

UJI AKTIVITAS PENGHAMBATAN XANTIN OKSIDASE OLEH EKSTRAK ETANOL, PARTISI (KLOOROFORM DAN METANOL) DAUN KUMIS KUCING (*Orthosiphon stamineus* Benth)

Yuvinda Devi Erviani¹, Wirasti², Slamet³, Khusna Santika Rahmasari⁴

Program Studi Sarjana Farmasi Fakultas Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Pekajangan Pekalongan

e-mail: ¹ervianiyuvinda@gmail.com, ²wirasti.kharis@gmail.com, ³Slamet93ffua@gmail.com,
⁴khusnasantika@gmail.com

ABSTRAK

Daun kumis kucing (*Orthosiphon stamineus* Benth) merupakan salah satu bagian tanaman yang dapat tumbuh dengan baik ditempat yang banyak terpapar sinar matahari. Tanaman ini memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder yaitu flavanoid, alkaloid, saponin, steroid dan terpenoid. Senyawa tersebut memiliki fungsi mampu menghambat enzim xantin oksidase yang berkaitan dengan penyakit gout. Tujuan dari penelitian ini yaitu mengetahui pengaruh aktivitas penghambatan enzim xantine oksidase oleh ekstrak etanol, partisi (kloroform & metanol) daun kumis kucing (*Orthosiphon stamineus* Benth). Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental, menggunakan metode reaksi penghambatan xantin oksidase oleh ekstrak etanol, partisi (kloroform & metanol) yang diukur absorbansinya dengan spektrofotometri UV- Vis dan dibandingkan dengan kontrol positif yaitu allopurinol. Hasil uji penghambatan xantin oksidase yang diperoleh pada penelitian ini adalah ekstrak etanol 50 µg/mL (40,22%) 100 µg/mL (52,76%), partisi metanol konsentrasi 50 µg/mL (27,30%) 100 µg/mL (43,91%), partisi kloroform 50 µg/mL (20,66%) 100 µg/mL (41,69%) dan allopurinol konsentrasi 5 µg/mL (40,95%) 10 µg/mL (80,81%). Data penghambatan enzim xantin oksidase dianalisis menggunakan One Way ANOVA dengan nilai signifikan 0,000 dan dilanjutkan uji tukey dengan nilai uji penghambatan partisi metanol 100 ppm mempunyai aktivitas yang sama dengan 5 ppm allopurinol. Sehingga dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol, partisi kloroform dan partisi metanol daun kumis kucing dapat menghambat xantin oksidase.

Kata Kunci : Daun Kumis Kucing, Xantin Oksidase, Spektrofotometri uv-vis.

ABSTRACT

Cat's Whisker Leaf (*Orthosiphon stamineus* Benth) is one part of the plant that can grow well in places that are exposed to a lot of sunlight. This plant contains secondary metabolites, namely flavonoids, alkaloids, saponins, steroids, and terpenoids. These compounds have the function of being able to inhibit the xanthine oxidase enzyme associated with gout. It aims to determine the effect of xanthine oxidase inhibitory activity by ethanol extract, partition (chloroform & methanol) of cat whiskers (*Orthosiphon stamineus* Benth) leaves. Since it is experimental study, it used xanthine oxidase inhibition reaction method by ethanol extract, partition (chloroform & methanol) whose absorbance was measured by UV-Vis spectrophotometry and compared with the positive control, namely allopurinol. The results of the xanthine oxidase inhibition test obtained in this study were ethanol extract 50 g/mL (40.22%) 100 g/mL (52.76%), methanol partition concentration of 50 g/mL (27.30%) 100 g/ mL (43.91%), chloroform partition 50 g/mL (20.66%) 100 g/mL (41.69%) and allopurinol concentration 5 g/mL (40.95%) 10 g/mL (80, 81%). Data on the inhibition of the xanthine oxidase enzyme were analyzed using One Way ANOVA with a significant value of 0.000 and continued with the Tukey test with a test value of 100 ppm methanol partitioning inhibition having the same activity as 5 ppm allopurinol. So it can be concluded that ethanol extract, chloroform partitioning and methanol partitioning of cat whiskers leaves can inhibit xanthine oxidase.

Keywords: cat whiskers leaves, xantin oksidase, spektrofotometri uv-vis

PENDAHULUAN

Daun kumis kucing (*Orthosiphon stamineus* Benth) merupakan salah satu bagian tanaman yang dapat tumbuh dengan baik ditempat yang banyak terpapar sinar matahari. Daun kumis kucing dipercaya oleh masyarakat sebagai jamu atau fitoterapi saat terjadi peningkatan kadar asam urat dalam

