

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Asam urat merupakan suatu penyakit yang sudah banyak dikenal oleh masyarakat secara umum. Asam urat adalah senyawa nitrogen yang dihasilkan dari proses katabolisme purin baik dari diet maupun dari asam nukleat endogen (asam deoksiribonukleat). Dalam proses katabolisme purin, xantin oksidase (XO) akan mengkatalisis xantin dan hipoxantin menjadi asam urat. Sebagian besar asam urat diekskresi melalui ginjal dan hanya sebagian kecil melalui saluran cerna. Kadar asam urat yang mengalami peningkatan disebut hiperurisemia (Haidari *et al.*, 2009; Pagana, 2001). Xantin oksidase memegang peranan penting pada penyakit gout. Selama reoksidasi dari xantin oksidase, oksigen akan bertindak sebagai akseptor elektron yang kemudian akan memproduksi radikal superoksida dan hidrogen peroksida (Cos *et al*, 1998). Satu unit XO dapat mengkonversi satu mikromol substrat (xantin) menjadi asam urat tiap satu menit pada pH optimum (pH 7,5) dan suhu optimum (25°C). XO dapat diisolasi dari berbagai macam sumber seperti susu, mikroorganisme, dan *buttermilk* (Yulianto, 2009).

Pada sebagian besar penelitian epidemiologi, disebut sebagai hiperurisemia jika kadar asam urat serum orang dewasa lebih dari 7,0 mg/dL pada laki-laki dan lebih dari 6,0 mg/dL pada perempuan. Hiperurisemia terjadi karena adanya peningkatan metabolisme asam urat, penurunan pengeluaran asam urat urin atau gabungan keduanya (Kelly and Wortmann, 1997; Becker, 2001; Edward, 2001). Keadaan ini yang menyebabkan darah tidak mampu lagi menampung asam urat sehingga terjadi pengendapan kristal urat di berbagai organ seperti sendi dan ginjal.

Tingginya kadar asam urat serum atau hiperurisemia dapat menimbulkan penyakit gout (penyakit akibat pengendapan kristal Mono Sodium Urat (MSU) di jaringan) (Misnadiarly, 2007).

Terdapat dua kelompok obat yang digunakan dalam pengobatan hiperurisemia yaitu obat dengan mekanisme kerja meningkatkan eliminasi asam urat (urikosurik) dan obat yang mengurangi pembentukan asam urat (urikostatik) (Mutschler, 1991). Obat yang termasuk dalam kelompok urikosurik adalah probenesid dan sulfinpirazon, sedangkan kelompok obat urikostatik adalah alopurinol. Alopurinol merupakan obat asam urat golongan urikostatik yang adalah inhibitor kuat dari XO yang dapat menurunkan kadar asam urat. Alopurinol bekerja sebagai antagonis kompetitif dari hipoxantin yang dapat dioksidasi oleh enzim xantin oksidase menjadi aloxantin, sehingga enzim xantin oksidase yang seharusnya mengubah hipoxantin menjadi xantin berkurang, menyebabkan produksi asam urat juga berkurang (Katzung, 2007). Aktivitas inhibisi enzim xantin oksidase oleh suatu senyawa didasarkan pada nilai IC_{50} . Senyawa dikatakan berpotensi apabila memiliki nilai IC_{50} kurang dari 100 $\mu\text{g/mL}$ (Thuong *et al.*, 2006). Nilai IC_{50} alopurinol terhadap aktivitas enzim xantin oksidase adalah $0,62 \pm 0,10 \mu\text{g/mL}$ atau $4,57 \pm 0,74 \mu\text{M}$ (Haryanto, 2015). Namun demikian, alopurinol memiliki efek samping seperti hepatitis, nefropati dan alergi sehingga perlu adanya pencarian inhibitor XO yang baru dari sumber alam sebagai pengganti alternatif dari alopurinol (Haidari *et al.*, 2009).

