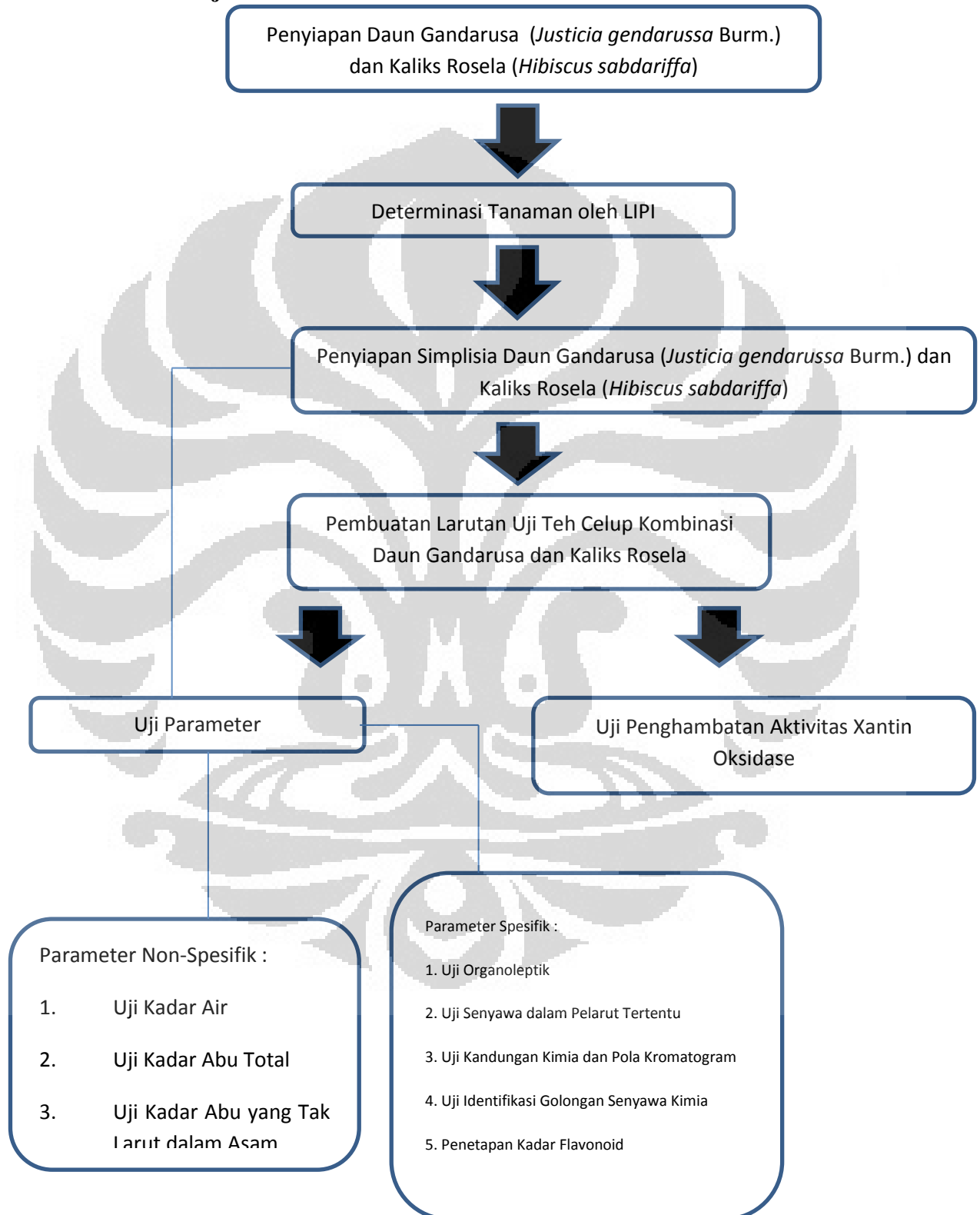
Konsentrasi xantin (S)	Serapan		1/S	1/V	Km	Vm	
	Blanko (B)	Kontrol Blanko (KB)					B-KB
0,05 mM	0,1241	0,0513	0,0728	20	13,7421	0,287	0,514
0,1 mM	0,2472	0,0806	0,166	10	6,0032		
0,15 mM	0,3147	0,1149	0,1998	6,6667	5,0042		
0,2 mM	0,3579	0,1660	0,1919	5	5,2109		
0,25 mM	0,3325	0,1410	0,1915	4	5,2200		

