

**KARAKTERISASI DAN IDENTIFIKASI KANDUNGAN KIMIA
DAUN SALAM SERTA UJI EFEK PENGHAMBATAN ENZIM
XANTIN OKSIDASE EKSTRAK ETANOL DAUN SALAM (*Eugenia
polyantha* Wight.)**

SKRIPSI

Diajukan untuk Memenuhi Salah Satu Syarat

Memperoleh Gelar Sarjana Farmasi (S.Farm.)

Program Studi Farmasi



Oleh:

Agnes Puspitasari

NIM : 148114154

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SANATA DHARMA
YOGYAKARTA**

2018

**KARAKTERISASI DAN IDENTIFIKASI KANDUNGAN KIMIA
DAUN SALAM SERTA UJI EFEK PENGHAMBATAN ENZIM
XANTIN OKSIDASE EKSTRAK ETANOL DAUN SALAM (*Eugenia
polyantha* Wight.)**

SKRIPSI

Diajukan untuk Memenuhi Salah Satu Syarat

Memperoleh Gelar Sarjana Farmasi (S.Farm.)

Program Studi Farmasi



Oleh:

Agnes Puspitasari

NIM : 148114154

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SANATA DHARMA
YOGYAKARTA**

2018

Persetujuan Pembimbing

**KARAKTERISASI DAN IDENTIFIKASI KANDUNGAN KIMIA
DAUN SALAM SERTA UJI EFEK PENGHAMBATAN ENZIM
XANTIN OKSIDASE EKSTRAK ETANOL DAUN SALAM (*Eugenia
polyantha* Wight.)**

Skripsi yang diajukan oleh:

Agnes Puspitasari

NIM : 148114154

telah disetujui oleh:

Pembimbing Utama



Dr. Erna Tri Wulandari, M.Si., Apt.

tanggal 15 Maret 2018.

Pengesahan Skripsi Berjudul

**KARAKTERISASI DAN IDENTIFIKASI KANDUNGAN KIMIA
DAUN SALAM SERTA UJI EFEK PENGHAMBATAN ENZIM
XANTIN OKSIDASE EKSTRAK ETANOL DAUN SALAM (*Eugenia
polyantha* Wight.)**

Oleh:

Agnes Puspitasari

NIM : 148114154

Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi

Fakultas Farmasi

Universitas Sanata Dharma

pada tanggal: 12 April 2018

Mengetahui

Fakultas Farmasi

Universitas Sanata Dharma

Dekan

Aris Widayani, M.Si., Ph.D., Apt.

Panitia Penguji:

1. Dr. Erna Tri Wulandari, M.Si., Apt.

2. Damiana Sapta Candrasari, S.Si. M.Sc.

3. Florentinus Dika Octa Riswanto, M.Sc.

Tanda tangan



PERNYATAAN KEASLIAN KARYA

Saya menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang saya tulis tidak memuat karya atau bagian karya orang lain, kecuali yang telah disebutkan dalam kutipan dan daftar pustaka, sebagaimana layaknya karya ilmiah.

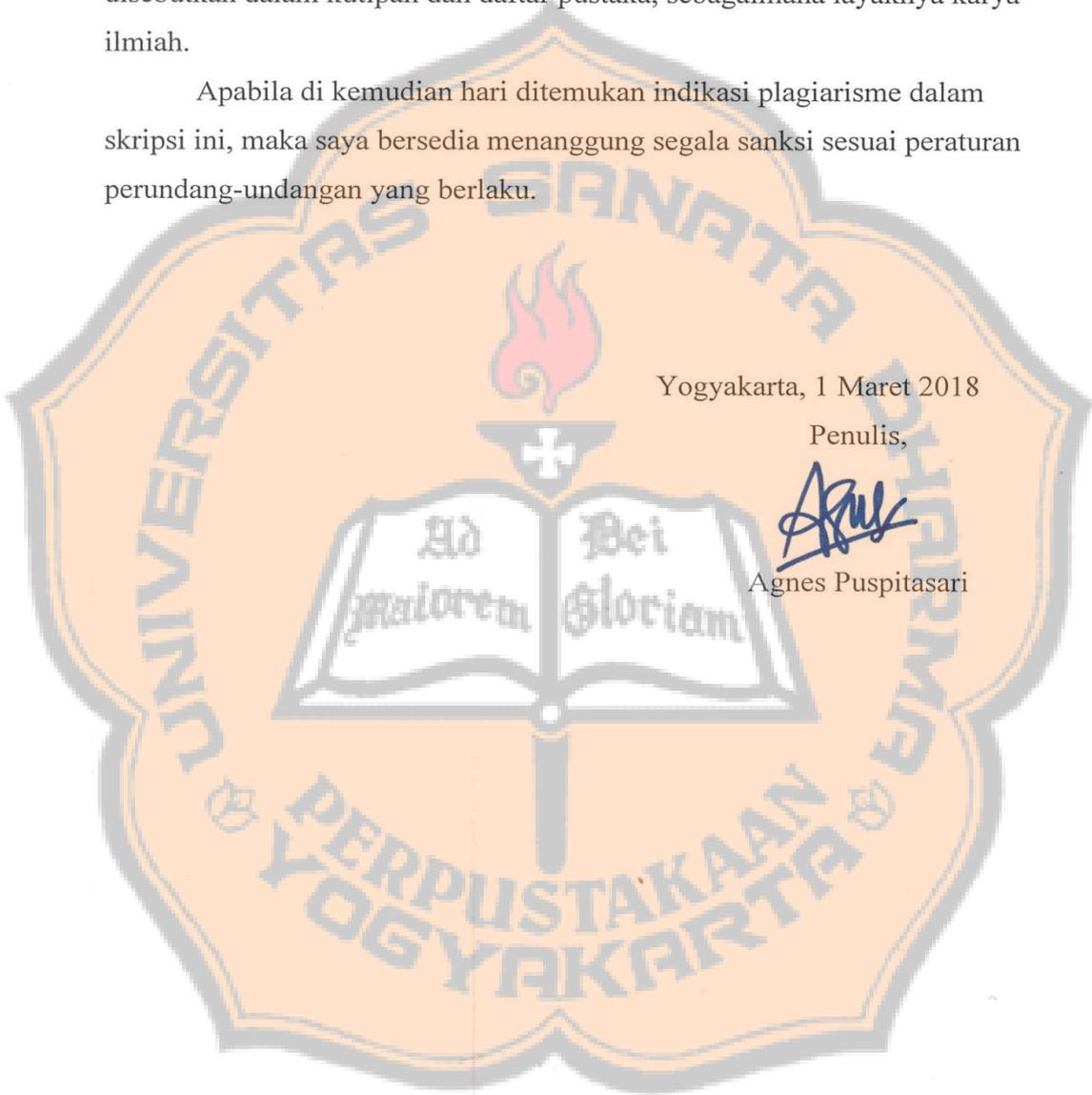
Apabila di kemudian hari ditemukan indikasi plagiarisme dalam skripsi ini, maka saya bersedia menanggung segala sanksi sesuai peraturan perundang-undangan yang berlaku.

Yogyakarta, 1 Maret 2018

Penulis,



Agnes Puspitasari



**LEMBAR PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA
ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

Yang bertanda tangan di bawah ini, saya mahasiswa Universitas Sanata
Dharma :

Nama : Agnes Puspitasari

Nomor Mahasiswa : 148114154

Demi perkembangan ilmu pengetahuan, saya memberikan kepada
Perpustakaan Universitas Sanata Dharma karya ilmiah saya yang berjudul :

**KARAKTERISASI DAN IDENTIFIKASI KANDUNGAN KIMIA
DAUN SALAM SERTA UJI EFEK PENGHAMBATAN ENZIM
XANTIN OKSIDASE EKSTRAK ETANOL DAUN SALAM (*Eugenia
polyantha* Wight.)**

beserta perangkat yang diperlukan (bila ada). Dengan demikian saya
memberikan kepada Perpustakaan Universitas Sanata Dharma hak untuk
menyimpan, mengalihkan dalam bentuk media lain, mengelola dalam bentuk
pangkalan data, mendistribusikan secara terbatas, dan mempublikasikannya di
internet atau media lain untuk kepentingan akademis tanpa perlu meminta ijin
dari saya ataupun memberi loyalti kepada saya selama tetap mencantumkan
nama saya sebagai penulis.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di Yogyakarta