darah. Daun kumis kucing memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder yaitu flavanoid, alkaloid, saponin, steroid dan terpenoid. Xantin oksidase merupakan enzim yang berperan dalam mengkatalisis oksidase hipoxantin menjadi xantin dan asam urat. Metabolit sekunder yang dapat menghambat xantin oksidase yaitu flavanoid [1]. Penyakit asam urat sering terjadi pada laki-laki, dari masa akil balig sampai usia 40-50 tahun, pada sebagian perempuan, presentase asam urat diawali ketika siklus berakhirnya menstruasi. Kejadian meningkatnya kadar asam urat pada negara maju ataupun negara berkembang semakin tinggi dengan bertambahnya usia seseorang [2]. Semua ini dapat terjadi dikarenakan pada laki-laki tidak mempunyai hormon estrogen yang bisa mengurangi ekskresi asam urat tetapi pada perempuan mempunyai hormon estrogen yang dapat mengurangi ekskresi asam urat melalui buang air kecil [3]. Obat asam urat terdiri dari obat kimia dan tradisional salah satunya yang termasuk dalam obat tradisional yaitu daun kumis kucing. Asam urat adalah hasil akhir dari pengolahan purin. Asam urat yang menyebar dalam tubuh seseorang diproses sendiri oleh tubuh (asam urat endogen) serta juga didapatkan dari makanan (asam urat eksogen). Asam urat terutama diekskresikan melalui ginjal, dimana akan terfiltrasi keseluruhan di glomerulus, direabsorpsi di tubulus proksimal, lalu diekskresikan dan akhirnya direabsorpsi kembali sebagian sekitar 10 % akan diekskresikan [4]. Penelitian ini bertujuan untuk Mengetahui pengaruh aktivitas penghambatan xantine oksidase pada ekstrak etanol, partisi (kloroform & metanol) daun kumis kucing (*Orthosiphon stamineus* Benth).

METODE PENELITIAN

2.1 Alat dan Bahan

spektrofotometri UV-Vis (Shimadzu UV 1280), evaporator (heidolph), kuvet kuarsa, timbangan analitik (oliguse), ayakan 60 mesh, pipet mikro (scilogex), blender (sanex), pH meter, penangas air (faithful), oven, cawan porselen, silika gel GF 254, sinar ultraviolet.

Daun kumis kucing (*Orthosiphon stamineus* Benth) umur 3 bulan dipetik pada bulan November pagi hari, NH₃, HCl 1N, kuersetin, pereaksi dragendorf, pereaksi mayer, kloroform, asam asetat anhidrat, H₂SO₄ pekat, diklorometan, logam magnesium (serbuk seng), HCl pekat, metanol, aquadest, FeCl₃ 1%(b/v), Xantine murni, NaOH 0,01 N, NaOH 0,2 N, DMSO, serbuk allopurinol.

2.2 Jalannya Penelitian

Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman dilakukan di Laboratorium Biologi, Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan (UAD).

Penyiapan Bahan

Daun kumis kucing ditimbang sebanyak 7,5 kg, disortasi dan dibersihkan, dicuci dengan air mengalir dan dirajang. Daun dipisahkan dengan kotoran yang ada, lalu semuanya dikeringkan dengan oven selama 2 kali 24 jam dengan suhu 55°C setelah kering maka sampel berupa simplisia di blender hingga menjadi halus dan diayak dengan ayakan 60 mesh.

Proses Ekstraksi

Simplisia daun kumis kucing sebanyak 1000 gram di maserasi dengan etanol 96 % sebanyak 6 liter selama 5 kali 24 jam, kemudian disaring. Proses tersebut diulangi hingga diperoleh filtrat yang bening. Filtrat ekstrak yang diperoleh dipekatkan dengan *rotary vacum evaporator* hingga menjadi ekstrak pekat.

Fraksinasi Sampel

Ekstrak kental daun kumis kucing 30 gr dimasukkan ke dalam erlenmeyer, dilarutkan dengan etanol 96% sebanyak 100 ml. Setelah larut, dimasukkan ekstrak kental ke dalam corong pisah dan ditambah pelarut kloroform sebanyak 100 ml setelah itu dikocok dalam corong pisah sampai homogen. dibiarkan sampai terbentuk lapisan etanol dan lapisan kloroform, kemudian masing-masing lapisan ditampung dalam wadah yang berbeda. Lapisan kloroform kemudian dievaporasi menggunakan *rotary evaporator* hingga kering, lalu ditimbang dan diperoleh fraksi kloroform. Selanjutnya, lapisan etanol ditambahkan akuades sebanyak 100 mL kemudian dipartisi dengan pelarut metanol dengan perbandingan 1:1 dalam corong pisah, setelah itu dikocok kembali

sampai homogen. Dibiarkan sampai terbentuk dua lapisan yaitu lapisan etanol dan metanol, kemudian masing-masing lapisan ditampung dalam wadah yang berbeda. Lapisan metanol selanjutnya dievaporasi menggunakan *rotary evaporator* hingga kering lalu ditimbang berat sampel dan diperoleh fraksi metanol.

Uji Organoleptis

Pemeriksaan parameter organoleptik merupakan pengenalan awal yang sederhana dilakukan subjektif meliputi bentuk, warna, rasa, dan bau.

Skrining Fitokimia

Uji Alkaloid

1 gr sampel tambahkan dengan 20 ml metanol dan 3 ml amonia, dipanaskan pada suhu 60°C sambil dikocok 15 menit. Larutan disaring, filtrat dipekatkan hingga ± 3 ml, ditambah 5 ml HCl 1N. Larutan diteteskan pada 2 tabung raksi, dan ditambahkan peraksi dragendorf terbentuknya endapan jingga sampai merah coklat dan pereaksi mayer terbentuk endapan putih (Hanani, 2016).

