

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### A. Hasil penelitian terdahulu

*Solanum nigrum* L. termasuk keluarga solanaceae dalam pengobatan herbal di India dapat digunakan untuk terapi *gout*/asam urat (Kapoor *et al.*, 2017). Hal ini karena kandungan kimia meliputi cuscutin, amarbelin, betasterol, stigmasterol, kaempferol, dulcitol, myricetin, kuersetin, kumarin dan asam oleanolat (Jeyasree *et al.*, 2014). Dalam ekstrak etanol leunca positif mengandung alkaloid, flavonoid, fenolik, saponin dan diterpen (Pandey & Arnold, 2017).

Kandungan pada *Solanum nigrum* L. meliputi alkaloid (0,43±0,03%), saponin (3,25±0,39%), total fenol (4,58±1,40 mg asam tanin/1g), total flavonoid (0,36±0,03 mg kuersetin/1g), total flavonol (0,71±0,00 mg kuersetin/1g) dan total proantosianidin (2,92±0,38 mg katekin/1g) (Afolayan & Jimoh, 2008). Ekstrak etanol daun leunca kandungan flavonoid sebesar 2,55 mg kuersetin/g ekstrak kering paling tinggi dibanding ekstrak etanol batang maupun buah dan mempunyai IC<sub>50</sub> antioksidan DPPH sebesar 120,22 µg/mL; selain itu, kandungan flavonoid ekstrak etanol daun leunca 2,31±0,47 mg kuersetin/g ekstrak kering dan kandungan flavonol sebesar 38,40±1,93 mg kuersetin/g ekstrak kering (Alam, *et al.*, 2012; Gbadamosi & Afolayan, 2016). Pada fraksi etil asetat mengandung flavonoid sebanyak 180±2,51 mg kuersetin/g ekstrak kasar dan pada fraksi diklormetan sebesar 140±2,30 mg kuersetin/g ekstrak kasar (Saddiqe, Maimoona & Khalid, 2013).

Ekstrak etanol daun leunca mempunyai % inhibisi DPPH 62% lebih tinggi dibandingkan buah hanya berkisar 37,66% (Fatima *et al.*, 2017). IC<sub>50</sub> ekstrak alkohol daun leunca terhadap penghambatan DPPH sebesar 3,65 µg/mL lebih tinggi secara signifikan dibanding vitamin C (standar) sebesar 5,65 µg/mL, IC<sub>50</sub> radikal nitrit oksida sebesar 22,45 µg/mL, IC<sub>50</sub> radikal superoksida anion sebesar 5,9 µg/mL, IC<sub>50</sub> radikal hidroksil sebesar 30 µg/mL (Backialakshmi & Kalaimathi, 2015). Ekstrak kloroform daun leunca

mempunyai IC<sub>50</sub> lebih besar pada penghambatan DPPH sebesar 346,15 µg/mL dibandingkan ekstrak etil asetat mempunyai IC<sub>50</sub> pada sebesar 355,5 µg/mL (Sharma *et al.*, 2014). Ekstrak etanol daun leunca mempunyai % inhibisi pada radikal superoksida sebesar 97,32±0,5762/100 g (Thenmozhi, Nagalakshmi & Mahadeva, 2011)..

Pada penghambatan enzim xantin oksidase flavonoid kuersetin, kaempferol dan myricetin mempunyai nilai IC<sub>50</sub> berturut-turut sebesar 2,62±0,13 µM; 1,06±0,03 µM dan 2,38±0,13 µM. Allopurinol sebagai kontrol positif mempunyai IC<sub>50</sub> sebesar 0,24±0,01 µM (Kostic *et al.*, 2015). Penelitian pada ekstrak etanol buah leunca dengan dosis 56 mg/20 g BB dapat menurunkan hiperurisemia dengan % inhibisi sebesar 15,49 % (Anida, 2014). *Hyoscyamus reticulatus*, *Datura metal* dan *Capsicum annum* dengan keluarga solanaceae mempunyai IC<sub>50</sub> berturut-turut sebesar 12,8 µg/mL; 76,75 µg/mL dan >200 µg/mL dapat menghambat enzim xantin oksidase (Mohammad *et al.*, 2010; Kapoor *et al.*, 2017). Adanya kandungan flavonoid yang besar, maka senyawa flavonoid dapat menghambat kerja enzim xantin oksidase (Cos *et al.*, 1998).

## B. Landasan teori

### 1. Leunca (*Solanum nigrum* L.)

Berdasarkan taksonominya, tanaman leunca (*Solanum nigrum* L.) diklasifikasikan sebagai berikut (Potawale *et al.*, 2008) :

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Tracheobionta
Superdivisi	: Spermatophyta
Divisi	: Spermatophyta
Sub divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledonae
Sub kelas	: Asteridae
Ordo	: Solanales
Famili	: Solanaceae
Genus	: Solanum
Spesies	: <i>Solanum nigrum</i> L.



**Gambar 2.1** Tanaman leunca (*Solanum nigrum* L.) (Chauhan *et al.*, 2012)

Nama lain untuk leunca (*Solanum nigrum* L.) yaitu *Zwarte nochtschade* (Belanda), *Morelle moire* (Perancis), *Schwartzter Nochtschatten* (Jerman), (*Black*) *Nightshade* (Inggris), Indonesia yaitu Anti (Mal.), Rampai, Ranti. Sunda: leunca, L. badak, L. hayam, L. manuk, L. pahit, L. piit. Jawa: Ranti. N. Halmahera: Boose (Gal.). Ternate: Bobose (Heyne, 1987).