Indonesia memiliki 30.000 jenis tumbuh-tumbuhan, sekitar 7.500 jenis termasuk tanaman berkhasiat obat. Lebih dari 1.800 jenis tanaman telah diidentifikasi dari beberapa formasi hutan, namun hingga saat ini jumlah tanaman obat yang dimanfaatkan oleh masyarakat baru sekitar 1.000, dan yang digunakan secara rutin dalam industri obat tradisional baru sekitar 300 jenis (Mustanir *et al.*, 2013). Penggunaan obat tradisional di

Indonesia pada hakekatnya merupakan bagian kebudayaan bangsa Indonesia. Keuntungan dari penggunaan obat tradisional yaitu efek samping yang relatif kecil dibandingkan obat modern, juga dapat digunakan sebagai senyawa penuntun untuk menemukan obat baru (Wijayakusuma, 1996). Mahalnya obat sintetik menjadi salah satu alasan masyarakat beralih ke tanaman obat. Tanaman obat adalah tanaman yang mengandung bahan yang dapat digunakan sebagai pengobatan dan bahan aktifnya dapat digunakan sebagai bahan obat sintetik (Pribadi, 2009). Tanaman telah lama memiliki peranan yang penting dalam menjaga kesehatan manusia dan juga berfungsi sebagai bahan makanan untuk manusia. WHO (*World Health Organization*) memperkirakan lebih dari 80% penduduk dunia bergantung pada pengobatan tradisional sebagai pengobatan utama dan sebagian besar meliputi penggunaan ekstrak tanaman atau kandungan senyawa aktif dari tanaman tersebut (Egwuche, Odetola, & Erukainure, 2011).

Salah satu tanaman obat yang juga bermanfaat bagi kesehatan adalah pacar kuku (*Lawsonia inermis* Linn.). Bagian daun, bunga, biji, kulit batang dan akar dari pacar kuku berpotensi menyembuhkan sakit kepala, arthritis, diare, leprosy, dan demam (Chaudhary, Goyal, and Poonia, 2010). Selain itu daun pacar kuku juga mampu menyembuhkan radang ruas jari (panaritium) dan luka pada kulit serta menurunkan kadar gula darah (Inawati, Syamsudin, dan Hendiq, 2006). Daun pacar kuku mengandung 2-hidroksi-1,4-naftokuinon (lawson), flavonoid (apigenin, luteolin, dan beberapa glikosida seperti apigenin-7-O-glikosida, apigenin-4'-O-glikosida, luteolin-7-O-glikosida, luteolin-3'-O-glikosida) (Chaudhary, Goyal dan Poonia, 2010), kumarin (esculetin, fraxetin dan scopletin) dan steroid (β -sitosterol) (Rajwar and Khatri, 2011). Senyawa flavonoid yang terkandung pada tanaman dapat berperan sebagai obat untuk penyakit gout dengan menghambat kerja dari xantin oksidase (Cos *et al.*, 1998; Milián *et al.*,

2004). Flavonoid berpotensi sebagai obat untuk penyakit gout dan iskemik dengan cara menurunkan konsentrasi asam urat dan penangkapan aktivitas superoksida dalam jaringan manusia (Yulianto, 2009).

Pada penelitian yang dilakukan oleh Kostić *et al.*, (2015) bahwa apigenin dan luteolin yang merupakan flavonoid dapat menghambat aktivitas XO dengan nilai IC_{50} $0,70 \pm 0,23 \mu M$ dan $0,55 \pm 0,04 \mu M$, sedangkan pada penelitian yang dilakukan oleh Nagao, Seki, dan Kobayashi (1999) luteolin menginhibisi XO dengan nilai IC_{50} $0,96 \mu M$. Apigenin dan luteolin dapat berfungsi sebagai inhibitor xantin oksidase karena adanya ikatan rangkap antara C_2 dan C_3 sehingga cincin B koplanar terhadap A yang memudahkan terjadinya interaksi dengan xantin oksidase (Nagao, Seki dan Kobayashi, 1999). Apigenin dan luteolin yang terkandung dalam daun pacar kuku (*Lawsonia inermis* Linn.) merupakan aglikon yang termetoksilasi sehingga bersifat kurang polar dan cenderung lebih mudah larut dalam pelarut yang juga bersifat kurang polar seperti eter dan kloroform (Markham, 1988).