Uji Triterpenoid dan Steroid

2 gr sampel, tambahkan 30 mL diklorometan kocok selama 15 menit, lalu disaring. Filtrat diuapkan hingga kering. Residu dilarutkan dalam 1-2 mL metanol 50% jika perlu dengan pemanasan air, kemudian ditambah sedikit logam magnesium atau serbuk seng dan 5-6 tetes asam klorida pekat, dipanaskan sebentar di atas penangas air. Uji positif ditunjukkan oleh terbentuknya warna merah, kuning atau jingga (Hanani, 2016).

Uji Saponin

1 gr sampel ditambahkan aquades 10 mL dan dipanaskan di atas penangas air selama 10 menit setelah dingin, dikocok kuat-kuat selama 10 detik sehingga akan terbentuk buih yang stabil (selama tidak kurang dari 10 menit). Buih tidak hilang dengan penambahan 1 tetes HCl. Uji positif ditunjukkan oleh terbentuknya busa permanen ± 15 menit (Hanani, 2016).

Uji Tanin

1 gr sampel ke dalam metanol sampai sampel terendam semua kemudian ditambahkan 2-3 tetes FeCl₃ 1% (b/v). Amati perubahan warna, jika larutan menjadi hitam kebiruan atau hijau kehitaman menunjukkan adanya tanin.

Uji kandungan flavonoid dengan metode KLT

Uji kandungan flavonoid dengan KLT dilakukan dengan menotolkan larutan sampel dan larutan pembanding sebanyak 3 totolan menggunakan pipa kapiler pada silika 60 GF 254 sebagai fase diam dengan jarak antar totolan 1,5 cm dari tepi bawah lempeng dan dibiarkan mengering. Sampel dan pembanding kuersetin yang telah ditotolkan pada plat selanjutnya di elusi menggunakan fase gerak yaitu kloroform : etil asetat (6:4). Plat dimasukkan ke dalam bejana yang berisi fase gerak yang telah dijenuhkan dan ditutup rapat hingga fase gerak mencapai jarak rambat. Plat diangkat dan dikeringkan dan dideteksi menggunakan ultraviolet dengan gelombang pendek 254 nm dan ultraviolet dengan gelombang panjang 365 nm, serta dilakukan penyemprotan menggunakan pereaksi semprot yaitu sitroborat.

Uji Aktivitas daya hambat enzim Xantin Oksidase (XO)

Penyiapan larutan uji

Larutan konsentrasi 50 dan 100 µg/mL setiap konsentrasi dilakukan dengan tiga kali pengulangan. Ekstrak etanol, partisi kloroform, partisi metanol ditimbang 10 mg dan dilarutkan sampai 10 mL DMSO untuk mempercepat kelarutan dan mendapatkan larutan induk dengan konsentrasi 1000 µg/mL. Selanjutnya dilakukan pembuatan konsentrasi 50 dan 100 µg/mL. Pembanding yang digunakan pada penelitian ini adalah allopurinol sebanyak 10 mg dalam 10 ml aquabidest bebas pirogen dengan konsentrasi 5 dan 10 µg/mL yang diperoleh dari pengenceran induk allopurinol 1000 µg/mL.

Persiapan kontrol positif

Sebelum dibuka vial kecil di sentrifugasi sebentar dengan kecepatan rendah, Assay buffer dengan volume 20 ml yang sudah siap digunakan, setarakan dengan suhu kamar yaitu 25 °C sebelum digunakan disimpan pada suhu 4 °C, sampel pengencer yang digunakan sejumlah 120 µL, WST-8 yang digunakan yaitu sebanyak 600 µL, Xantin dengan jumlah 600 µL yang disimpan dalam es sebelum digunakan. Reagen kerja yang digunakan yaitu 340 µL per kuvet, siapkan

sebelum digunakan dan segera gunakan. Bekerja. Rasio reagen antara lain 296 μL assay buffer, 20 μL xantin, 5 μL WST-8 dan 1 μL enhancer.

Pengujian inhibisi xantin oksidase

Pengujian kontrol blanko

Pengujian kontrol blanko dilakukan untuk mengetahui titik awal dimulainya reaksi tanpa penurunan aktivitas enzim. Pengujian dilakukan dengan mengukur substrat xantin sebanyak 20 μL ditambahkan larutan dapar sebanyak 296 μL , kemudian ditambahkan 20 μL enzim xantin oksidase. Penambahan enzim dilakukan diatas *ice box* untuk menyamakan waktu inkubasi. larutan diinkubasi selama 20 menit pada suhu 25 °C. setelah diinkubasi kemudian diukur serapannya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 440,5 nm (Aldrich, 2016).

Substrat xantin sebanyak 2 μL ditambahkan larutan dapar sebanyak 44 μL , dan ditambahkan 2 μL allopurinol dengan konsentrasi 5 dan 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ kemudian ditambahkan 2 μL enzim xantin oksidase. Penambahan enzim dilakukan di atas *ice box* untuk menyamakan waktu inkubasi. Larutan diinkubasi selama 20 menit pada suhu 25 °C. Setelah diinkubasi kemudian diukur serapannya menggunakan spektrofotometer Uv-Vis pada panjang gelombang 440,5 nm (Aldeich, 2016).

Sebanyak 60 μL ekstrak dipipet dengan konsentrasi 50 dan 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ditambahkan 20 μL xantin, 296 μL larutan dapar, dan 20 μL enzim xantin oksidase. Penambahan enzim dilakukan di atas *ice box* untuk menyamakan waktu inkubasi. larutan diinkubasi selama 20 menit pada suhu 25 °C. setelah diinkubasi kemudian diukur serapannya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 440,5 nm.