Tumbuhan ini panjang 0,10 m-1,50 m dengan batang tegak dan buah berbentuk bola dengan garis tengah dari 8-10 mm ketika masak menjadi berwarna hitam mengkilat. Leunca tumbuh tersebar di seluruh nusantara dan di Jawa tumbuh dari dataran rendah hingga  $\pm 3000$  m di atas permukaan laut (Heyne, 1987).

a. Kandungan leunca (*Solanum nigrum* L.)

Kandungan leunca (*Solanum nigrum* L.) mengandung komponen aktif yaitu glikoalkaloid, glikoprotein, polisakarida, asam galat, katekin, *protocatechine acid* (PCA), asam kafein, epikatekin, rutin dan naringenin. Golongan glikoalkaloid diantaranya solamargin, solasonin, dan solanin. *Solanum nigrum* L. mengandung aglikon, solanidin dan 3 gula bagian yaitu glukosa, galaktosa dan ramnosa melekat pada posisi ketiga dari aglikon. Ketiga gula tersebut dinamakan dengan solatriosa. Secara umum, bentuk  $\alpha$ -solanin dapat terhidrolisis menjadi bentuk  $\beta$ -solanin dan  $\gamma$ -solanin. Selain itu, leunca mengandung glikoprotein yang terdiri dari karbohidrat dan protein (Sharma *et al.*, 2011).

Skrining fitokimia ekstrak etanol daun leunca mengandung alkaloid, terpenoid, flavonoid, tanin, saponin, glikosida, steroid dan

glikosida jantung (Karunakar, 2017). *Solanum nigrum* L. yang diisolasi mempunyai kandungan kimia meliputi cuscutin, amarbelin, betasterol, stigmasterol, kaempferol, dulcitol, myricetin, kuersetin, kumarin dan asam oleanolat. Ditemukan pula bioflavonoid baru hasil isolasi dari fraksi etil asetat dan ekstrak n-butanol yaitu (8-hidroksi-3'- $\beta$ -D-galaktosil-isoflavon)-2'-8''-(4'''-hidroksi-flavon)-biflavon dan 2',3',5-trihidroksi-5''-metoksi-3''-O- $\alpha$ -glukosil-3-4'''-O-biflavon (Jeyasree *et al.*, 2014; Sabudak, Ozturk & Alpay, 2017).

b. Khasiat leunca (*Solanum nigrum* L.)

Leunca (*Solanum nigrum* L.) bagian akar dan buah yang belum masak dipercaya menyembuhkan batuk rejan dan asma. Bagian buahnya dapat digunakan untuk mengobati demam, batuk, sariawan pada mulut dan lidah, antifungi (Sikdar & Dutta, 2008; Veer & Gopalakrishnan, 2016; Shamim, Ahmed & Azhar, 2004). Secara tradisional leunca digunakan untuk terapi nyeri, hepatoprotektif, laksatif, tonik, diuretik, antiinflamasi dan demam. Selain itu, tujuan pengobatan leunca yang lain yaitu antitumor, antioksidan, antiinflamasi, hepatoprotektif, diuretik, antipiretik dan gout. Ekstrak daun leunca mempunyai aktivitas antioksidan penangkap radikal bebas DPPH yang poten dengan mekanisme yaitu melindungi kerusakan oksidatif, memperbaiki kerusakan molekul dan membantu melawan penyakit (Jani & Ahir, 2010; Sharma *et al.*, 2011; Jagatheeswari, Bharathi & Ali, 2013; Sharma *et al.*, 2014; Kapoor *et al.*, 2017).

## 2. Hiperurisemia

### a. Pengertian hiperurisemia

Hiperurisemia adalah suatu keadaan dimana terjadi peningkatan kadar asam urat darah diatas normal dengan kadar diatas 7 mg% pada laki-laki dan diatas 6 mg% pada perempuan. Prevalensi penyakit hiperurisemia yang terjadi di masyarakat berkisar antara 2,3%-17,6%. Sebagian orang yang terkena hiperurisemia dalam jangka waktu lama dapat menyebabkan penyakit gout atau pirai. *Gout* merupakan penyakit

yang disebabkan adanya penumpukan kristal monosodium urat pada jaringan akibat meningkatnya kadar asam urat (Putra, 2014).

b. Patofisiologi hiperurisemia

Asam urat berasal dari katabolisme purin yang akan meningkat jika sistem enzim terganggu. Normalnya, manusia memproduksi asam urat sebesar 600-800 mg/hari dan diekskresikan <600 mg melalui urin. Orang hiperurisemia akan mengekskresikan asam urat <600 mg/24 jam pada diet purin. Berbeda dengan diet biasa akan mengekskresikan >1000 mg/24 jam asam urat melalui urin. Hal ini akan menyebabkan penumpukan asam urat di cairan sinovial terjadilah proses inflamasi. Proses ini akan menyebabkan vasodilatasi, permeabilitas vaskular meningkat, aktivasi komplemen dan aktivitas kemotaksis. Leukosit akan memfagosit kristal asam urat sehingga sel akan lisis dan melepaskan enzim proteolitik ke sitoplasma. Reaksi inflamasi akan menimbulkan terjadinya nyeri sendi, eritema, bengkak dan panas. Hal ini jika terjadi terus menerus semakin menumpuknya kristal asam urat akan terjadi gout, nefropati dan tofi (Wells, 2009).

c. Penyebab hiperurisemia

Penyebab hiperurisemia disebabkan karena adanya kelainan metabolik akibat perubahan genetik dan proses biokimiawi pada sintesis purin. Produksi asam urat yang berlebih bisa menyebabkan hiperurisemia dikarenakan gangguan metabolisme purin, faktor genetik, konsumsi makanan tinggi purin, dan beberapa penyakit seperti leukimia dan kanker. Sulitnya ekskresi asam urat karena menurunnya kerja ginjal juga menjadi penyebab terjadinya hiperurisemia. Kondisi ini disebabkan karena meminum obat seperti obat untuk TBC, kondisi lapar, proses ketosis, ibu yang mengalami keracunan waktu hamil, olahraga berat, kadar kalsium meningkat dan beberapa penyakit seperti gagal ginjal, hipertensi dan keracunan timah (Misnadiarly, 2007).