Tabel 4.31 Hasil Uji Kinetika Non-Inhibitor

Konsentrasi xantin (S)	Serapan			1/S	1/V	Km	Vm
	Blanko (B)	Kontrol Blanko (KB)	B-KB				
0,05 mM	0,3078	0,0251	0,2827	20	3,5373	0,052	0,5855
0,1 mM	0,4750	0,0804	0,3946	10	2,5342		
0,15 mM	0,5079	0,0230	0,4849	6,6667	2,0623		
0,2 mM	0,5298	0,0666	0,4632	5	2,1589		
0,25 mM	0,6453	0,2078	0,4375	4	2,2857		

LAMPIRAN

1. Skema Kerja Penelitian



2. Perhitungan Penetapan Kadar Flavonoid pada Teh Celup Daun Gandarusa

Diketahui : 1. Persamaan regresi linier standar kuersetin pada λ 415,0 nm adalah

$$y = 0,1892 + 3,888 \times 10^{-3}x$$

2. Serapan sampel uji ekstrak air daun gandarusa = 0,365

3. Bobot ekstrak uji yang ditimbang = 200 mg = 0,2 gram

Perhitungan :

$$\text{Konsentrasi larutan ekstrak} = \frac{0,2 \text{ gram}}{5,0 \text{ ml}} \xrightarrow[\text{0,5 ml}]{\text{Pipet}} \frac{0,5 \text{ ml}}{5,0 \text{ ml}} \times 0,2 \text{ gram} = 0,02 \text{ gram}$$

$$\rightarrow \frac{0,02 \text{ gram}}{0,5 \text{ ml}}$$

+ 1,5 ml Metanol

+ 0,1 ml AlCl_3 10%

+ 0,1 ml Na-asetat

+ 2,8 ml aquadest

$$\frac{0,02 \text{ gram}}{0,5 \text{ ml} + 4,5 \text{ ml}} = \frac{0,02 \text{ gram}}{5,0 \text{ ml}}$$

$$= 0,004 \frac{\text{gram}}{\text{ml}} \sim 4000 \frac{\mu\text{g}}{\text{ml}} \sim 4000 \text{ ppm}$$

Pada λ 415,0 nm, didapat serapan sampel 0,365, maka :


$$y = 0,1892 + 0,00388x$$

$$0,365 = 0,1892 + 0,00388x$$

$$x = \frac{0,1758}{0,00388} = 45,216 \text{ ppm}$$

$$\rightarrow \% \text{ Kadar flavonoid terhadap kuersetin} = \frac{45,216 \text{ ppm}}{4000 \text{ ppm}} \times 100\% = 1,13$$

3. Determinasi Tanaman Gandarusa oleh LIPI, Bogor



LEMBAGA ILMU PENGETAHUAN INDONESIA
(Indonesian Institute of Sciences)
PUSAT PENELITIAN BIOLOGI
(Research Center for Biology)

Jl. Raya Jakarta - Bogor Km. 46 Cibinong 16811, Indonesia P.O Box 25 Cibinong
Telp. (021) 87907636 - 87907604 Fax. 87907612

Cibinong, 27 Februari 2012

Nomor : 246 /IPH.1.02/H.8/II/2012
Lampiran : -
Perihal : Hasil identifikasi/determinasi Tumbuhan


Kepada Yth.
Bpk./Ibu/Sdr(l).Kurniawan Adi Saputra
Mhs. Univ. Indonesia
Jakarta


Dengan hormat,

Bersama ini kami sampaikan hasil identifikasi/determinasi tumbuhan yang Saudara kirimkan ke "Herbarium Bogoriense", Bidang Botani Pusat Penelitian Biologi-LIPI Bogor, adalah sebagai berikut :

No.	No. Kol.	Jenis	Suku
1	Dusun Gandarusa	<i>Gendarussa vulgaris</i> Nees	Acanthaceae

Demikian, semoga berguna bagi Saudara.