Penentuan Inhibitory Concentration (IC)

Pengujian inhibisi xantin oksidase dilakukan terhadap sampel dengan konsentrasi 50 dan 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Penentuan IC yaitu kemampuan untuk menggambarkan senyawa antioksidan dalam sampel untuk menangkap radikal bebas pada konsentrasi larutan uji.

2.3 Analisis Data

Data dari uji flavonoid yang ada pada daun kumis kucing dengan spektrofotometri uv-vis dianalisis menggunakan IC dengan uji ANOVA.

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{\text{Nilai Abs blanko} - \text{Nilai Abs zat uji}}{\text{Nilai Abs blanko}} \times 100 \%$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1. Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman kumis kucing dilakukan di Laboratorium Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Ahmad Dahlan. Hasil dari determinasi menunjukkan bahwa tanaman yang digunakan untuk penelitian adalah benar merupakan tanaman kumis kucing (*Orthosiphon stamineus* Benth).

3.2. Pembuatan Simplisia

Hasil penelitian yang dilakukan terhadap ekstrak daun kumis kucing, didapat hasil pada tabel 4.1

Tabel I. Hasil simplisia Daun kumis kucing (*Orthosiphon stamineus* Benth)

Sampel	Berat Basah	Berat Kering
Daun kumis kucing (<i>Orthosiphon stamineus</i> Benth)	7,5 kg	1 kg

Tabel I menunjukkan bahwa berat basah sampel daun kumis kucing (*Orthosiphon stamineus* Benth) yang didapat sejumlah 7,5 kg setelah dilakukan pembuatan simplisia mendapatkan hasil sejumlah 1,5 kg. Hal ini dapat memberitahu bahwa didalam daun kumis kucing (*Orthosiphon stamineus* Benth) terdapat kandungan air yang tinggi. Kadar air pada simplisia daun kumis kucing

(*Orthosiphon stamineus* Benth) yaitu 6,30% sedangkan pada ekstrak etanol 96% daun kumis kucing (*Orthosiphon stamineus* Benth) memiliki kadar air sebesar 0,00%. Adapun persyaratan dari kadar air yaitu kurang dari 10%. Kadar air yang terkandung dalam simplisia dengan nilai kadar air yang tinggi dapat menjadi media yang baik untuk pertumbuhan mikroba.

Tabel II. Hasil kadar air ekstrak etanol 96%, partisi kloroform dan partisi metanol daun kumis kucing (*Orthosiphon Stamineus* Benth)

Sampel	Hasil Kadar Air (%)	Keterangan
Ekstrak etanol 96%	0,00	Memenuhi syarat
Partisi kloroform	0,00	Memenuhi syarat
Partisi metanol	0,25	Memenuhi syarat

Tabel II daun kumis kucing yang sudah terkumpul dicuci bersih menggunakan air mengalir agar terbebas dari kotoran yang menempel. Setelahnya dilakukan perajangan untuk memperkecil ukuran serta mempercepat pengeringan. Simplisia yang sudah kering dihaluskan menggunakan blender dan diayak menggunakan ayakan no 60 mesh.

3.3. Pembuatan Ekstrak

Tabel III. Hasil rendemen ekstrak etanol, partisi kloroform dan partisi metanol

Pelarut	Berat ekstrak	Rendemen (%)
Etanol 96%	93 gr	9,3
Kloroform	17 gr	28,3
Metanol	8 gr	13,3

Tabel III menunjukkan hasil ekstrak daun kumis kucing (*Orthosiphon Stamineus* Benth) merupakan ekstrak berwarna hijau kehitaman dengan rendemen ekstrak 9,3%. Rendemen yaitu hasil perhitungan akhir dari jumlah berat ekstraksi dengan berat simplisia kering yang sudah diekstraksi dinyatakan dalam satuan persen. Hasil rendemen menunjukkan bahwa komponen kimia daun kumis kucing (*Orthosiphon Stamineus* Benth) yang diekstraksi hasilnya sedikit.

3.4. Fraksinasi

Hasil partisi kloroform yang didapat sebanyak 13 gram, partisi metanol 10 gram, sisa ekstrak yang telah dipartisi dengan kloroform dan metanol merupakan ampas yang sukar larut terhadap pelarut kloroform dan metanol. Hasil partisi kloroform lebih banyak dibandingkan partisi metanol. Pada pelarut metanol hasil partisi sedikit dikarenakan senyawa kimia yang ada pada daun kumis kucing sedikit yang bersifat polar.

3.5. Uji Organoleptis

Tabel IV. Hasil uji organoleptis ekstrak etanol 96%, partisi kloroform, dan partisi metanol daun kumis kucing (*Orthosiphon Stamineus* Benth)

Organoleptis	Ekstrak etanol 96%	Partisi Kloroform	Partisi Metanol
Bentuk	Kering	Kering	Kental
Warna	Hijau pekat	Hijau pekat	Hijau pekat
Rasa	Pahit	Pahit	Pahit
Bau	Khas daun	Khas daun	Khas daun

Pemeriksaan parameter organoleptik merupakan pengenalan awal yang sederhana dilakukan subjektif meliputi bentuk, warna, rasa, bau. Hasil yang diperoleh dari ekstrak daun kumis kucing (*Orthosiphon Stamineus* Benth). Hasilnya yaitu ekstrak daun kumis kucing berbentuk kental, berwarna hijau pekat, mempunyai rasa pahit serta memiliki bau khas yang sangat menyengat.