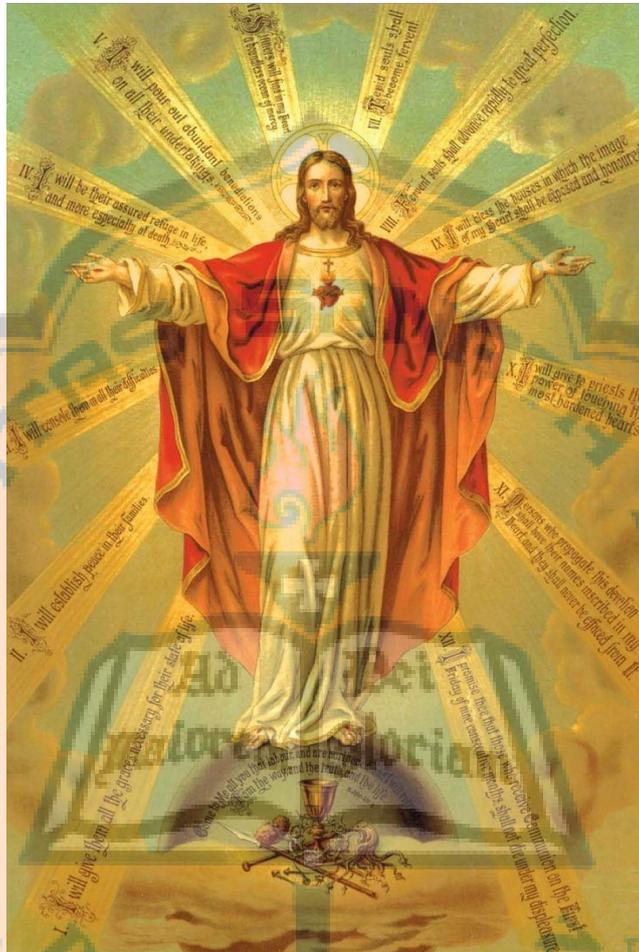
Pada tanggal : 1 Maret 2018

Yang menyatakan



Agnes Puspitasari

HALAMAN PERSEMBAHAN



“I can do all things through Christ who strengthens me” - Philipians 4:13

“There is surely a future hope for you and your hope will not be cut off -

Proverb 23:18

Saya persembahkan naskah skripsi ini untuk
Tuhan Yesus, Bunda Maria, Santa Agnes dan Santa Elisabeth yang selalu
membimbing, menuntun dan memberkati langkah saya
Dan juga untuk Mama, Papa, dan Resti yang selalu mendukung dan
memberikan semangat kepada saya

PRAKATA

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa, atas berkat, kasih, dan penyertaan-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penyusunan naskah skripsi dengan judul **“KARAKTERISASI DAN IDENTIFIKASI KANDUNGAN KIMIA DAUN SALAM SERTA UJI EFEK PENGHAMBATAN ENZIM XANTIN OKSIDASE EKSTRAK ETANOL DAUN SALAM (*Eugenia polyantha* Wight.)”** sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana Farmasi (S. Farm.) Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma Yogyakarta. Penelitian ini merupakan bagian dari penelitian Dr. Erna Tri Wulandari, M.Si., Apt. dengan nomor SK 025/LPPM/USD/IV/2017 dengan judul proposal **“Efek Penghambatan Enzim Xantin Oksidase Ekstrak Daun Sidaguri (*Sida rhombifolia* L) dan daun Salam (*Eugenia polyantha* Wight.)”**

Proses penyusunan naskah skripsi ini tidak luput dari peran, dukungan, dan bantuan berbagai pihak, maka pada kesempatan kali ini penulis ingin menyampaikan terimakasih kepada :

1. Ibu Aris Widayati, M.Si., Ph, D., Apt., selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma Yogyakarta
2. Ibu Dr. Erna Tri Wulandari, M. Si., Apt., selaku dosen pembimbing akademik dan dosen pembimbing skripsi atas bimbingan dan pengarahan selama proses penelitian hingga penyusunan naskah skripsi ini.
3. Ibu Damiana Sapta Candrasari, S.Si. M.Sc., selaku dosen penguji skripsi atas ide dan saran yang membangun penelitian ini.
4. Bapak Florentinus Dika Octa Riswanto, M. Sc., selaku dosen dosen penguji skripsi atas ide dan saran yang membangun penelitian ini.
5. Ibu Dr. Dewi Setyaningsih, M. Sc., Apt., selaku Kepala Laboratorium Fakultas Farmasi atas izin penggunaan fasilitas laboratorium untuk penelitian ini.
6. Bapak Yohanes Wagiran selaku Laboran Laboratorium Farmakognosi Fitokimia atas bantuan dan arahan selama proses penelitian berlangsung.

7. Orang tua dan adik tercinta, Papa, Mama, Resti yang selalu memberikan doa, motivasi, semangat, dan dukungan moril maupun materil sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian hingga penyusunan naskah skripsi ini dengan lancar.
8. Keluarga penulis, Uu Toto, Ii Lita, dan Ii Enny atas doa dan dukungan moril maupun materil.
9. Teman-teman seperjuangan skripsi: Sheela Apriana, Avila C. I. Raha, Dany Kristianto, Martin Vincentius, Christofel Adijaya, Wisnu Adji, dan Axel Kevin atas kebersamaan, kerjasama, bantuan, dan semangat selama penelitian ini berjalan.
10. Sahabat penulis Yovita Mella, Sheela Apriana, Avila C. I. Raha, dan Pniel Dwi Aprianus serta keluarga Kos Putri Palem: Veronica Fidelia, Fransisca Anggita, Yunita, Bernadetta Inez, Hendrika Micelyn, Maria Asumta Nogo yang selalu menemani, memberi semangat kepada penulis hingga dapat menyelesaikan penelitian ini.
11. Teman-teman FSM D 2014 terutama teman praktikum penulis: Wandy Antolis, Putu Eka Asih, Sofia Agustina, Resti Rona, dan Avila C. I. Raha serta teman-teman angkatan 2014 atas kebersamaan dan dukungan yang diberikan.
12. Semua pihak yang telah memberikan semangat dan dukungan yang tidak bisa penulis sebutkan satu persatu.

Penulis menyadari bahwa penulisan skripsi ini masih jauh dari sempurna, maka penulis mengharapkan adanya kritik dan saran yang membangun agar dapat memberikan karya yang lebih baik lagi. Akhir kata, penulis berharap semoga penelitian ini dapat bermanfaat bagi semua pihak khususnya bagi perkembangan di dunia farmasi.

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN PEMBIMBING	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
PERNYATAAN KEASLIAN KARYA	iv
LEMBAR PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS	v
HALAMAN PERSEMBAHAN	vi
PRAKATA.....	vii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xii
INTISARI	xiii
<i>ABSTRACT</i>	xiv
PENDAHULUAN	1
METODE PENELITIAN.....	2
Alat dan Bahan.....	2
Pengumpulan Bahan Simplisia Daun Salam.....	3
Determinasi Tanaman	3
Karakterisasi Simplisia	3
Identifikasi Kandungan Simplisia Daun Salam	3
Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Salam.....	4
Uji Kualitatif Flavonoid dari Ekstrak Etanol Daun Salam dengan Kromatografi Lapis Tipis.....	4
Uji Inhibisi Xantin Oksidase.....	5
Analisis Hasil	7
HASIL DAN PEMBAHASAN.....	7
KESIMPULAN	15
SARAN	16
UCAPAN TERIMAKASIH.....	16
DAFTAR PUSTAKA	16
LAMPIRAN.....	19
BIOGRAFI PENULIS	43

DAFTAR TABEL

Tabel I. Perlakuan Identifikasi Kandungan Kimia Simplisia Daun Salam..... 4
Tabel II. Hasil Pemeriksaan Mikroskopik Simplisia Daun Salam 8
Tabel III. Hasil Karakterisasi Simplisia Daun Salam 8
Tabel IV. Hasil Uji Kualitatif Simplisia Daun Salam (Uji Tabung)..... 9



DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Hasil Uji Kualitatif dengan KLT (Flavonoid)..... 10

Gambar 2. Hubungan Konsentrasi Standar Allopurinol dengan Persen Inhibisi Enzim Xantin Oksidase, Replikasi 1 (A), Replikasi 2 (B), Replikasi 3 (C)..... 12

Gambar 3. Hubungan Konsentrasi Ekstrak Etanol Daun Salam dengan Persen Inhibisi Enzim Xantin Oksidase, Replikasi 1 (A), Replikasi 2 (B), Replikasi 3 (C)..... 13