Kepala Bidang Botani
Pusat Penelitian Biologi-LIPI,

Dr. Joeni Setijce Rahaine
NIP. 196706241993032004



Page 1 of 1

D:\Ident 2012\Kurniawan Adi Saputra.doc\Wandi-DG

4. Determinasi Tanaman Rosela oleh LIPI, Bogor



LEMBAGA ILMU PENGETAHUAN INDONESIA
 (Indonesian Institute of Sciences)
PUSAT PENELITIAN BIOLOGI
 (Research Center for Biology)
 Jl. Raya Jakarta - Bogor Km. 46 Cibinong 16911, Indonesia P.O Box 25 Cibinong
 Telp. (021) 87907638 - 87907604 Fax. 87907612

Cibinong, 18 April 2012

Nomor : 604/IPH.L.02/ILB/IV/2012
 Lampiran : -
 Perihal : Hasil identifikasi/determinasi Tumbuhan

Kepada Yth.
 Bpk./Ibu/Sdr(i). Kurniawan Adi Saputra
 Mhs. Univ. Indonesia

Dengan hormat,

Bersama ini kami sampaikan hasil identifikasi/determinasi tumbuhan yang Saudara kirimkan ke "Herbarium Bogoriense", Bidang Botani Pusat Penelitian Biologi-LIPI Bogor, adalah sebagai berikut :

No.	No. Kol.	Jenis	Suku
1	Rosela	<i>Hibiscus sabdariffa</i> L.	Malvaceae

Demikian, semoga berguna bagi Saudara.


 Kepala Bidang Botani
 Pusat Penelitian Biologi-LIPI,
 Dr. Soeni Setijoe Rahajoe
 NIP. 19670624-1993032004

D:\ident 2012\Kurniawan Adi S. doc\Yayah-DG

Page 1 of 1

5. Sertifikasi Analisis Xantin


SIGMA-ALDRICH® sigma-aldrich.com

3050 Spruce Street, Saint Louis, MO 63103, USA
 Website: www.sigmaaldrich.com
 Email USA: techserv@sial.com
 Outside USA: eurtechserv@sial.com

Certificate of Analysis

Product Name:
Xanthine - BioUltra, ≥99%

Product Number: X4002
 Lot Number: 077K53071V
 Brand: SIGMA
 CAS Number: 69-89-6
 MDL Number: MFCD00078453
 Formula: C₅H₄N₄O₂
 Formula Weight: 152.11 g/mol
 Quality Release Date: 25 NOV 2008
 Date Retested: 01 JUN 2011
 Recommended Retest Date: JUN 2015



Test	Specification	Result
Appearance (Color)	White to Light Yellow	White
Appearance (Form)	Powder	Powder
Solubility (Color)	Colorless to Light Yellow	Colorless
Solubility (Turbidity)	Clear	Clear
0.1 M solution in 1 M NaOH		
Residue on Ignition	Pass	Pass
< or = 0.1%		
Aluminum (Al)	Pass	Pass
< or = 0.0005%		
Phosphorus (P)	Pass	Pass
< or = 0.0005%		
Lead (Pb)	Pass	Pass
< or = 0.001%		
Calcium (Ca)	Pass	Pass
< or = 0.0005%		
Magnesium (Mg)	Pass	Pass
< or = 0.0005%		
Sodium (Na)	Pass	Pass
< or = 0.005%		
Iron (Fe)	Pass	Pass
< or = 0.0005%		
Copper (Cu)	Pass	Pass
< or = 0.0005%		

Sigma-Aldrich warrants, that at the time of the quality release or subsequent retest date this product conformed to the information contained in this publication. The current Specification sheet may be available at Sigma-Aldrich.com. For further inquiries, please contact Technical Service. Purchaser must determine the suitability of the product for its particular use. See reverse side of invoice or packing slip for additional terms and conditions of sale.