3.6. Skrining Fitokimia

Tabel V. Hasil skrining fitokimia ekstrak etanol 96%, partisi kloroform, dan partisi metanol daun kumis kucing (*Orthosiphon Stamineus* Benth)

Skrining fitokimia	Keterangan	Ekstrak etanol 96%	Partisi kloroform	Partisi metanol
Flavanoid	Warna merah, kuning atau jingga	Merah +++	Merah +	Merah ++
Alkaloid				
Mayer	Endapan warna putih, coklat, dan merah jingga	Endapan coklat +++	Endapan coklat ++	Endapan coklat +
Dragendrof	Endapan jingga sampai merah coklat	Endapan merah coklat +++	Endapan jingga +	Endapan jingga ++
Saponin	Terbentuknya busa permanen ± 15 menit	Terbentuk busa +++	Tidak terbentuk busa	Terbentuk busa ++
Tanin	Hitam kebiruan/hijau kehitaman	Hijau kehitaman +++	Hijau kehitaman ++	Hijau kehitaman ++
Triterpenoid an steroid	Terbentuk warna coklat dan warna hijau kebiruan	Coklat kehitaman +++	Hijau pekat ++	Hijau pekat ++

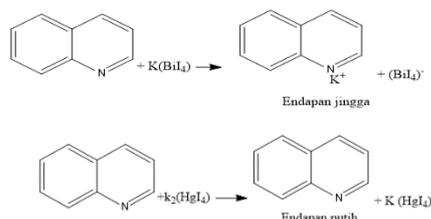
Keterangan :

- +++ = Mengandung senyawa metabolit sekunder banyak
- ++ = Mengandung senyawa metabolit sekunder sedang
- + = Mengandung senyawa metabolit sekunder sedikit

Berdasarkan tabel V Pengujian flavanoid ekstrak etanol 96%, partisi kloroform dan partisi metanol mengandung dengan hasil terbentuknya warna merah, Terbentuknya warna merah merupakan senyawa kompleks dari garam flavalium, garam tersebut jika direaksikan dengan basa akan menghasilkan flavanoid seperti semula. Reaksi uji flavanoid dapat dilihat pada rumus dibawah ini :



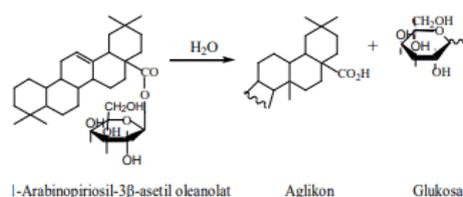
Pengujian alkaloid ekstrak etanol 96%, partisi kloroform dan partisi metanol positif mengandung alkaloid dengan hasil terbentuknya endapan coklat pada pereaksi mayer, pada partisi kloroform dan partisi metanol endapan yang dihasilkan kurang banyak jika dibandingkan dengan ekstrak etanol 96%, hasil positif alkaloid pada pereaksi dragendrof didapatkan hasil yaitu ekstrak terbentuk endapan merah coklat dan pada partisi kloroform terbentuk endapan jingga



Gambar 1. Reaksi Uji Alkaloid [7]

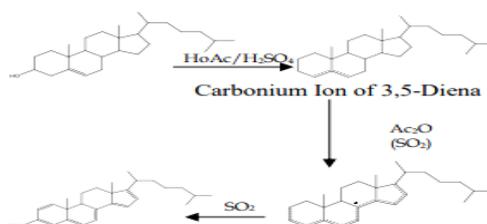
Hasil positif pada pengujian tanin ditandai dengan terbentuknya warna hijau kehitaman, pada partisi kloroform dan partisi metanol menghasilkan warna hijau kehitaman yang tidak terlalu pekat seperti ekstrak etanol 96%.

Hasil positif pada pengujian saponin ditandai dengan terbentuknya busa, pada ekstrak etanol 96% terbentuk busa yang sangat kuat(banyak), partisi kloroform tidak terbentuk busa, sedangkan pada partisi metanol terbentuk busa yang kurang banyak.



Gambar 2. Reaksi Hidrolisis Saponin Dalam Air [7]

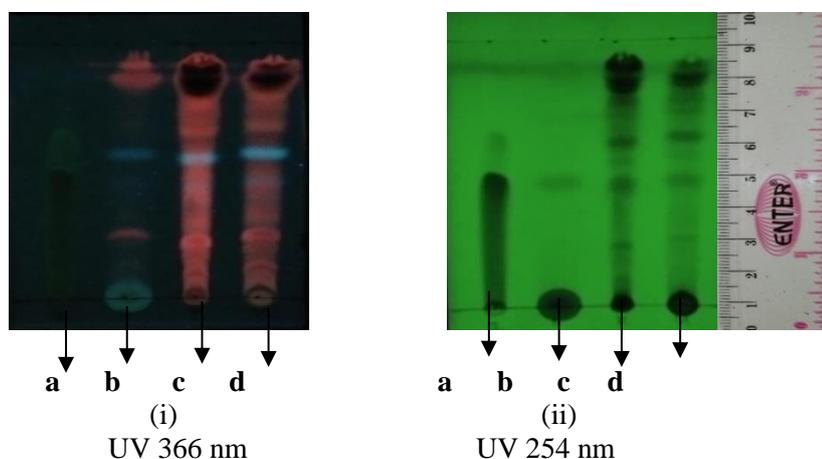
Hasil positif pada pengujian triterpenoid ditandai dengan hasil terbentuknya warna coklat kehitaman, pada ekstrak etanol 96% terbentuk warna coklat kehitaman yang kuat, tetapi pada partisi kloroform dan partisi metanol tidak terbentuk warna coklat kehitaman. Hasil positif pada uji steroid ditandai dengan terbentuknya warna hijau pekat, pada partisi kloroform dan partisi metanol terbentuk warna hijau pekat yang kuat