Gambar 4. Struktur Flavonoid (Kuersetin) 14

Gambar 5. Daun Salam dan Serbuk Simplisia Daun Salam 28

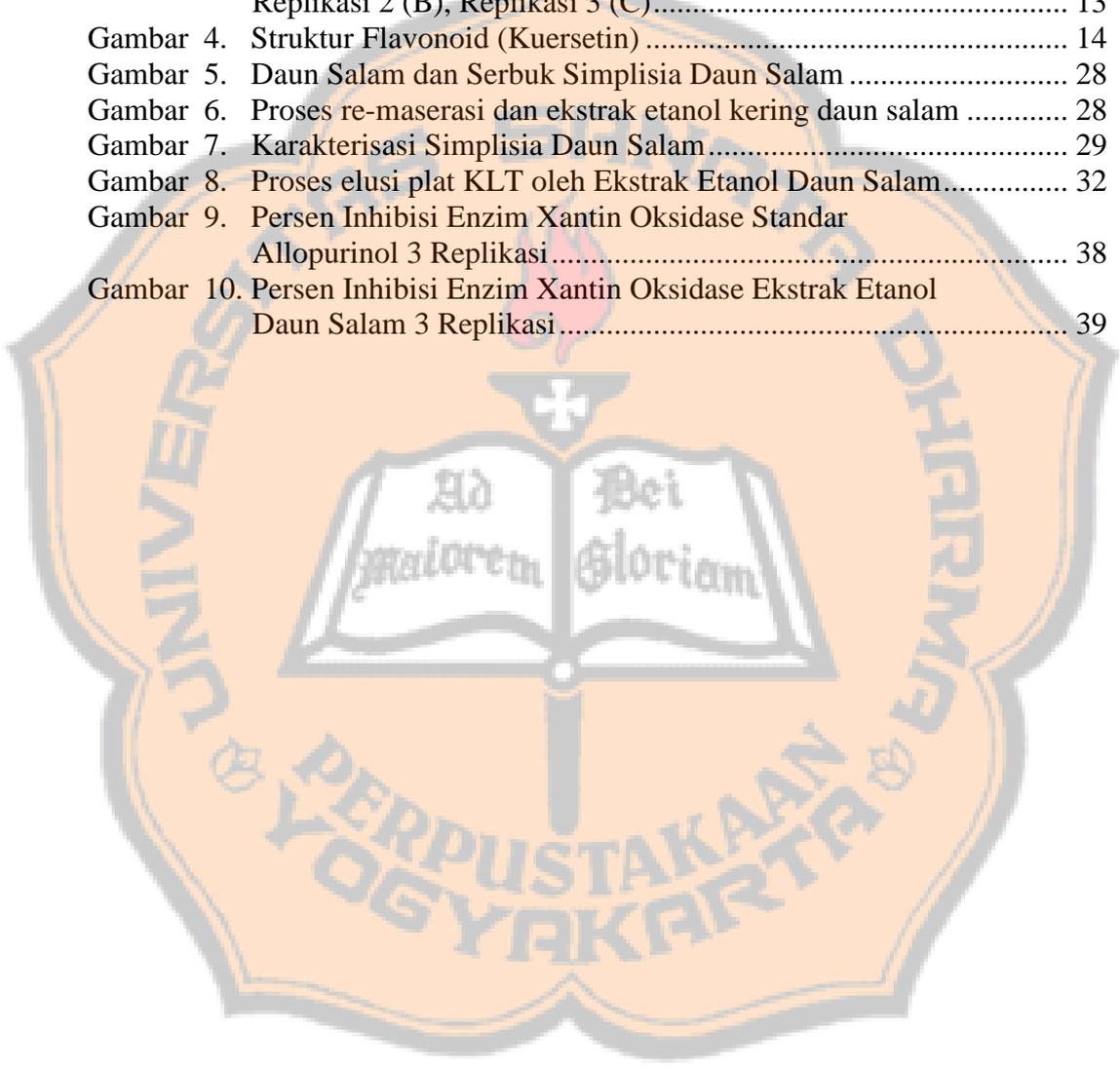
Gambar 6. Proses re-maserasi dan ekstrak etanol kering daun salam 28

Gambar 7. Karakterisasi Simplisia Daun Salam..... 29

Gambar 8. Proses elusi plat KLT oleh Ekstrak Etanol Daun Salam..... 32

Gambar 9. Persen Inhibisi Enzim Xantin Oksidase Standar Allopurinol 3 Replikasi..... 38

Gambar 10. Persen Inhibisi Enzim Xantin Oksidase Ekstrak Etanol Daun Salam 3 Replikasi..... 39



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil Determinasi Tanaman Salam	20
Lampiran 2. Sertifikat CV Merapi Farma.....	22
Lampiran 3. Certificate of Analysis Xanthine Oxidase Enzyme	23
Lampiran 4. Certificate of Analysis Xanthine	24
Lampiran 5. Penimbangan Enzim Xantin Oksidase dan Substrat Xantin Oksidase	26
Lampiran 6. Penimbangan Standar Allopurinol dan Ekstrak Daun Salam.....	27
Lampiran 7. Gambar Simplisia Daun Salam, Ekstrak Daun Salam.....	28
Lampiran 8. Karakterisasi Simplisia Daun Salam	29
Lampiran 9. Pemeriksaan Mikroskopik Serbuk Simplisia Daun Salam.....	30
Lampiran 10. Uji Kualitatif Daun Salam	31
Lampiran 11. Perhitungan Nilai Rf Ekstrak Etanol Daun Salam	33
Lampiran 12. Data Penimbangan Ekstrak Etanol Daun Salam dan % Rendemen	34
Lampiran 13. Data Penimbangan Karakterisasi Daun Salam	35
Lampiran 14. Data Optimasi Panjang Gelombang	36
Lampiran 15. Data Perhitungan % Inhibisi dan IC ₅₀ Standar Allopurinol dan Ekstrak Etanol Daun Salam serta Grafik Persamaan Linear	37
Lampiran 16. Surat Legalitas Penggunaan Aplikasi SPSS untuk Pengujian Data Secara Statistik.....	40
Lampiran 17. Hasil Pengujian IC ₅₀ dengan Statistik	41

INTISARI

Hiperurisemia adalah keadaan dimana berlebihnya kadar asam urat dalam tubuh yang dipengaruhi oleh enzim xantin oksidase yang mengkatalisis purin menjadi asam urat. Allopurinol, salah satu obat asam urat masih memiliki efek samping yang ditimbulkan. Oleh karena itu tanaman herbal digunakan sebagai alternatif pengobatan asam urat. Salah satu tanaman yang dipercaya mampu menurunkan kadar asam urat yaitu tanaman salam. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah daun salam yang digunakan sudah sesuai dengan standar yang telah ditetapkan dan memastikan bahwa ekstrak etanol daun salam memiliki kandungan flavonoid yang menghambat xantin oksidase serta untuk mengetahui persen penghambatan enzim xantin oksidase dan IC_{50} dari ekstrak etanol daun salam. Simplisia daun salam dilakukan karakterisasi dan skrining fitokimia. Kemudian daun salam diekstraksi dengan metode maserasi dengan pelarut etanol 96% dan diuji KLT untuk mengetahui keberadaan senyawa flavonoid. Penghambatan enzim xantin oksidase diukur serapannya dengan spektrofotometer UV-Vis. Hasil menunjukkan daun salam yang digunakan sudah sesuai dengan parameter pada Materia Medika Indonesia dan Farmakope Herbal Indonesia dan memiliki kandungan senyawa flavonoid. IC_{50} oleh ekstrak etanol daun salam adalah sebesar 24,263 $\mu\text{g/mL}$ dan IC_{50} oleh standar allopurinol sebesar 0,166 $\mu\text{g/mL}$. Dari hasil uji statistik diketahui ada perbedaan antara dua kelompok dengan nilai signifikansi 0,000 ($P < 0,05$).

Kata kunci: *Eugenia polyantha* Wight., hiperurisemia, xantin oksidase, karakterisasi, IC_{50}

ABSTRACT

Hyperuricemia is defined as the excess of uric acid levels in the body affected by xanthine oxidase enzyme which catalyzes purine into uric acid. Allopurinol, one of the uric acid remedies still has side effects. Therefore herbal plants are used as an alternative treatment of uric acid. One of the plants that is believed to reduce uric acid levels is *Eugenia polyantha* Wight. This study aimed is to determine *Eugenia polyantha* Wight leaves used are in accordance with established standards, ensure that ethanol extract of *Eugenia polyantha* Wight contain flavonoid which can inhibit xanthine oxidase and to determine the inhibition percentage of xanthine oxidase enzyme and IC₅₀ from the ethanol extract of *Eugenia polyantha* Wight. In addition to ensure the quality of *Eugenia polyantha* Wight simplicia, the characterization and phytochemical screening was done. *Eugenia polyantha* Wight were extracted by using maceration method with 96% ethanol solvent and the presence of flavonoid was determined using Thin Layer Chromatography test. The inhibition of xanthine oxidase enzyme was measured by using UV-Vis spectrophotometer. The results showed that the *Eugenia polyantha* Wight used are in accordance with the parameters in Materia Medika Indonesia and Pharmacopoeia Herbal Indonesia and also contain flavonoid compounds. IC₅₀ obtained from ethanol extract of *Eugenia polyantha* Wight was 24.263 µg/mL and IC₅₀ obtained from allopurinol standard was 0.166 µg/mL. From the statistical test results, it is shown that there is a difference between the two groups with a significance value of 0.000 (P < 0.05).