**Tabel 2.1. Obat yang dapat menginduksi terjadinya hiperurisemia**

Diuretik	Ethanol	Ethambutol
Asam nikotinat	Pyrazinamid	Obat sitotoksik
Salisilat (<2g/hari)	Levodopa	Siklosporin

Sumber : (Hawkins & Rahn, 2005)

Penyebab penyakit ini juga dibedakan berdasarkan macam penyakitnya:

- 1) Hiperurisemia primer yaitu hiperurisemia tidak diketahui penyebabnya.
- 2) Hiperurisemia sekunder yaitu hiperurisemia yang disebabkan karena penyakit lain.
- 3) Hiperurisemia tersier (Idiopatik) yaitu hiperurisemia yang tidak jelas penyebab primer, kelainan genetik dan tidak adanya kelainan fisiologi atau anatomi yang jelas.

d. Klasifikasi hiperurisemia

1) Hiperurisemia primer

Hiperurisemia ini dengan kelainan molekular yang belum jelas dikarenakan *underexcretion* (80-90%) dan *overproduction* (10-20%). *Underexcretion* disebabkan oleh faktor genetik dan gangguan pengeluaran asam urat pada ginjal. Contoh penyakit akibat *underexcretion* yaitu *Familial Juvenile Hyperuricaemic Nephropathy* dimana ginjal mengalami gangguan pada sekresi tubulus ginjal akibat penurunan pengeluaran asam urat yang diturunkan secara genetik.

Hiperurisemia yang dikarenakan kelainan enzim dengan meningkatnya kadar enzim *Phoribosylpyrophosphatase* (PRPP) synthetase dan menurunnya kadar enzim *Hypoxanthine Phosphoribosyl transferase* (HPRT) diperkirakan terjadi hanya 1%. Peningkatan kadar enzim PRPP menyebabkan terbentuknya purin nukleotida pada sintesis *de novo* sehingga terjadi hiperurisemia *overproduction*. Mekanisme yang terjadi pada hiperurisemia *overproduction* yaitu kekurangan enzim menyebabkan berkurangnya *inosine monophosphate* (IMP) atau purin nukleotida yang berefek *feed back inhibition* pada proses biosintesis *de novo*, penurunan pemakaian ulang menyebabkan peningkatan jumlah PRPP yang tidak

digunakan dan kekurangan enzim HPRT menyebabkan hipoxantin tidak bisa diubah kembali menjadi IMP sehingga terjadi peningkatan oksidasi hipoxantin menjadi asam urat (Putra, 2014).

## 2) Hiperurisemia sekunder

Hiperurisemia sekunder terjadi karena aktivitas yang meningkat dari biosintesis *de novo* karena berkurangnya enzim HPRT pada sindrom *Lesh-Nyhan*, enzim *glucosa 6-phosphatase* pada *glycogen storage diseases* dan enzim *fructose 1-phosphatase aldolase*. Ketika biosintesis *de novo* ini mengalami peningkatan terjadi hiperurisemia tipe *overproduction*. Sindrom *Lesh-Nyhan* yang disebabkan karena enzim HPRT diturunkan secara *X-linked* yang bersifat resesif terjadi pada usia anak-anak dan remaja. Ciri-ciri sindrom ini yaitu bentuk tubuh yang pendek, hepatomegali dan gejala hipoglikemia yang terjadi berulang. Penurunan enzim *glucosa 6-phosphatase* menyebabkan penyakit yang dinamakan dengan *glycogen storage diseases* tipe 1. Enzim ini mengubah *glucosa 6-phosphate* menjadi glukosa sehingga ketika terjadi kekurangan terjadi hipoglikemia. Untuk mengatasi ini tubuh akan mengalami proses glikogenolisis yaitu pemecahan glikogen yang ada di hati. Selain penyakit *glycogen storage diseases* I, terdapat juga *glycogen storage diseases* tipe III, V dan VI yang disebut juga dengan hiperurisemia miogenik. Penyakit ini mengalami pemecahan ATP yang tinggi menjadi *adenosin monophosphate* (AMP) dan berlanjut membentuk *inosine monophosphate* (IMP) atau purin nukleotida (Putra, 2014).

### e. Pemeriksaan penunjang hiperurisemia

Pemeriksaan penunjang untuk penyakit hiperurisemia meliputi pemeriksaan anamnesis, pemeriksaan fisik dan pemeriksaan penunjang lain yang diperlukan. Tujuan pemeriksaan anamnesis yaitu untuk melihat faktor keturunan dari penderita atau penyakit lain sebagai penyebab sekunder dari hiperurisemia. Penyebab sekunder berupa konsumsi alkohol, minum obat-obatan tertentu, adanya kelainan darah, kelainan ginjal dan lainnya. Pemeriksaan fisik juga diperlukan untuk mengetahui

penyakit hiperurisemia berupa tanda-tanda terjadinya anemia atau *phletora*, pembesaran organ limfoid, keadaan kardiovaskular dan tekanan darah, keadaan dan tanda kelainan ginjal serta kelainan pada sendi. Pemeriksaan penunjang bertujuan untuk memastikan penyebab hiperurisemia. Pemeriksaan rutin yang dilakukan yaitu pemeriksaan darah rutin untuk asam urat darah dan kreatinin darah, pemeriksaan urin untuk asam urat urin 24 jam dan kreatinin urin 24 jam serta pemeriksaan lainnya (Putra, 2014).