Gambar 3. Reaksi Uji Kandungan Steroid Dan Triterpenoid [7]

Skринing fitokimia pada tabel V dapat dijelaskan bahwa ekstrak daun kumis kucing (*Orthosiphon Stamineus* Benth) mengandung senyawa metabolit sekunder yaitu flavanoid, alkaloid, saponin, tanin dan steroid/triterpenoid yang dapat dilihat dari uji flavanoid dengan hasil adanya perubahan warna dari hijau menjadi warna merah.

3.7. Kromatografi Lapis Tipis



Gambar 4. Hasil KLT fase diam silika silika GF₂₅₄ dan fase gerak kloroform:etil asetat (4:6) detektor (i) UV 366 (ii) UV 254

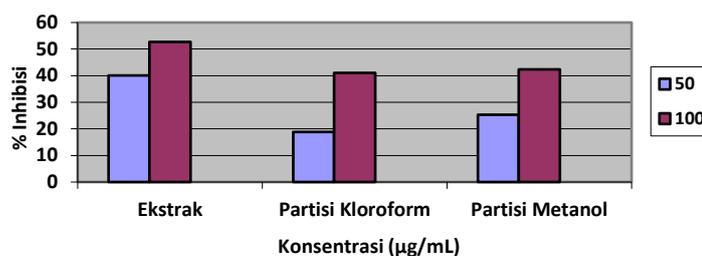
Keterangan :

a = Pembanding quersetin

b = Ekstrak etanol 96%

c = Partisi kloroform

Analisis KLT pada ekstrak daun kumis kucing, partisi kloroform dan partisi metanol dilakukan dengan menotolkannya pada plat KLT yang dielusikan dengan fase gerak kloroform:etil setat dengan perbandingan 4:6. Hasil yang didapatkan dilihat dibawah sinar UV 254 nm memperlihatkan adanya dua noda pada quersetin dengan nilai Rf sebesar 0,47 dan 0,6. Hasil yang didapat pada ekstrak etanol 96% memperlihatkan adanya satu noda dengan nilai Rf sebesar 0,46 Partisi Kloroform yang didapat pada sinar UV 254 nm memperlihatkan adanya lima noda dengan nilai Rf 0,22; 0,45; 0,61; 0,82, dan 0,91 sedangkan pada partisi metanol yang didapat pada sinar UV 254 memperlihatkan adanya lima noda dengan nilai Rf 0,23, 0,46, 0,62, 0,85 dan 0,91. Plat diatas juga diamati di bawah sinar UV 366 nm dengan jumlah noda yang sama seperti menggunakan sinar UV 254. Perbedaan dibawah sinar UV 254 menunjukkan bahwa senyawa tersebut memiliki minimal satu ikatan rangkap terkonjugasi sedangkan pada sinar UV 366 nm menunjukkan bahwa senyawa tersebut memiliki ikatan rangkap terkojugasi yang lebih panjang atau dapat disebut dengan kromofor dan memiliki gugus auksokrom pada skrukturnya.

3.8. Uji Penghambatan Xantin oksidase

Gambar 5. Diagram perbandingan penghambatan enzim xantin oksidase

Berdasarkan Gambar 5 menunjukkan bahwa terdapat perbedaan nilai penghambatan aktivitas xantin oksidase antara ekstrak daun kumis kucing, partisi kloroform dan partisi metanol. Hasil penghambatan dapat dilihat pada masing-masing konsentrasi yang memberikan nilai persen inhibisi terhadap enzim. Nilai persen inhibisi enzim xantin oksidase yang paling tinggi terdapat pada ekstrak etanol konsentrasi 100 µg/mL dengan nilai persen inhibisi terhadap enzim sebesar 52,64 %. Sedangkan nilai persen inhibisi yang paling rendah yaitu pada partisi kloroform konsentrasi 50 µg/mL dengan nilai persen inhibisi 18,82 % . Pada reaksi oksidase ini xantin yang merupakan substrat akan berikatan dengan oksigen dengan bantuan enzim xantin oksidase, sehingga terbentuk produk berupa asam urat. Kemampuan penghambatan xantin oksidase disebabkan oleh ekstrak daun kumis kucing yang memiliki aktivitas penghambat xantin.