Keywords: *Eugenia polyantha* Wight., hyperuricemia, xanthine oxidase, characterization, IC₅₀

PENDAHULUAN

Hiperurisemia adalah gangguan metabolisme yang ditandai dengan kelebihan kadar asam urat di dalam darah. Hiperurisemia memiliki konsentrasi serum asam urat yang lebih dari 7,0 mg/dL pada pria dan lebih dari 6,0 mg/dL pada wanita (Rodwell *et al.*, 2006). Asam urat sendiri merupakan hasil akhir dari katabolisme (pemecahan) purin yang merupakan salah satu kelompok struktur kimia pembentuk DNA.

Xantin oksidase (XO) adalah enzim yang berperan dalam katalisis asam urat melalui reaksi oksidasi hipoxantin menjadi xantin dan xantin menjadi asam urat. Ketika terjadi katalisis terus-menerus oleh hipoxantin dan xantin maka kadar asam urat akan meningkat dan terjadi hiperurisemia. Pengobatan asam urat sendiri memerlukan agen *Xanthine Oxidase Inhibitor* yang bekerja dengan cara mencegah biosintesis asam urat dari purin sehingga mengurangi resiko asam urat (Umamaheswari *et al.*, 2009).

Allopurinol merupakan salah satu agen *Xanthine Oxidase Inhibitor* yang telah dipasarkan sejak lama untuk mengobati asam urat. Namun, allopurinol sendiri masih banyak memiliki efek samping yang ditimbulkan seperti demam, ruam, reaksi alergi bahkan gagal ginjal (Dipiro, 2005; Medscape, 2018). Dengan adanya efek samping tersebut, masyarakat mulai memilih tanaman herbal sebagai alternatif pengobatan asam urat.

Salah satu kandungan kimia yang dipercaya dapat menurunkan kadar asam urat yaitu flavonoid (Cos *et al.*, 1998; Widyaningsih *et al.*, 2012). Kandungan flavonoid sendiri dimiliki oleh tanaman salam yang memiliki nama latin *Eugenia polyantha* Wight. (Tjitrosoepomo, 1991). Daun salam telah dikenal sejak lama sebagai spesies yang dapat dijadikan obat. Penggunaan daun salam telah dikembangkan menjadi tumbuhan medis. Biasanya daun salam dapat digunakan untuk analgesik, diabetes, diare, dan dapat mengatasi asam urat (Sumono *et al.*, 2008).

Tanaman salam sendiri diketahui memiliki senyawa aktif saponin, triterpenoid, flavonoid, polifenol, alkaloid, tanin dan minyak atsiri (Sudarsono *et al.*, 2002) namun senyawa yang akan diambil dalam penelitian ini yaitu senyawa flavonoid. Senyawa flavonoid merupakan senyawa yang bersifat polar dan akan

larut dalam pelarut polar seperti air, etanol, metanol. Metode yang dipilih untuk ekstraksi daun salam yaitu maserasi dengan pelarut etanol 96%. Maserasi adalah metode ekstraksi dengan merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari. Zat aktif yang terkandung dalam simplisia akan terlarut dalam cairan penyari yang menembus rongga sel (Depkes RI, 1989). Tanaman salam yang akan digunakan juga memiliki beberapa kriteria yang telah ditetapkan oleh Materia Medika Indonesia jilid IV dan Farmakope Herbal Indonesia.

Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk memastikan bahwa tanaman salam yang digunakan sudah memenuhi standar pada Materia Medika Indonesia jilid IV dan membuktikan bahwa ekstrak etanol daun salam berpotensi untuk menghambat enzim xantin oksidase. Selain itu dihitung nilai IC_{50} untuk mengetahui berapakah nilai konsentrasi ekstrak etanol daun salam yang menghambat 50% enzim xantin oksidase (IC_{50}). Karakterisasi simplisia yang dilakukan meliputi pemeriksaan mikroskopik simplisia, penetapan kadar abu total dan kadar abu tidak larut asam, penetapan kadar sari larut air, penetapan kadar sari larut etanol, dan penetapan kadar air. Selain itu akan dilakukan skrining fitokimia dari simplisia daun salam dan uji kualitatif ekstrak etanol daun salam dengan kromatografi lapis tipis (KLT). Pada uji penghambatan dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis untuk mengukur serapan pada panjang gelombang maksimum.

METODE PENELITIAN

Bahan yang digunakan yaitu simplisia daun salam yang didapatkan dari “CV Merapi Farma” di daerah Kaliurang, substrat xantin (Sigma Aldrich), enzim xantin oksidase (Sigma Aldrich), allopurinol, etanol 96%, aquades bebas CO_2 , KH_2PO_4 1 M, HCl 1 N, dapar fosfat 0,05 M, NaOH 1 M, $FeCl_3$ 10%, kloroform, asam asetat anhidrat, $AlCl_3$, toluen, fase ferak (n-butanol:asam asetat:air 4:1:5), pembanding kuersetin (Sigma), eter.

Alat yang digunakan yaitu spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu), lempeng KLT silika gel GF₂₅₄, timbangan analitik (Mettler Toledo), *shaker* (Optima), *vacuum rotary evaporator* (Buchi), pH meter, *vortex*, mikrotube (Eppendorf), mikropipet

(Socorex), tabung reaksi (Pyrex), gelas beker (Pyrex), labu takar (Pyrex), erlenmeyer.

Pengumpulan Bahan Simplisia Daun Salam

Serbuk simplisia daun salam didapatkan dari CV. Merapi Farma, Kaliurang, Yogyakarta. Sebelum diserbukan, daun salam dipilih dengan ciri-ciri daun segar, berwarna hijau, tidak terlalu tua dan tidak terlalu muda.

Determinasi Tanaman

Determinasi sampel tanaman salam dilakukan di Laboratorium Sistematika Tumbuhan, Fakultas Biologi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta. Spesifikasi daun salam yang dijadikan sampel adalah daun salam segar dengan warna hijau, tidak terlalu tua, tidak terlalu muda, berbentuk lonjong. Determinasi tanaman salam dilakukan sebagai proses identifikasi dan autentikasi tanaman salam (*Syzygium polyanthum* Wight. Walp. atau *Eugenia polyantha* Wight).

Karakterisasi Simplisia

Karakterisasi simplisia yang dilakukan mengacu pada langkah yang ada di *Materia Medika Indonesia* dan *Farmakope Herbal Indonesia* untuk menjamin mutu dari tanaman yang digunakan. Karakterisasi yang dilakukan meliputi pemeriksaan mikroskopik simplisia, penetapan kadar abu total, penetapan kadar abu tidak larut asam, penetapan kadar sari larut air, penetapan kadar sari larut etanol, dan penetapan kadar air. Hasil yang didapatkan pada penelitian akan dibandingkan dengan parameter pada *Materia Medika Indonesia* jilid IV dan *Farmakope Herbal Indonesia*.

Identifikasi Kandungan Simplisia Daun Salam

Serbuk simplisia daun salam diuji kandungan kimianya, yang meliputi saponin, flavonoid, tanin, alkaloid, minyak atsiri, dan steroid. Langkah-langkah identifikasi kandungan kimia simplisia daun salam mengacu pada penelitian Arifin *et al* (2006) seperti pada Tabel I.