f. Penyakit akibat hiperurisemia

Kondisi hiperurisemia dapat menyebabkan beberapa penyakit lain diantaranya:

1) *Arthritis gout*

Orang awam sering menyebut penyakit ini dengan sebutan reumatik. Kondisi ini jika dibiarkan dapat berpengaruh pada kerusakan sendi. Hal ini dikarenakan adanya penumpukan kristal monosodium urat (MSU) di sendi sehingga menyebabkan peradangan dan memicu penyakit ini. Selain MSU, senyawa lain yang dapat menyebabkan reumatik yaitu kalsium pirofosfat dihidrat, kalsium hidroksi apatit, kristal oksalat, kristal lipid, kristal protein, dan kristal kalsium karbonat. Seseorang yang terkena *arthritis gout* timbul nyeri yang sangat hebat pada sendi, terjadi peradangan sendi, terjadi kerusakan sendi dan dapat menyebabkan kecacatan (Misnadiarly, 2007).

2) Tofi

Tofi adalah timbunan kristal monosodium urat (MSU) di sekitar persendian tulang rawan, sinovial dan tendon. Timbulnya tofi dikarenakan meningkatnya kadar asam urat di dalam darah, faktor setempat dan fungsi ginjal. Tofi akan terbentuk jika kadar asam urat mencapai 10-11 mg/L. Tofi ini diduga telah terjadi pengendapan natrium urat di ginjal. Kondisi yang menyebabkan timbulnya tofi yaitu penderita telah menderita lebih dari 10 tahun, serangan pertama terjadi pada usia muda dan sangat berat, tidak diobati, mendapat serangan berulang dan tingginya kadar asam urat di darah (Misnadiarly, 2007).

### 3) *Nephropati gout*

Pada kondisi penyakit ini akan timbul mikrotofii akibat *gout* dan hiperurisemia. Mikrotofii ini akan menyumbat dan merusak glomerulus di ginjal (Misnadiarly, 2007).

### 4) Batu urat di ginjal

Penyakit ini disebabkan karena meningkatnya konsentrasi asam urat di urin yang dapat terjadi pada 10 – 25% penderita *gout*. Kejadian ini akan berlangsung progresif jika kadar asam urat di dalam darah >13 mg/dl. Untuk mencegah penyakit ini penderita dianjurkan konsumsi minum dalam jumlah banyak, menghindari konsumsi makanan yang mengandung purin tinggi dan mengontrol keasaman purin (Misnadiarly, 2007).

### g. Pengobatan hiperurisemia

Pengobatan ini dapat dibedakan menjadi :

#### 1) Pengobatan non farmakologi

Hal ini dapat dilakukan dengan mengurangi makanan tinggi purin, mengurangi konsumsi alkohol, perbanyak minum air dan mengurangi berat badan (obesitas).

#### 2) Pengobatan farmakologi

**Tabel 2.2 Terapi Farmakologi Hiperurisemia dan *Gout***

Terapi	Mekanisme
NSAIDs	Inhibitor COX-2
Kolkisin	Inhibitor IL-1 beta, Down-regulation tyrosin kinase dan fosfolipase di neutrofil, Inhibisi agen kemotaksis, produksi superoksida anion dan pelepasan enzim liposomal
Kortikosteroid	Mencegah transkripsi aktivasi faktor pro-inflamasi dengan menghambat sitokin, enzim, reseptor dan molekul adhesi
Allopurinol	Inhibitor XO
Febuxostat	Inhibitor XO
Sulphinpyrazon	Inhibitor URAT1
Probeneside	Inhibitor URAT1

Sumber : (Gliozzi *et al.*, 2016)

#### a) NSAID

Efek golongan NSAID dapat menghambat prostaglandin melalui *up-regulated* COX-2. Obat NSAID sebagai pengobatan

utama dikarenakan efikasi yang baik dan toksisitasnya yang rendah. Obat NSAID yang efektif yaitu indometasin, naproxen dan sulindac. Efek samping penggunaan obat ini menyerang sistem pencernaan, ginjal, jantung dan SSP (Gliozzi *et al.*, 2016).

b) Kolkisin

Kolkisin dengan mekanisme menekan inflamasi melalui memblok IL-1  $\beta$  yang terlibat pada proses stimulasi monosit oleh monosodium urat. Obat ini termasuk obat antimitosis efektif untuk mengobati gout akut. Penggunaan obat oral ini diawali dosis 1 mg kemudian 0,5 mg tiap jam sampai berkurangnya gejala. Kontraindikasi kolkisin tidak bisa digunakan bersamaan dengan NSAID dan kortikosteroid karena indeks terapi yang sempit. Efek samping obat ini diantaranya mual, muntah, diare, neutropenia dan *axonal neuromyopathy* (Gliozzi *et al.*, 2016).

c) Kortikosteroid

Obat ini efektif dapat digunakan untuk *arthritis gout* akut namun dapat berpengaruh pada tekanan darah dan kadar glukosa. Kontraindikasi obat jika obat NSAID atau kolkisin tidak berefek. Obat yang digunakan yaitu oral prednison dosis 30-60 mg/hari, injeksi metyl prednisolon asetat, triamcinolon hexacetonide 20-40 mg (Gliozzi *et al.*, 2016).

d) Inhibitor xantin oksidase

Inhibitor xantin oksidase akan mengurangi stres oksidatif vaskular dan mengatur sirkulasi kadar asam urat. Salah satu yang potensial sebagai inhibitor xantin oksidase yaitu allopurinol. Allopurinol merupakan metabolit oxypurinol yang menghambat perubahan hipoxantin menjadi xantin dan xantin menjadi asam urat. Penggunaan oral diawali dengan dosis 100 mg/hari kemudian meningkat 100 mg/hari dengan rentang 1 minggu. Obat ini dapat menurunkan kadar asam urat sampai  $< 6\text{mg/dL}$ . Namun, efek samping penggunaan obat ini seperti ruam kulit, urtikaria,