Berdasarkan penelitian Bhuvaneswari *et al.*, (2002) diketahui bahwa pacar kuku memiliki kandungan utama yaitu lawson (2-hidroksi-1,4-naftokuinon) dalam konsentrasi tinggi memiliki aktivitas sebagai analgesik, anti inflamasi dan efek antipiretik pada tikus dan juga dapat menghambat kerja *Proteus* dan *Staphylococcus aureus*. Selain itu penelitian juga telah dilakukan terhadap tanaman pacar kuku (*Lawsonia inermis* Linn.) mengenai aktivitas antioksidan dari ekstrak daun pacar kuku serta meneliti komponen fenol yang terdapat pada daun pacar kuku. Dari penelitian tersebut didapatkan hasil bahwa ekstrak daun pacar kuku memiliki daya antioksidan dan komponen total fenol dari ekstrak daun pacar kuku dalam penelitian tersebut sangat dipengaruhi oleh sistem pelarut yang digunakan untuk ekstraksi (Khodaparast & Dezashibi, 2007). Menurut Setyaningrum (2013)

ekstrak etanol daun pacar kuku memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} 0,2421 mg/mL sedangkan fraksi etanol mempunyai daya antioksidan lebih besar dengan nilai IC_{50} 0,1671 mg/mL.

Penelitian lain terhadap tanaman pacar kuku yang telah dilakukan yaitu mengenai penggunaan daun pacar kuku sebagai obat luka alternatif pada tikus jantan. Dari penelitian tersebut diperoleh hasil bahwa penyembuhan paling cepat didapat dari ekstrak daun pacar kuku dengan konsentrasi 15% (Elya, Farida, dan Siti, 2007). Daun pacar kuku juga memiliki kemampuan dalam menghambat aktivitas enzim. Ekstrak etanol dari daun pacar kuku (*Lawsonia inermis* Linn.) dan lawson dalam menghambat kerja enzim tripsin menunjukkan nilai IC_{50} pada konsentrasi 64,87 μ g/mL dan 48,6 μ g/mL (Singh *et al.*, 2014).

Ekstrak etanol daun pacar kuku juga dapat menghambat enzim xantin oksidase yang berperan dalam pembentukan asam urat di dalam tubuh. Berdasarkan hasil pengujian daya inhibisi ekstrak etanol daun pacar kuku terhadap aktivitas enzim xantin oksidase yang dilakukan oleh Haryanto (2015) didapat bahwa sampel yaitu ekstrak etanol daun pacar kuku (*Lawsonia inermis* Linn.) sebagai inhibitor yang diuji memberikan serapan asam urat yang lebih kecil dibandingkan dengan blanko (pengujian aktivitas enzim tanpa penambahan inhibitor). Hal ini menunjukkan ekstrak etanol daun pacar kuku memiliki potensi dalam menghambat aktivitas enzim xantin oksidase. Persen inhibisi terkecil yang diperoleh terhadap aktivitas enzim xantin oksidase adalah pada konsentrasi ekstrak 1,5 μ g/mL yaitu $18,68 \pm 3,04$ %, sedangkan persen inhibisi tertinggi dihasilkan oleh konsentrasi ekstrak 400 μ g/mL yaitu $91,57 \pm 4,53$ %. Pada peningkatan konsentrasi terjadi peningkatan daya hambat terhadap aktivitas enzim xantin oksidase. Hal ini menunjukkan potensi inhibisi ekstrak etanol daun pacar kuku dalam menghambat aktivitas enzim xantin oksidase semakin

meningkat dengan adanya peningkatan terhadap jumlah konsentrasi inhibitor. Ekstrak etanol daun pacar kuku dalam menghambat kerja enzim xantin oksidase pada penelitian tersebut menunjukkan nilai IC_{50} sebesar $24,42 \pm 5,10 \mu\text{g/mL}$ (Haryanto, 2015).