Tabel I. Perlakuan Identifikasi Kandungan Kimia Simplisia Daun Salam

No	Senyawa Kimia	Perlakuan	Hasil Positif
1	Saponin	Serbuk dilarutkan dalam aquadest, dikocok selama 15-20 detik + HCl	Terbentuknya busa
2	Flavonid	Serbuk digojog petroleum eter + Etanol + AlCl ₃	Kuning
3	Tanin	Serbuk dilarutkan dalam etanol + FeCl ₃	Biru tua/kehitaman
4	Alkaloid	Serbuk dilarutkan dalam HCl di atas waterbath + NaCl + Dragendroff	Endapan merah bata
5	Steroid	Serbuk dilarutkan dalam etanol + kloroform + asam asetat anhidrat didiamkan 2 menit + H ₂ SO ₄	Cincin berwarna coklat diantara 2 lapisan
6	Minyak Atsiri	Serbuk dilarutkan dalam eter, kemudian diuapkan	Tercium bau aromatis

Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Salam

Serbuk simplisia kering daun salam masing-masing ditimbang kurang lebih 10 g, kemudian ditambah sebanyak 100 mL etanol 96% dan dimaserasi selama 24 jam. Pada saat maserasi, ekstrak daun salam sesekali diaduk. Maserasi diulang sampai didapatkan filtrat hasil maserasi yang jernih. Setelah dimaserasi, ekstrak disaring dengan corong Buchner sampai didapatkan maserat. Hasil maserat dipisahkan menggunakan *vacuum rotary evaporator* pada suhu kurang lebih 50° C. Adapun tujuan menggunakan *vacuum rotary evaporator* untuk memisahkan ekstrak dan menguapkan pelarut yang masih ada pada ekstrak (Pangestu *et al.*, 2011). Kemudian ekstrak ditimbang sampai bobot konstan dan dihitung rendemen.

Uji Kualitatif Flavonoid dari Ekstrak Etanol Daun Salam dengan Kromatografi Lapis Tipis

Larutan uji ekstrak etanol daun salam dan pembanding kuersetin ditotolkan pada plat KLT silika gel GF₂₅₄ dan dielusi pada fase gerak n-butanol:asam asetat: air dengan perbandingan 4:1:5. Plat yang telah dielusi dengan jarak 75 mm dikeringkan dan dilihat bercak dengan sinar UV pada

panjang gelombang 254 nm dan 366 nm. Kemudian jarak bercak dari totolan dicatat dan dihitung nilai Rfnya dengan menggunakan rumus :

$$Rf = \frac{\text{jarak yang ditempuh oleh zat}}{\text{jarak yang ditempuh oleh pelarut}}$$

Uji Inhibisi Xantin Oksidase

Pembuatan Larutan

Pembuatan larutan meliputi pembuatan larutan dapar pH 7,5; pembuatan larutan HCl 1 N; pembuatan larutan NaOH 2 N; pembuatan larutan enzim xantin oksidase 0,1 U/mL; pembuatan larutan induk substrat xantin 1 mM; pembuatan larutan seri substrat xantin 0,15 mM; pembuatan larutan uji ekstrak daun salam; dan pembuatan larutan pembanding allopurinol.

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 yang menghasilkan serapan maksimum. Pengukuran dilakukan dengan mengukur blanko menggunakan alat spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 260-300 nm.

Pengujian Larutan Blanko

Dapar fosfat 0,05 M pH 7,5 sebanyak 3,9 mL dan 2 mL larutan substrat xantin 0,15 mM dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Larutan diinkubasi selama 15 menit, kemudian ditambahkan 0,1 mL larutan enzim xantin oksidase 0,1 U/mL. Larutan campuran kemudian diinkubasikan pada suhu 30°C selama 30 menit dan ditambahkan HCl 1 N sebanyak 1 mL untuk menghentikan reaksi. Serapan diukur menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang maksimum.

Pengujian Larutan Kontrol Blanko

Dapar fosfat 0,05 M pH 7,5 sebanyak 3,9 mL dan 2 mL larutan substrat xantin 0,15 mM dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Larutan diinkubasi selama 15 menit, kemudian ditambahkan 0,1 mL larutan dapar fosfat 0,05 M pH 7,5. Larutan campuran diinkubasikan pada suhu 30°C selama 30 menit dan

ditambahkan HCl 1 N sebanyak 1 mL untuk menghentikan reaksi. Serapan diukur menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang maksimum.

Pengujian Larutan Uji Sampel

Larutan uji sebanyak 1 mL ditambahkan 2,9 mL dapar fosfat 0,05 M pH 7,5 dan 2 mL larutan substrat xantin konsentrasi 0,15 mM. Larutan diinkubasi selama 15 menit, kemudian ditambahkan 0,1 mL enzim xantin oksidase 0,1 U/mL dan diinkubasi selama 30 menit. Setelah inkubasi selesai larutan ditambahkan 1 mL HCl 1 N untuk menghentikan reaksi, kemudian larutan diukur serapan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang maksimum.

Pengujian Larutan Kontrol Sampel

Larutan uji sebanyak 1 mL ditambahkan 2,9 mL dapar fosfat 0,05 M pH 7,5 dan 2 mL larutan substrat xantin konsentrasi 0,15 mM. Larutan diinkubasi selama 15 menit, kemudian ditambahkan 0,1 mL larutan dapar fosfat 0,05 M pH 7,5. Larutan campuran diinkubasikan pada suhu 30°C selama 30 menit dan ditambahkan HCl 1 N sebanyak 1 mL untuk menghentikan reaksi. Serapan diukur menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang maksimum.

Pengujian Larutan Uji Allopurinol

Larutan standar allopurinol sebanyak 1 mL ditambahkan 2,9 mL dapar fosfat 0,05 M pH 7,5 dan 2 mL larutan substrat xantin konsentrasi 0,15 mM. Larutan dilakukan pra-inkubasi selama 15 menit, kemudian ditambahkan 0,1 mL enzim xantin oksidase 0,1 U/mL dan diinkubasi selama 30 menit. Setelah inkubasi selesai larutan ditambahkan 1 mL HCl 1 N untuk menghentikan reaksi, kemudian larutan diukur serapannya menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang maksimum.

Pengujian Larutan Kontrol Allopurinol

Larutan standar allopurinol sebanyak 1 mL ditambahkan 2,9 mL dapar fosfat 0,05 M pH 7,5 dan 2 mL larutan substrat xantin konsentrasi 0,15 mM. Larutan diinkubasi selama 15 menit, kemudian ditambahkan 0,1 mL larutan dapar fosfat 0,05 M pH 7,5. Larutan campuran diinkubasikan pada suhu 30°C selama 30 menit dan ditambahkan HCl 1 N sebanyak 1 mL untuk menghentikan reaksi. Serapan diukur menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang maksimum.

Analisis Hasil

Perhitungan aktivitas inhibisi xantin oksidase dapat dihitung dengan rumus :

$$\% \text{ Inhibisi} = (1-B/A) \times 100\%$$

(Azmi *et al.*, 2012).

dimana :

A = absorbansi blanko

B = absorbansi sampel uji

Konsentrasi larutan uji yang menghambat 50% enzim xantin oksidase dihitung setelah mendapatkan regresi $y = bx + a$ dan mengganti y dengan 50.

HASIL DAN PEMBAHASAN

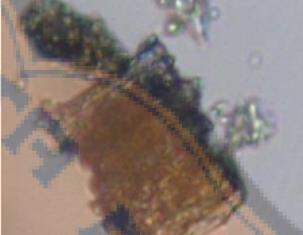
Hasil Determinasi Tanaman Salam

Determinasi tanaman salam dilakukan untuk memastikan bahwa tanaman yang digunakan merupakan spesies *Syzygium polyanthum* Wigh. Walp. atau memiliki nama lain *Eugenia polyantha* Wight. Determinasi dilakukan di Laboratorium Sistematika Tumbuhan Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada dan disimpulkan tanaman yang digunakan adalah benar memiliki nama spesies *Syzygium polyanthum* Wigh. Walp. Hasil determinasi tersebut didukung dengan adanya surat determinasi (Lampiran 1) yang diterbitkan oleh lembaga tersebut.

Pemeriksaan Mikroskopik Simplisia

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dengan melihat serbuk simplisia daun salam di bawah mikroskop, hasil pemeriksaan mikroskopik menunjukkan unsur anatomi yang khas dari daun salam yaitu epidermis atas, berkas pembuluh, serabut sklerenkim, fragmen mesofil, hablur kalsium oksalat dan epidermis bawah dengan stoma tipe parasitik (Tabel II). Hasil yang didapatkan pada penelitian ini sudah sesuai dengan literatur Materia Medika Indonesia jilid IV yang menandakan simplisia daun salam sudah sesuai dengan karakteristik yang ada.