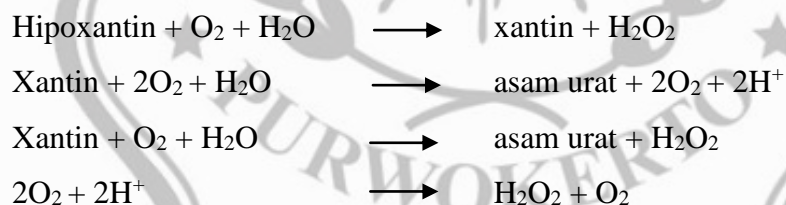
leukopenia, gangguan gastrointestinal, sakit kepala dan dapat meningkatkan keparahan *gout* akut (Gliozzi *et al.*, 2016).

e) Uricosurik

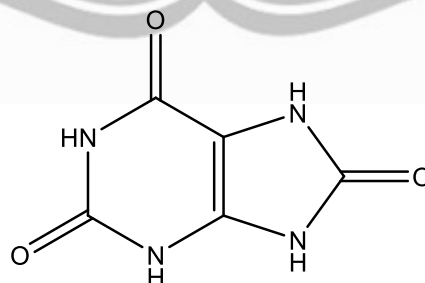
Urikosurik akan meningkatkan *clearance* asam urat pada ginjal melalui penghambatan reabsorpsi asam urat di tubular ginjal. Terapi dengan golongan ini dimulai dengan dosis rendah untuk mencegah terjadinya urikosuria. Efek samping golongan obat ini yaitu iritasi saluran pencernaan, ruam, hipersensitivitas dan terbentuk endapan pada arthritis *gout* akut (Hawkins & Rahn, 2005).

3. Xantin oksidase (XO)

Xantin oksidase (XO) adalah enzim yang mengkatalisis proses hidroksilasi dari hipoxantin menjadi xantin dan xantin menjadi asam urat yang akan diekskresikan melalui ginjal (Kostic *et al.*, 2015). Xantin oksidase mempunyai dua tempat aktif yang mengandung 1 atom molibdenum, dua ikatan besi-sulfur dan satu molekul FAD (Olson, *et al.*, 1974). Fungsi xantin oksidase dapat mengkatalisis reduksi oksigen, sitokrom, nitrat, ferisianida, aldehyd dan purin (Fridovich & Handler, 1962). Persamaan reaksinya sebagai berikut:



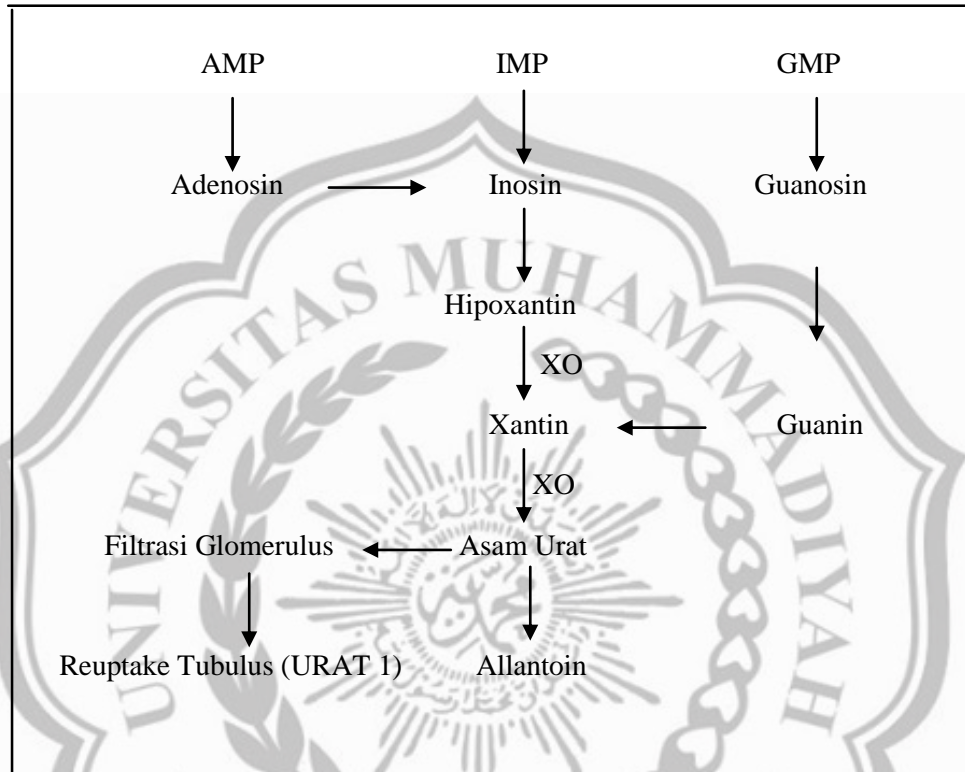
4. Asam urat



**Gambar 2.2 Struktur asam urat (Sharma, 2012)**

Kadar asam urat lebih tinggi pada laki-laki dibanding perempuan sehingga penyakit asam urat seringkali terjadi pada laki-laki dengan

bertambahnya umur. Hal ini dikarenakan pada wanita terdapat hormon estrogen yang berperan dalam ekskresi asam urat melalui urin. Proses ini berlangsung dengan bantuan ginjal. Kadar asam urat yang tinggi menyebabkan fungsi ginjal tidak berjalan normal sehingga asam urat akan mengendap terbawa oleh darah ke daerah persendian (Novianti, 2015).