3.9. Analisis Data**Uji Noemalitas**

Tabel VI. Hasil uji normalitas

Konsentrasi	Ekstrak	Partisi Metanol	Partisi Kloroform
50	0,000	0,407	0,637
100	0,000	0,328	0,637
Kontrol positif		0,637	

Dari tabel VI menunjukkan hasil uji normalitas menggunakan uji Saphiro-Wilk pada ekstrak etanol data terdistribusi tidak normal dengan nilai signifikan kurang dari 0,05 ($p > 0,05$). Partisi

metanol menunjukkan data terdistribusi normal dengan nilai signifikan lebih dari 0,05 ($p > 0,05$). Partisi kloroform data juga terdistribusi normal dengan nilai signifikan lebih dari 0,05 ($p > 0,05$).

Uji Homogenitas

Tabel VII. Hasil uji homogenitas

Hasil	Nilai signifikan (p)
Ekstrak Etanol	0,080
Partisi kloroform	0,537
Partisi Metanol	0,565

Uji homogenitas ekstrak etanol, partisi metanol dan partisi kloroform pada tabel VII yang menunjukkan bahwa data tersebut homogen dimana nilai signifikan lebih dari 0,05 ($p > 0,05$) sehingga dapat ditarik kesimpulan bahwa data memenuhi syarat untuk dilanjutkan dengan uji one way ANOVA

Uji One Way ANOVA

Tabel VIII. Hasil uji one way ANOVA

Hasil nilai signifikan	
Ekstrak etanol	0,000
Partisi methanol	0,000
Partisi kloroform	0,000

Hasil uji one way ANOVA dapat dilihat pada tabel VIII dimana nilai signifikan persen stabilitas membran sel darah merah pada ekstrak etanol, partisi metanol dan partisi n- heksana menunjukkan bahwa data berbeda secara bermakna dengan nilai signifikan kurang dari 0,05 (p).

Uji Tukey

Tabel IX. Hasil Uji Tukey Allopurinol

Kelompok Perlakuan	Perbandingan	Nilai Signifikan (P)	Keterangan
5 ppm Allopurinol	10 ppm allopurinol	0.000	Berbeda bermakna
	50 ppm ekstrak	1.000	Tidak berbeda
	100 ppm ekstrak	0.000	Berbeda bermakna
	50 ppm metanol	0.000	Berbeda bermakna
	100 ppm metanol	0.584	Tidak berbeda
	50 ppm kloroform	0.000	Berbeda bermakna
10 ppm Allopurinol	100 ppm kloroform	0.998	Tidak berbeda
	5 ppm allopurinol	0.000	Berbeda bermakna
	50 ppm ekstrak	0.000	Berbeda bermakna
	100 ppm ekstrak	0.000	Berbeda bermakna
	50 ppm metanol	0.000	Berbeda bermakna
	100 ppm metanol	0.000	Berbeda bermakna
	50 ppm kloroform	0.000	Berbeda bermakna

100 ppm
kloroform 0.000

Dari tabel IX dapat dilihat hasil uji tukey pada allopurinol menunjukkan bahwa konsentrasi 5 ppm perbandingan dengan 10 ppm berbeda bermakna, 10 ppm berbeda lebih besar dari konsentrasi 5 ppm dengan nilai signifikan kurang dari 0,05. Pada konsentrasi 5 ppm berbeda bermakna lebih kecil dengan konsentrasi 10 ppm. Hal ini dapat disimpulkan bahwa pada kadar 5 dan 10 ppm mempunyai efek persen inhibisi yang serupa.

Tabel X. Hasil Uji Tukey Ekstrak Etanol

Kelompok Perlakuan	Perbandingan	Nilai Signifikan (P)	Keterangan
50 ppm ekstrak	10 ppm allopurinol	1.000	Tidak berbeda
	50 ppm ekstrak	0.000	Berbeda bermakna
	100 ppm ekstrak	0.000	Berbeda bermakna
	50 ppm metanol	0.000	Berbeda bermakna
	100 ppm metanol	0.375	Tidak berbeda
	50 ppm kloroform	0.000	Berbeda bermakna
	100 ppm kloroform	0.968	Tidak berbeda
100 ppm ekstrak	5 ppm allopurinol	0.000	Berbeda bermakna
	50 ppm ekstrak	0.000	Berbeda bermakna
	100 ppm ekstrak	0.000	Berbeda bermakna
	50 ppm metanol	0.000	Berbeda bermakna
	100 ppm metanol	0.000	Berbeda bermakna
	50 ppm kloroform	0.000	Berbeda bermakna
	100 ppm kloroform	0.000	Berbeda bermakna

Dari tabel X hasil uji tukey pada ekstrak etanol dapat dilihat bahwa konsentrasi 50 ppm berbeda bermakna lebih kecil daripada konsentrasi 100 ppm dengan nilai signifikan kurang dari 0,05. Hal ini dapat disimpulkan bahwa pada konsentrasi 50 dan 100 ppm mempunyai efek persen inhibisi yang serupa.