Tabel II. Hasil Pemeriksaan Mikroskopik Simplisia

Bagian	Hasil	Bagian	Hasil
Epidermis atas		Serabut sklerenkim	
Berkas pembuluh		Fragmen mesofil	
Epidermis bawah dengan stoma tipe parasitik		Kristal Kalsium Oksalat	

Karakterisasi Simplisia

Tabel III. Hasil Karakterisasi Simplisia Daun Salam

No.	Parameter	Hasil	Literatur	Kesimpulan
1	Kadar abu total	1,72%	Tidak lebih dari 5%	Sesuai
2	Kadar abu tidak larut asam	0,82%	Tidak lebih dari 1%	Sesuai
3	Kadar sari larut air	17,19%	>12%	Sesuai
4	Kadar sari larut etanol	12,22%	>8%	Sesuai
5	Kadar air	8,33%	Tidak lebih dari 10%	Sesuai

Dari tabel karakterisasi simplisia di atas dapat dikatakan bahwa simplisia daun salam yang digunakan dalam penelitian ini sudah memenuhi standar yang ada pada *Materia Medica* jilid IV dan *Farmakope Herbal Indonesia* edisi I.

Kandungan kadar abu total yang besar menandakan simplisia daun salam mengandung mineral. Sedangkan adanya kandungan abu tidak larut asam menunjukkan pengotor lain dalam simplisia seperti pasir atau bahan lain yang

tidak terlarut. Parameter kadar air menunjukkan hasil yang mendekati 10%. Kadar air dalam simplisia akan memicu kelembaban sehingga baik untuk pertumbuhan mikroba dan dapat memicu terjadinya perubahan kandungan kimia simplisia (Febriani *et al.*, 2015) sehingga kadar air dalam simplisia diusahakan serendah mungkin.

Identifikasi Kandungan Simplisia Daun Salam

Dari hasil uji tabung yang dilakukan, didapatkan hasil sebagai berikut:

Tabel IV. Hasil Uji Kualitatif Simplisia Daun Salam (Uji Tabung)

No.	Senyawa Kimia	Hasil
1	Saponin	+
2	Flavonoid	+
3	Tanin	+
4	Alkaloid	+
5	Steroid	+
6	Minyak atsiri	+

Identifikasi kandungan kimia daun salam ini sudah sesuai pada penelitian (Harismah, 2016) yang menyatakan daun salam memiliki kandungan flavonoid, tannin, minyak atsiri dan penelitian (Moeloek, 2006) yang menyatakan bahwa kandungan kimia yang terdapat pada daun salam yaitu tanin, minyak atsiri, seskuiterpen, triterpenoid, steroid, sitral, saponin.

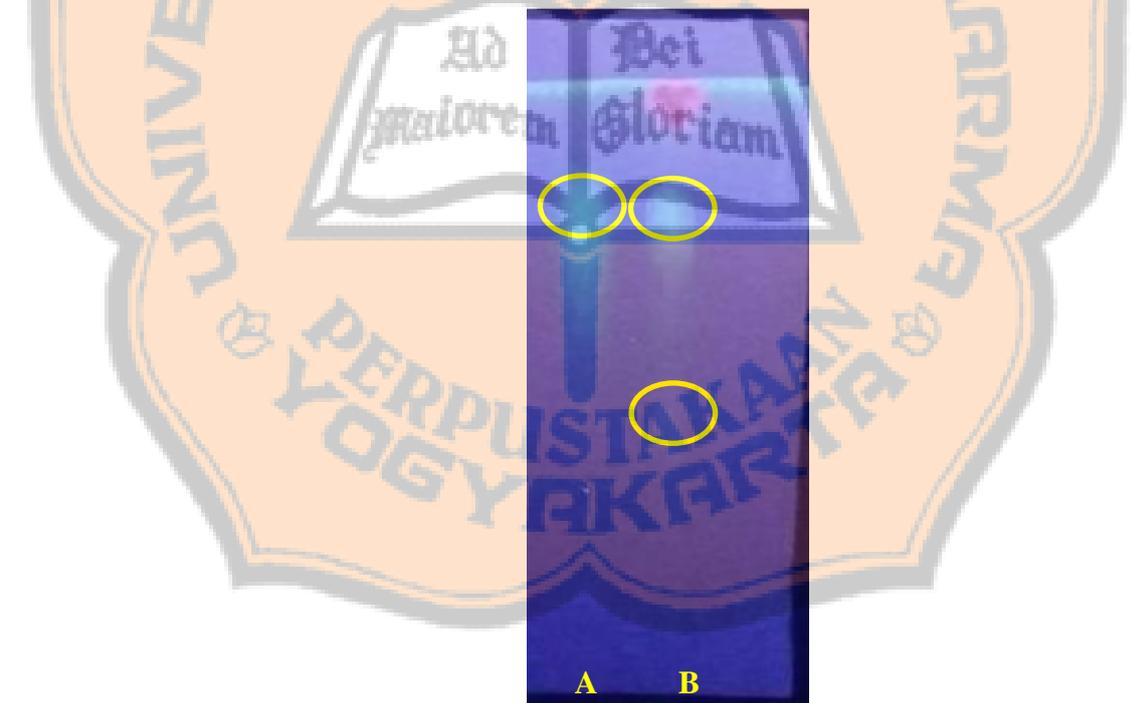
Ekstraksi Daun Salam dengan Pelarut Etanol 96%

Ekstrak etanol daun salam diperoleh dari daun salam yang diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96%. Maserasi dipilih karena merupakan metode yang sederhana dan aman digunakan untuk senyawa yang tidak tahan panas seperti flavonoid (Sarker, 2006). Hasil rendemen ekstrak etanol daun salam terhadap serbuk simplisia daun salam yang didapat sebesar 15,23%. Hasil rendemen yang semakin tinggi menunjukkan bahwa senyawa kimia yang terlarut dalam proses ekstraksi juga semakin besar. Hal ini dimungkinkan banyaknya senyawa kimia yang ada pada simplisia (Kartikasari *et al.*, 2012).

Pemilihan etanol 96% didasarkan pada senyawa yang akan diambil. Senyawa yang akan diambil yaitu flavonoid yang memiliki sifat polar, sehingga dipilih pelarut yang memiliki sifat yang sama.

Identifikasi Kandungan Kimia Ekstrak Etanol Daun Salam dengan Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi didefinisikan sebagai prosedur pemisahan zat terlarut oleh suatu proses migrasi yang terdiri dari dua fase, yaitu fase diam dan fase gerak (Yuwono dan Indrayanto, 2005). Fase diam adalah tempat terjadinya pemisahan dan untuk jalannya suatu analit. Fase gerak membawa zat terlarut melalui media, hingga memisahkan suatu zat dengan zat lainnya (Depkes RI, 2008). Pada KLT sendiri dikenal dengan nilai R_f yang merupakan perbandingan antara jarak senyawa dari titik awal dan jarak pelarut dari titik awal (Roth, 1994). Nilai R_f sendiri berkisar antara 0,00 sampai 1,00 (Yuwono dan Indrayanto, 2005).



Gambar 1. Hasil Uji Kualitatif dengan KLT (Flavonoid)

Ket. A: standar kuersetin, B: ekstrak etanol daun salam. Fase diam yang digunakan yaitu silika gel GF₂₅₄ dengan fase gerak n-butanol:asam asetat: air dengan perbandingan 4:1:5 dan jarak rambat 75 mm dengan deteksi UV 366 nm.

Parameter hasil pengukuran KLT yaitu didasarkan pada warna bercak, jumlah bercak, dan jarak bercak (Macek, 1972). Berdasarkan hasil KLT pada Gambar 1 di

atas, ekstrak etanol daun salam menghasilkan 2 bercak kuning dengan nilai Rf berturut-turut 0,45; 0,89. Sedangkan standar kuersetin menghasilkan bercak kuning dengan nilai Rf 0,89. Perbedaan jumlah bercak dikarenakan pada ekstrak etanol daun salam memiliki beberapa kandungan kimia lain, sehingga pada saat elusi dapat dihasilkan lebih dari 1 bercak, sedangkan pada standar hanya dihasilkan 1 bercak karena kandungan kimia yang terdapat pada standar adalah kandungan murni kuersetin. Dari hasil KLT pada Gambar 1, dapat disimpulkan bahwa warna bercak dan nilai Rf yang sama yang dihasilkan oleh ekstrak etanol daun salam dan standar kuersetin pada Rf 0,89 membuktikan bahwa ekstrak etanol daun salam memiliki kandungan flavonoid yang berperan sebagai penghambat enzim xantin oksidase. Selain itu pemilihan fase gerak yang digunakan sudah sesuai karena dapat memisahkan senyawa flavonoid dari ekstrak etanol daun salam.

Uji Penghambatan Enzim Xantin Oksidase

Prinsip pengukuran uji penghambatan aktivitas xantin oksidase adalah mengukur jumlah asam urat yang terbentuk pada reaksi yang dikatalisis oleh xantin oksidase (Rinayanti *et al.*, 2016). Uji aktivitas penghambatan xantin oksidase dilihat dari penurunan konsentrasi asam urat yang terbentuk oleh ekstrak etanol daun salam. Pengujian ini merupakan model pengujian secara *in vitro* yang dilakukan dengan alat spektrofotometer pada panjang gelombang maksimum yang didapat yaitu 291,5 nm.