**Gambar 2.3 Mekanisme terbentuknya asam urat (Gustafsson & Unwin,2013)**

Adenosin monofosfat (AMP) diubah menjadi inosin melalui dua mekanisme berbeda. Pertama, gugus amino melalui proses deaminase menjadi bentuk inosin monofosfat (IMP) dan diikuti proses defosforilasi dengan nukleotidase menjadi bentuk inosin. Kedua, gugus fosfat oleh nukleotidase diubah menjadi adenosin dan diikuti proses deaminase menjadi inosin. Guanin monofosfat (GMP) diubah menjadi guanosis oleh nukleotidase. Nukleosida, inosin dan guanosis diubah menjadi hipoxantin dan guanin oleh enzim purin nukleosida fosforilase. Hipoxantin dioksidasi menjadi xantin oleh xantin oksidase. Xantin dioksidasi kembali oleh xantin oksidase menjadi produk akhir yaitu asam urat. Pengubahan ini dikatalisis juga oleh xantin oksidoreduktase.

Pada mamalia terdapat enzim urikase (urat oksidase) yang efektif dalam menurunkan kadar asam urat. Enzim ini berperan mengoksidase asam urat menjadi allantoin yang larut dalam air sehingga bisa diekskresikan melalui urin. Namun, pada manusia enzim ini tidak berfungsi sehingga menimbulkan terjadinya hiperurisemia. Kelarutan asam urat di air sangat rendah pada manusia dimana rata-rata konsentrasi asam urat di darah berkisar 6,8 mg/dL. Ketika asam urat lebih tinggi dari 6,8 mg/dL akan terbentuk kristal asam urat yang disebut monosodium urat (MSU) (Jin, 2012; Gliozzi *et al.*, 2016). Kadar asam urat tergantung pada jenis kelamin, umur, berat badan, tekanan darah, fungsi ginjal, minum alkohol dan makan makanan yang tinggi purin. Kadar ini akan meningkat ketika masa pubertas pada laki-laki tetapi pada wanita tetap rendah sampai menopause akibat adanya efek urikosurik estrogen (Dianati, 2015).

#### 5. Spektrofotometri UV-Tampak

Spektrofotometri yaitu metode pengukuran suatu penyerapan energi cahaya pada panjang gelombang tertentu dengan menggunakan alat yang disebut spektrofotometer. Pada spektrofotometer terjadi interaksi antara radiasi dan materi. Tujuan penggunaan spektrofotometri yaitu untuk mengidentifikasi suatu senyawa baik tunggal maupun multikomponen. Syarat suatu pelarut yang digunakan yaitu harus dapat melarutkan sampel dan tidak boleh menyerap cukup banyak. Contoh beberapa pelarut yang biasa digunakan yaitu metanol, sikloheksan, heksana, dietil eter, etanol dan dioksan (Day & Underwood, 1999).

Spektrofotometri UV-tampak dapat digunakan untuk pengujian aktivitas xantin oksidase. Uji ini dengan menggunakan dapar karbonat atau dapar fosfat pH 7,4 pada suhu 25<sup>0</sup> C–34<sup>0</sup> C. Spektrofotometri akan mengukur terbentuknya asam urat dari substrat xantin atau hipoxantin pada panjang gelombang 295 nm. Biasanya terdiri dari campuran xantin sebagai substrat dan sampel. Reaksi ini ditambahkan dengan enzim xantin oksidase. Nilai yang tinggi mengindikasikan kondisi patologis (Kostic *et al.*, 2015).

Cara kerja dari spektrofotometer yaitu larutan yang akan dianalisis dan larutan blanko ditempatkan pada kuvet yang berbeda dengan saling

berhadapan. Kedua larutan tersebut disinari dengan sumber radiasi dengan panjang gelombang tertentu 200-400 nm untuk daerah ultraviolet dan 400-800 nm untuk daerah tampak. Sinar yang diberikan berupa sinar polikromatis mengenai monokromator diuraikan menjadi sinar monokromatis. Sinar monokromatis ini hanya mempunyai 1 panjang gelombang tertentu. Sinar menuju kuvet yang berisi larutan terjadi proses penyerapan cahaya dan cahaya diteruskan. Cahaya yang diteruskan akan dianggap sebagai transmittan. Cahaya yang diserap oleh larutan maka di dalam larutan terjadi perpindahan elektron yang disebut dengan eksitasi. Eksitasi berarti perpindahan elektron dari energi rendah ke energi yang lebih tinggi. Proses tersebut mengeluarkan energi dimana energi akan ditangkap oleh detektor dibaca menjadi hasil absorbansi. Absorbansi yang baik harus berkisar antara 0,2-0,8 (Khopkar, 2007).

a. Bagian-bagian Spektrofotometer

Spektrofotometer disusun oleh 4 bagian alat yaitu:

- 1) Sumber radiasi yang biasa digunakan yaitu lampu deuterium (daerah UV) atau lampu wolfram (daerah tampak).
- 2) Monokromator digunakan untuk menguraikan sinar polikromatis menjadi sinar monokromatis sehingga lebih mudah menembus kuvet. Monokromator dianalogikan sebagai suatu celah yang berbentuk prisma atau kisi difraksi. Pada daerah ultraviolet prisma yang digunakan terbuat dari kuarsa. Berbeda halnya dengan prisma berbentuk kaca digunakan pada daerah tampak.
- 3) Sel absorpsi atau disebut dengan kuvet mempunyai tebal 10 mm yang terbuat dari kuarsa atau gelas digunakan untuk wadah sampel. Kuvet mempunyai karakteristik harus bisa meneruskan energi cahaya menuju panjang gelombang yang dituju.
- 4) Detektor berfungsi untuk memberikan respon terhadap cahaya dengan panjang gelombang tertentu yang diterima dengan mengubah energi cahaya menjadi suatu isyarat listrik.
- 5) Amplifier merupakan rangkaian alat yang dapat membaca isyarat listrik (Khopkar, 2007).