Telah diketahui pada penelitian-penelitian sebelumnya bahwa tanaman pacar kuku (*Lawsonia inermis* Linn.) memiliki potensi yang besar dalam pengobatan dan telah terbukti pada pengobatan asam urat. Pada penelitian ini akan diteliti fraksi manakah dari ekstrak etanol daun pacar kuku (*Lawsonia inermis* Linn.) yang paling berpotensi sebagai hiperurisemia melalui mekanisme penghambatan aktivitas enzim xantin oksidase dan golongan flavonoid apakah yang paling berpotensi dalam menghambat aktivitas xantin oksidase. Bagian tanaman yang digunakan adalah daun dan metode ekstraksi yg digunakan pada penelitian ini mengacu pada penelitian terdahulu (Haryanto, 2015). Proses fraksinasi yang dilakukan adalah fraksinasi bertingkat dengan metode ekstraksi cair-cair, prosesnya dimulai dengan *n*-heksana sebagai pelarut non polar, etil asetat sebagai pelarut semi polar, dan etanol yang berperan sebagai pelarut polar. Tujuan dari fraksinasi dengan metode ekstraksi cair-cair ini adalah untuk memisahkan kandungan senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada (*Lawsonia inermis* Linn.) berdasarkan tingkat kepolarannya. Fraksinasi dilakukan dengan menggunakan tiga macam pelarut, untuk mengetahui kemampuan masing-masing fraksi dalam menghambat kerja dari enzim xantin oksidase. Senyawa-senyawa yang bersifat polar akan masuk ke pelarut polar, begitu pula senyawa yang bersifat non polar akan masuk ke pelarut non polar (Harborne, 1987). Kandungan daun pacar kuku yang dapat terlarut dalam pelarut non polar adalah steroid (β -sitosterol) karena dapat larut dalam lima jenis pelarut organik yaitu metanol, etanol, etil asetat, dan *n*-heksana (Wei *et al.*, 2010). Pelarut semi polar yaitu etil asetat dapat

menarik flavonoid yaitu apigen dan luteolin, steroid, kumarin (Markham, 1988), sedangkan pelarut polar yaitu etanol dapat menarik flavonoid yang terikat dengan gula, lawson, kumarin dan steroid (Anju *et al.*, 2012). Pengujian daya inhibisi fraksi ekstrak etanol daun pacar kuku terhadap aktivitas enzim xantin oksidase dilakukan dengan metode *in vitro*. Kemampuan setiap fraksi dalam menghambat aktivitas enzim xantin oksidase dalam mengubah substrat xantin menjadi produk berupa asam urat diamati menggunakan alat spektrofotometri Multiskan GO pada panjang gelombang 290 nm, suhu 25°C dan pH 7,5.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan maka masalah penelitian dapat dirumuskan sebagai berikut :

1. Fraksi manakah dari ekstrak etanol daun pacar kuku (*Lawsonia inermis* Linn.) yang paling berpotensi dalam menghambat enzim xantin oksidase ?
2. Golongan senyawa flavonoid apakah yang terkandung dalam fraksi dari ekstrak etanol daun pacar kuku (*Lawsonia inermis* Linn.) yang berpotensi dalam menghambat enzim xantin oksidase ?

1.3 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk :

1. Mengetahui fraksi dari ekstrak etanol daun pacar kuku (*Lawsonia inermis* Linn.) yang paling berpotensi dalam menghambat enzim xantin oksidase.
2. Mengetahui golongan senyawa flavonoid yang terkandung dalam fraksi dari ekstrak etanol daun pacar kuku (*Lawsonia inermis* Linn.) yang berpotensi dalam menghambat enzim xantin oksidase.

1.4 Hipotesis Penelitian

1. Fraksi etil asetat dari ekstrak etanol daun pacar kuku (*Lawsonia inermis* Linn.) adalah yang paling berpotensi dalam menghambat aktivitas enzim xantin oksidase.
2. Golongan senyawa flavonoid yang paling banyak terkandung dalam fraksi dari ekstrak etanol daun pacar kuku (*Lawsonia inermis* Linn.) yang paling berpotensi dalam menghambat enzim xantin oksidase adalah flavon.

1.5 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini untuk mengetahui kemampuan fraksi *n*-heksana, etil asetat dan etanol dari ekstrak etanol daun pacar kuku (*Lawsonia inermis* Linn.) dalam menghambat aktivitas enzim xantin oksidase, sehingga hal ini dapat dijadikan sebagai landasan ilmiah bagi sediaan tradisional yang digunakan untuk antihiperurisemia mengandung pacar kuku (*Lawsonia inermis* Linn.).