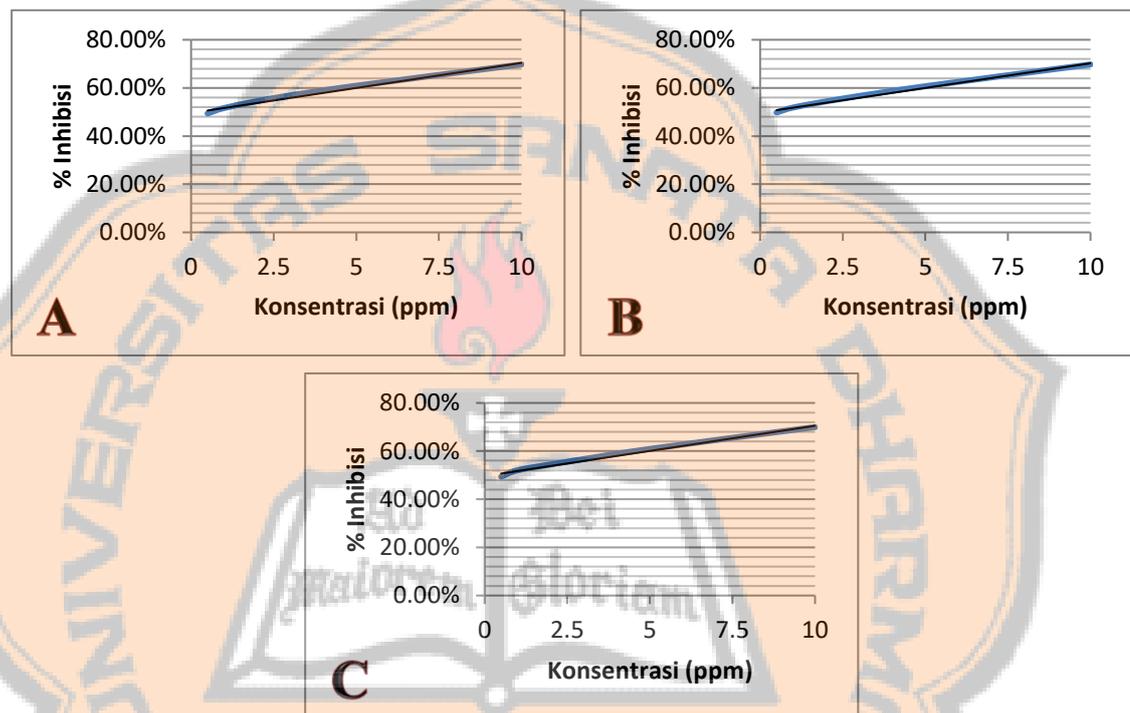
Uji penghambatan xantin oksidase ini didasarkan pada penelitian Iswantini (2014). Uji penghambatan dilakukan pada dapar pH 7,5; suhu 30° C; waktu inkubasi 30 menit; konsentrasi substrat 0,15 mM.

Optimasi Panjang Gelombang Maksimum

Berdasarkan optimasi panjang gelombang yang dilakukan pada panjang gelombang 260-300 nm, maka didapatkan panjang gelombang maksimum 291,5 nm. Beberapa penelitian menunjukkan panjang gelombang maksimum yang berbeda, diantaranya pada penelitian Ummamaheswari *et al.* (2007) digunakan panjang gelombang 290 nm. Sedangkan pada penelitian Iswantini *et al.* (2014) digunakan panjang gelombang 269,5 nm.

Uji Penghambatan Enzim Xantin Oksidase oleh Standar Allopurinol

Pada penelitian yang dilakukan, kontrol positif yang digunakan sebagai standar adalah allopurinol. Konsentrasi larutan induk allopurinol yang dibuat adalah 1000 µg/mL. Lalu, dilakukan pengenceran konsentrasi menjadi 0,5; 1; 2,5; 5 dan 10 µg/mL.



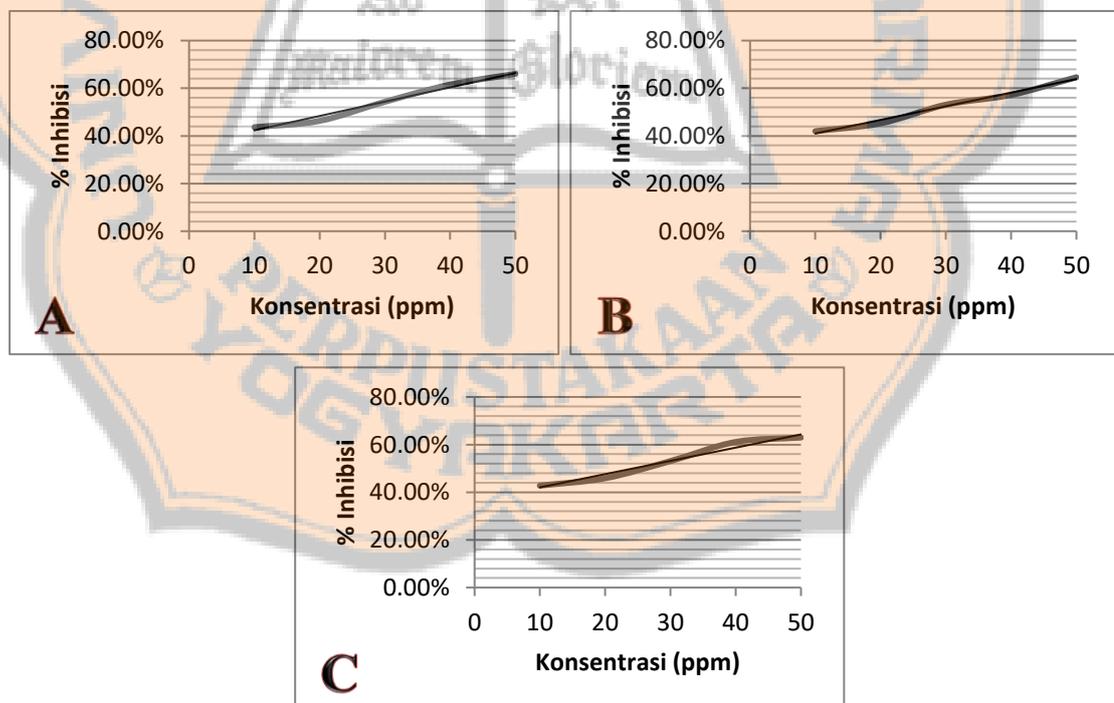
Gambar 2. Hubungan Konsentrasi Standar Allopurinol dengan Persen Inhibisi Enzim Xantin Oksidase, Replikasi 1 (A), Replikasi 2 (B), Replikasi 3 (C)

Dari gambar di atas, diketahui bahwa allopurinol memiliki profil grafik yang hampir mirip, sehingga grafik dipisah antara replikasi 1; 2; dan 3 untuk memperjelas grafik dari masing-masing replikasi. Persamaan linear yang didapatkan dari kurva penghambatan oleh standar allopurinol replikasi 1 adalah $y = 2,0809x + 49,5824$ dengan nilai $r = 0,993$ dan diperoleh nilai IC_{50} sebesar 0,200 µg/mL. Persamaan linear yang didapatkan dari kurva penghambatan oleh standar allopurinol replikasi 2 adalah $y = 2,0493x + 49,7425$ dengan nilai $r = 0,996$ dan diperoleh nilai IC_{50} sebesar 0,126 µg/mL. Persamaan linear yang didapatkan dari kurva penghambatan oleh standar allopurinol replikasi 3 adalah $y = 2,0878x + 49,6404$ dengan nilai $r = 0,994$ dan diperoleh nilai IC_{50} sebesar 0,172 µg/mL.

IC₅₀ rata-rata yang didapatkan pada penelitian ini sebesar 0,166 µg/mL. Terdapat perbedaan nilai IC₅₀ yang didapatkan pada penelitian ini dengan beberapa penelitian sebelumnya. IC₅₀ pada penelitian Umamaheswari (2007) adalah sebesar 6,75 µg/mL; pada penelitian Saputra (2012), didapatkan nilai IC₅₀ sebesar 0,02 µg/mL. Perbedaan ini bisa terjadi karena adanya perbedaan asal standar allopurinol.