b. Pola spektrum flavonoid pada spektrofotometri UV-Tampak

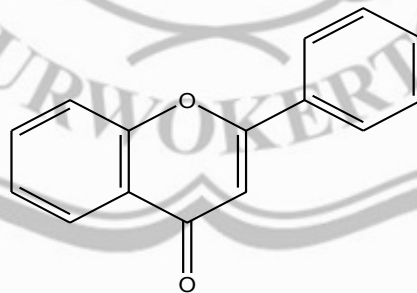
Penentuan flavonoid dengan spektrofotometri bertujuan untuk menentukan jenis golongan dari flavonoid dan pola oksigenasi dengan menggunakan pereaksi geser. Hal ini sangat menguntungkan sebab sampel yang diperlukan hanya sedikit sekitar 0,1 mg dalam 10 ml metanol. Penggunaan metanol lebih sering digunakan untuk analisis ini dibanding dengan etanol dimana hasil dengan pelarut etanol kurang memuaskan.

**Tabel 2.3 Rentangan serapan spektrum UV-Tampak flavonoid**

Pita II (nm)	Pita I (nm)	Jenis flavonoid
250 – 280	310 – 350	Flavon
250 – 280	330 – 360	Flavonol (3-OH tersubstitusi)
250 – 280	350 – 385	Flavonol (3-OH bebas)
245 – 275	310 – 330 bahu	Isoflavon
	Kira-kira 320 puncak	Isoflavon (5-deoksi-6,7-dioksidikasi)
275 – 295	300 – 330 bahu	Flavanon dan dihidroflavonol
230-270 (kekuatan rendah)	340 – 390	Khalkon
230 – 270 (kekuatan rendah)	380 – 430	Auron
230 – 270 (kekuatan rendah)	465 – 560	Antosianidin dan antosianin

Sumber : (Markham, 1988)

6. Flavonoid



**Gambar 2.4 Struktur umum Flavonoid (Markham, 1988)**

Flavonoid termasuk golongan fenol terbesar yang ada di alam. Strukturnya terdiri dari 15 atom karbon dengan 2 cincin aromatik yaitu  $C_6-C_3-C_6$ . Flavonoid ini berasal dari jalur sikimat dan asetat-malonat. Macam flavonoid terdiri dari O-glikosida, C-glikosida, flavonoid sulfat, biflavonoid dan aglikon flavonoid aktif-optik (Markham, 1988).

Flavonoid sangat dikenal sebagai antioksidan yang berperan dalam menetralkan radikal bebas, menguraikan peroksida dan mengkelat ion logam. Flavonoid yang berkontribusi pada penangkapan radikal disebabkan oleh keberadaan glikosida dan hidroksi bebas pada struktur melalui proses khelating (Wong *et al.*, 2014). Flavonoid yang kurang polar seperti isoflavon, flavanon, flavon termetilasi dan flavonol diekstraksi dengan kloroform, diklorometan, dietil eter dan etil asetat. Pada glikosida flavonoid dan aglikon yang lebih polar akan diekstraksi dengan alkohol atau campuran alkohol-air (Marston & Hostettmann, 2006, Markham, 1988).

a. Macam-macam identifikasi flavonoid

1) Kromatografi Kertas (KKt)

Kertas yang digunakan pada KKt yaitu kertas whatman 3MM (46 x 7 cm). Larutan ekstrak ditotolkan pada kertas kira-kira 8 cm dari tepi kertas dan 3 cm dari titik akhir. Pengembang yang digunakan BAA (Butanol : asam asetat : air) atau TBA (t-butanol : asam asetat : air). Cara mendeteksinya dengan memakai pereaksi semprot yang bertujuan untuk meningkatkan kepekaan. Macam-macam pereaksinya yaitu  $\text{AlCl}_3$  5%, kompleks difenil-asam borat-etanolamin, asam sulfanilat yang terdiazotasi dan vanilin-HCl.

Bercak yang disemprot dengan  $\text{AlCl}_3$  menunjukkan 5-hidroksi-flavonoid akan berfluoresensi kuning pada UV 366 nm. Penyemprot kompleks difenil-asam borat-etanolamin menunjukkan bahwa 3',4'-dihidroksi flavon dan 3',4'-dihidroksi flavonol akan berwarna jingga pada sinar UV atau tampak sedangkan senyawa 4'-hidroksi-flavon dan 4'-hidroksi-flavonol berupa bercak hijau kuning. Pereaksi asam sulfanilat yang terdiazotasi menunjukkan keberadaan gugus hidroksi fenol berwarna kuning, jingga atau merah. Bercak yang disemprot vanilin-HCl berwarna merah atau merah lembayung menunjukkan adanya katekin dan proantosianidin dan jika lambat menunjukkan flavanon dan dihidroflavonol (Markham, 1988).