Product Number: X4376
Lot Number: 110M7023
Brand: SIGMA
CAS Number: 9002-17-9
MDL Number: MFCD00082145
Storage Temperature: Store at 2 - 8 °C
Quality Release Date: 21 DEC 2010
Recommended Retest Date: DEC 2012

Test	Specification	Result
Protein by Biuret	10.0 - 25.0 %	14.1 %
units/mg protein	0.4 - 1.0	0.8
One unit will convert 1.0 micromole of xanthine to uric acid per minute at pH 7.5 at 25 deg C		
Activity	≤ 0.2 %	0.2 %
Uricase		
Recommended Retest Period		
2 years		



Rodney Burbach, Manager
Analytical Services
St. Louis, Missouri US

6. Sertifikasi Analisis Enzim Xantin Oksidase

SIGMA-ALDRICH sigma-aldrich.com

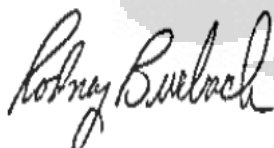
3050 Spruce Street, Saint Louis, MO 63103, USA
 Website: www.sigmaaldrich.com
 Email USA: techserv@sial.com
 Outside USA: eurtechserv@sial.com

Certificate of Analysis

Product Name: XANTHINE OXIDASE FROM BOVINE MILK

Product Number: X4376
 Lot Number: 110M7023
 Brand: SIGMA
 CAS Number: 9002-17-9
 MDL Number: MFCD00082145
 Storage Temperature: Store at 2 - 8 °C
 Quality Release Date: 21 DEC 2010
 Recommended Retest Date: DEC 2012

Test	Specification	Result
Protein by Biuret	10.0 - 25.0 %	14.1 %
units/mg protein	0.4 - 1.0	0.8
<small>One unit will convert 1.0 micromole of xanthine to uric acid per minute at pH 7.5 at 25 deg C</small>		
Activity	≤ 0.2 %	0.2 %
<small>Uricase</small>		
Recommended Retest Period		
2 years		



Rodney Burbach, Manager
 Analytical Services
 St. Louis, Missouri US

7. Sertifikasi Analisis Alopurinol

kimia farma

Plant Bandung

LAPORAN ANALISA BAHAN BAKU

Nama Bahan Baku : ALLOPURINOLUM	No. Batch : :20110304 Exp. Date : :24-03-2015	Kode Dok. : : FQC-01-0022/00 Tgl. Beraku : : 26 Juli 2010
Kode Bahan : :3012010 Origin : :Nanjing - China No. LA : :B110626 No.SP : :P113161	Supplier : :PT Parit Padang Tgl. Sampling : :23-06-2011 Tgl. Selesai : :12-07-2011	Jumlah : :325 Kg Pemeriksa : :Bambang No. BTBS : :B110626

No.	PEMERIKSAAN	SPEKIFIKASI	HASIL
1	Pemerian (R)	Serbuk hablur warna putih hingga hampir putih, berbau lemah	Serbuk hablur warna putih, berbau lemah.
2	Kelarutan	Sangat sukar larut dalam air dan etanol, larut dalam kalium dan natrium hidroksida, praktis tidak larut dalam kloroform dan eter	Sesuai
3	Identifikasi (R)	a. Terbentuk endapan kuning. b. Serapan maksimum pd panjang gelombang 250 nm \pm 1,1	Sesuai
4	Kejernihan dan warna larutan	Larutan jernih, warna tidak lebih kuat dari larutan perbandingan Y_4 atau GY_4	Sesuai
5	Susut penguapan (R)	Tidak lebih dari 0,5%	0,01%
6	Kadar abu sulfat	Tidak lebih dari 0,1%	0,05%
7	Logam berat	Tidak lebih dari 20 ppb	Sesuai
8	Kadar dihitung terhadap zat anhidrat (R)	Antara 98,0% dan 101,0%	100,21%

Pustaka : BP 1993, USP 32

Kesimpulan : Memenuhi Syarat

Bandung, 13 Juli 2011

Penanggung Jawab :
MPM
[Signature]
(Dra. Tein Supriamah)

AMPM
[Signature]
(Dra. Endang Widiastuti)

R. Pajajaran No. 29 -31
Bandung-40131
Halimart 1 Bldg. 1
Indonesia
Telp. (022) 4204043, 4204044
Fax. (022) 4237079
http://pjbptg.com/indonesi