Tabel XI. Hasil Uji Tukey Partisi Metanol

Kelompok Perlakuan	Perbandingan	Nilai Signifikan (P)	Keterangan
50 ppm partisi metanol	10 ppm allopurinol	0.000	Berbeda bermakna
	50 ppm ekstrak	0.000	Berbeda bermakna
	100 ppm ekstrak	0.000	Berbeda bermakna
	50 ppm metanol	0.000	Berbeda bermakna
	100 ppm metanol	0.000	Berbeda bermakna
	50 ppm kloroform	0.000	Berbeda bermakna
	100 ppm kloroform	0.000	Berbeda bermakna

100 ppm partisi metanol	5 ppm allopurinol	0.584	Tidak berbda
	50 ppm ekstrak	0.000	Berbeda bermakna
	100 ppm ekstrak	0.375	Tidak berbda
	50 ppm metanol	0.000	Berbeda bermakna
	100 ppm metanol	0.000	Berbeda bermakna
	50 ppm kloroform	0.000	Berbeda bermakna
	100 ppm kloroform	0.904	Tidak berbeda

Dari tabel XI hasil uji tukey pada partisi metanol dapat dilihat bahwa konsentrasi 50 ppm berbeda bermakna lebih kecil dari 100 ppm dengan nilai signifikan kurang dari 0,05. Hal ini dapat disimpulkan bahwa pada konsentrasi 50 dan 100 ppm memiliki efek persen inhibisi yang serupa.

Tabel XII. Hasil Uji Tukey Partisi Kloroform

Kelompok Perlakuan	Perbandingan	Nilai Signifikan (P)	Keterangan
50 ppm partisi kloroform	10 ppm allopurinol	1.000	Tidak berbda
	50 ppm ekstrak	0.000	Berbeda bermakna
	100 ppm ekstrak	0.000	Berbeda bermakna
	50 ppm metanol	0.000	Berbeda bermakna
	100 ppm metanol	0.375	Tidak berbeda
	50 ppm kloroform	0.000	Berbeda bermakna
	100 ppm kloroform	0.968	Tidak berbeda
	100 ppm partisi kloroform	5 ppm allopurinol	0.968
50 ppm ekstrak		0.000	Berbeda bermakna
100 ppm ekstrak		0.968	Tidak berbda
50 ppm metanol		0.000	Berbeda bermakna
100 ppm metanol		0.000	Berbeda bermakna
50 ppm kloroform		0.904	Tidak berbda
100 ppm kloroform		0.000	Berbeda bermakna

Dari tabel 4.12 hasil uji tukey pada partisi kloroform menunjukkan bahwa konsentrasi 50 ppm berbeda bermakna lebih besar dari 100 ppm dengan nilai signifikan kurang dari 0,05. Hal ini dapat disimpulkan bahwa kadar 50 dan 100 ppm mempunyai efek persen inhibisi yang serupa.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang sudah dilakukan disimpulkan bahwa Ekstrak etanol, partisi kloroform dan partisi metanol mempunyai aktivitas penghamabatan xantin oksidase dengan hasil nilai persen inhibisi ekstrak etanol 52,76%, partisi kloroform 41,69%, dan partisi metanol 43,91%.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Ergina, N. S., & Pursitasari, I. D, Uji Kualitatif Senyawa Metabolit Sekunder pada Daun Palado (*Agave angustifolia*) yang Diekstraksi dengan Pelarut Air dan Etanol., vol. 3, no. 3, pp. 165-172, 2014.
- [2] Jilly, P.L., Ricky C., Sondakh., Budi T. Ratag, Hubungan Antara Umur, Jenis Kelamin Dan Indeks Massa Tubuh Dengan Kadar Asam Urat Darah Pada Masyarakat Yang datang Berkunjung Di Puskesmas Paniki Bawah Kota Manado, fakultas Kesehatan Masyarakat, *Skripsi*, Fakultas Kesehatan Masyarakat Universitas Sam Ratulangi, 2016, Sulawesi Utara.
- [3] Mulyasari, A, "Faktor Asupan Gizi yang Berhubungan Kadar Asam Urat Darah Wanita Postmenopause," *Journal of Nutrition College*, vol. 4, no. 3, pp. 232-242, 2015.
- [4] Nida'an., Pengukuran kadar Asam Urat pada Perempuan >40, Analisis Kesehatan, *KTI*, Prodi D3 Analisis kesehatan STIKes Intan Cendekia Medika, 2017, Jombang.
- [5] Hanani, E., 2016, Analisis Fitokimia, Jakarta: Erlangga.

-
- [6] Arista, D.S., dan Turikan, "Uji Skrining fitokimia ekstrak metanol kulit batang tumbuhan klampok watu (*Syzygium litorale*)," *Journal of Chemistry UNESA*, vol. 6, no. 3, pp. 155 – 160, 2017.
- [7] Wardhana., A. Pramudya., Arwanda., Rika., Nabila., Sofi., dan Turikan, "Uji Skrining fitokimia ekstrak metanol tumbuhan gowok(*Syzygium polycephalum*)," *Prosiding Seminar Nasional Kimia*, vol. 2, no. 2, pp. 143-147.
- [8] Slamet, & P. Simanjutak, 2018,"Isolasi Dan Identifikasi Senyawa Aktif Praksi Daun Sirsak (*Annona Muricata* Linn) Sebagai Penghambat Oksidase Xanthine," *Parapemikir: Jurnal Ilmiah Farmasi*, vol.7, no.1, pp. 209-214.
- [9] A. Songgigilan, I. Rumengan, & R. Kundre, "Hubungan Pola Makan Dan Tingkat Pengetahuan Dengan Kadar Asam Urat Dalam Darah Pada Penderita Gout Arthritis Di Puskesmas Ranotana Weru," *e-journal Keperawatan*, vol. 7, no. 1, pp. 1-8, 2019.