**Tabel 2.4 Warna bercak yang disinari dengan UV**

Tanpa NH <sub>3</sub>	Dengan uap NH <sub>3</sub>	Jenis flavonoid yang mungkin
Lembayung gelap	Kuning, hijau-kuning atau hijau	<ul style="list-style-type: none"> <li>•Biasanya 5-OH flavon atau flavonol (tersulih pada 3-O dan mempunyai 4'-OH)</li> <li>•Kadang 5-OH flavanon dan 4'-OH khalkon tanpa OH pada cincin B</li> </ul>
	Perubahan warna sedikit atau tanpa perubahan warna	<ul style="list-style-type: none"> <li>•Biasanya flavon atau flavonol tersulih pada 3-O mempunyai 5-OH tetapi tanpa 4'-OH bebas</li> <li>•Beberapa 6- atau 8-OH flavon dan flavonol tersulih pada 3-O serta mengandung 5-OH</li> <li>•Isoflavon, dihiroflavonol, biflavonil dan beberapa flavanon yang mengandung 5-OH</li> <li>•Khalkon yang mengandung 2'- atau 6'-OH tetapi tidak mengandung 2- atau 4-OH bebas</li> </ul>
	Biru muda	Berupa 5-OH flavanon
	Merah atau jingga	Khalkon yang mengandung 2- dan atau 4-OH bebas
Fluoresensi biru muda	Fluoresensi hijau-kuning atau hijau-biru	<ul style="list-style-type: none"> <li>•Flavon dan flavanon yang tak mengandung 5-OH misalnya 5-OH-glikosida</li> <li>•Flavonol tanpa 5-OH bebas tetapi tersulih pada 3-OH</li> </ul>
	Perubahan warna sedikit atau tanpa perubahan	Isoflavon yang tak mengandung 5-OH bebas
	Fluoresensi murup biru muda	Isoflavon yang tak mengandung 5-OH bebas
Tak nampak	Fluoresensi biru muda	Isoflavon tanpa 5-OH bebas
Kuning redup dan kuning, atau fluoresensi jingga	Perubahan warna sedikit atau tanpa perubahan warna	Flavonol yang mengandung 3-OH bebas dan mempunyai atau tak mempunyai 5-OH bebas (kadang-kadang berasal dari dihidroflavonol)
Fluoresensi kuning	Jingga atau merah	Auron yang mengandung 4'-OH bebas dan beberapa 2-atau 4-OH khalkon
Hijau-kuning, hijau-biru atau hijau	Perubahan warna sedikit atau tanpa perubahan warna	Auron yang tak mengandung 4'-OH bebas dan flavanon tanpa 5-OH bebas Flavonol yang mengandung 3-OH bebas dan disertai atau tanpa 5-OH bebas
Merah jingga redup atau merah senduduk	Biru	Antosianidin 3-glikosida
Merah jambu atau fluoresensi kuning	Biru	Sebagian besar antosianidin 3,5-diglikosida

**Sumber : (Markham, 1988)**

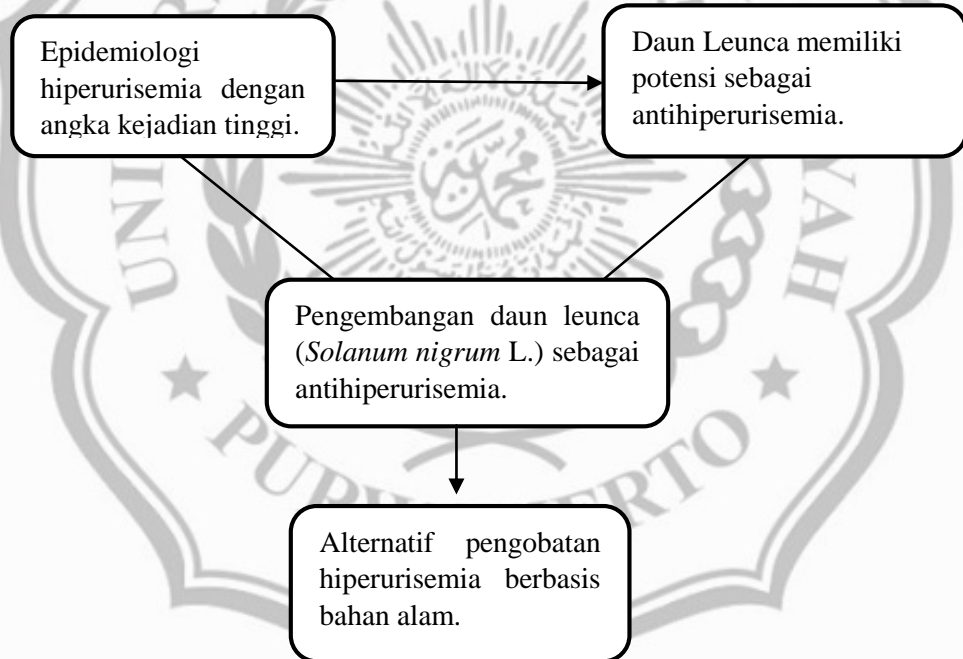
## 2) Kromatografi Kolom skala besar

Cara ini dengan menempatkan larutan ekstrak di atas kolom yang berisi serbuk penjerap, dilanjutkan dengan elusi memakai pelarut yang cocok. Kolom yang digunakan beragam macamnya yaitu selulosa, silika, poliamida, gel sephadex (deret G) dan gel sephadex (LH-20). Jika diperlukan pemisahan flavonoid yang baik, maka mengelusnya harus perlahan-lahan (Markham, 1988).

## 3) Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Tujuan penggunaan KLT yaitu mencari pelarut, analisis fraksi yang diperoleh, hidrolisis atau metilasi, identifikasi flavonoid secara ko-kromatografi, isolasi flavonoid murni. Pelat KLT yang dianjurkan terbuat dari plastik karena tembus sinar UV (Markham, 1988).

## 7. Kerangka konsep



**Gambar 2.5 Kerangka konsep penelitian**

## 8. Hipotesis

Berdasarkan data-data penelitian, muncul hipotesis yaitu fraksi etil asetat daun leunca mempunyai aktivitas antihiperurisemia lebih besar dibandingkan ekstrak etanol dan fraksi diklormetan diduga adanya kandungan senyawa flavonoid yang berperan.