Uji Penghambatan Enzim Xantin Oksidase oleh Ekstrak Etanol Daun Salam

Larutan uji yang digunakan adalah larutan hasil ekstraksi daun salam dengan pelarut etanol 96%. Uji inhibisi pada xantin oksidase dilakukan pada ekstrak etanol daun salam dalam varian konsentrasi 10; 20; 30; 40; dan 50 µg/mL. Pengujian pada konsentrasi yang beragam ini ditujukan untuk melihat pengaruh penambahan konsentrasi ekstrak pada peningkatan daya inhibisi. Selain itu juga dilakukan pengamatan aktivitas enzim tanpa adanya larutan uji (blanko) untuk melihat pengaruh inhibisi ekstrak tersebut pada aktivitas enzim.

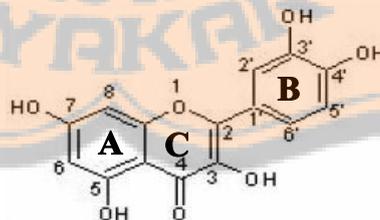


Gambar 3. Hubungan Konsentrasi Ekstrak Etanol Daun Salam dengan Persen Inhibisi Enzim Xantin Oksidase, Replikasi 1 (A), Replikasi 2 (B), Replikasi 3 (C)

Hasil yang didapatkan pada penelitian ini yaitu bahwa absorbansi dari larutan uji ekstrak etanol daun salam lebih rendah dibandingkan dengan blanko. Hal ini menunjukkan bahwa larutan uji ekstrak etanol daun salam berpotensi sebagai *inhibitor* enzim xantin oksidase. Ekstrak etanol daun salam terbukti dapat menghambat enzim xantin oksidase dengan cukup baik, terbukti pada konsentrasi 10 µg/mL dapat menghambat aktivitas enzim xantin oksidase sebesar 43,62% pada replikasi 1; 41,98% pada replikasi 2; dan 42, 80% pada replikasi 3. Sedangkan pada konsentrasi 50 µg/mL ekstrak etanol daun salam dapat menghambat aktivitas enzim xantin oksidase sebesar 66,05% pada replikasi 1; 64,61% pada replikasi 2; pada replikasi 3 62,96%.

Persamaan linear (Gambar 3) yang didapatkan dari kurva penghambatan oleh ekstrak etanol replikasi 1 adalah $y = 0,6008x + 36,338$ dengan nilai $r = 0,990$ dan diperoleh nilai IC_{50} sebesar 22,74 µg/mL. Persamaan linear yang didapatkan dari kurva penghambatan oleh ekstrak etanol replikasi 2 adalah $y = 0,5719x + 35,273$ dengan nilai $r = 0,993$ dan diperoleh nilai IC_{50} sebesar 25,75 µg/mL. Persamaan linear yang didapatkan dari kurva penghambatan oleh ekstrak etanol replikasi 3 adalah $y = 0,5555x + 36,503$ dengan nilai $r = 0,983$ dan diperoleh nilai IC_{50} sebesar 24,30 µg/mL.

Penghambatan enzim xantin oksidase oleh ekstrak etanol daun salam diduga karena kandungan flavonoid. Flavonoid dikatakan sebagai *inhibitor competitive* sama seperti allopurinol yang bekerja dengan berkompetisi dengan substrat xantin untuk berikatan pada sisi aktif enzim (Pacher *et al.*, 2006).



(Agrawal, 2011).

Gambar 4. Struktur Flavonoid (Kuersetin)

Gugus flavonoid (Gambar 4) memiliki kemiripan dengan gugus xantin sehingga dapat berikatan dengan sisi aktif dari enzim xantin oksidase yang dapat memicu penurunan kadar asam urat (Van Hoorn *et al.*, 2002). Nguyen *et al.* (2006) juga

melaporkan bahwa adanya gugus hidroksil pada C5 dan C7 di cincin A flavonoid akan mempengaruhi besarnya ikatan dengan sisi aktif enzim xantin oksidase dan mempengaruhi daya inhibisi.

Pada penelitian ini belum dilakukan penetapan kadar flavonoid total dari ekstrak etanol daun salam. Namun pada penelitian Har dan Ismail (2012), diketahui bahwa kadar flavonoid total dari ekstrak metanol daun salam adalah sebesar 14,87 mg (QE)/100 g simplisia kering.

Nilai IC_{50} rata-rata yang didapatkan oleh standar allopurinol yaitu sebesar $0,166 \pm 0,021 \mu\text{g/mL}$ dan nilai IC_{50} rata-rata yang didapatkan oleh ekstrak etanol daun salam adalah sebesar $24,263 \pm 0,8769 \mu\text{g/mL}$ yang menunjukkan bahwa ekstrak etanol memiliki nilai IC_{50} yang lebih besar daripada standar allopurinol. Hal ini menunjukkan bahwa daya hambat aktivitas xantin oksidase oleh ekstrak etanol daun salam lebih rendah dibandingkan dengan allopurinol.

Setelah itu dibandingkan 2 data yaitu nilai IC_{50} antara kelompok ekstrak etanol daun salam dan kelompok allopurinol. Nilai IC_{50} yang diperoleh dianalisis dengan uji statistik yaitu menggunakan uji t untuk mengetahui apakah ada perbedaan antara dua kelompok yang dibandingkan. Dari hasil uji diketahui bahwa ada perbedaan antara dua kelompok dengan nilai signifikansi 0,000 ($P < 0,05$). Meskipun ekstrak etanol daun salam memiliki efek inhibisi yang berbeda dengan standar allopurinol, namun ekstrak etanol daun salam ini termasuk memiliki efek yang baik dalam menurunkan kadar asam urat karena dengan konsentrasi $24,263 \mu\text{g/mL}$ sudah bisa menghambat 50% aktivitas enzim xantin oksidase.

KESIMPULAN

Setelah dilakukan penelitian dapat disimpulkan bahwa daun salam yang digunakan sudah sesuai dengan kriteria pada Materia Medika Indonesia jilid IV dan Farmakope Herbal Indonesia. Selain itu diketahui ekstrak etanol daun salam memiliki efek untuk menghambat enzim xantin oksidase dengan IC_{50} sebesar $24,263 \pm 0,8769 \mu\text{g/mL}$.

SARAN

Penulis menyarankan untuk dilakukannya pengujian kadar flavonoid total pada ekstrak etanol daun salam. Selain itu penulis juga menyarankan untuk isolasi senyawa flavonoid sehingga dapat diketahui flavonoid jenis apa yang berperan dalam penghambatan enzim xantin oksidase.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penelitian ini dilaksanakan dengan pembiayaan dari Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat Universitas Sanata Dharma dengan nomor kontrak 070/Penelitian/LPPM-USD/IV/2017

DAFTAR PUSTAKA

- Agrawal, A.D., 2011. Pharmacological Activities of Flavonoid: A Review. *Int. Journal of Pharmaceutical Science and Nanotechnology*. 4(2), 1394-1398.
- Arifin, H., Anggraini, N., Handayani, D., Rasyid, R., 2006. Standarisasi Ekstrak Etanol Daun *Eugenia Cumini* Merr. *J. Sains Tek. Far.* 11(2), 88-93.
- Azmi, S., *et al.*, 2012. Xanthine Oxidase Inhibitory Activity from Potential Malaysian Medicinal Plant as Remedies for Gout. *International Food Research Journal.*, 19. 159-165.
- Badan POM RI, 2004. *Monografi Ekstrak Tumbuhan Obat Indonesia*, Volume 1, Badan Pemeriksa Obat dan Makanan Republik Indonesia, Jakarta.
- Cos, P., Ying, ., Calomme, M., J.P. Cimanga, K., Van Poel, B., Pieters, L., Vlietinck, A.J., dan Vanden Berghe, D., 1998. Structure Activity and Classification of Flavonoids as Inhibitor Xanthine Oxidase and Superoxide Scavengers. *J. Nat. Prod.*, 61 : 71-76.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1980. *Materia Medika Indonesia*, Jilid IV, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta, 184-188.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2008. *Farmakope Herbal Indonesia*, Edisi 1, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- Dipiro, J.T., Wells, B.G., Talbert, R.L., Yee, G.C., Matzke, G.R., Posey, L.M., 2005. *Pharmacotherapy*. 6th Edition, Appleton ang Lange, New York.
- Ernawati, 2014. Penghambatan Aktivitas Xanthine Oxidase oleh Ekstrak Etanol Sarang Semut (*Myrmecodia Tuberosa* (Non Jack) Bl.) secara In Vitro. *Pharmaciana*, 4(1). 15-22.

- Febriani, D., Mulyanti, D., Rismawati, E., 2015. Karakterisasi Simplisia dan Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata* Linn). *Jurnal.*, 475-480.
- Har, L. W. & Ismail, I. S., 2012. Antioxidant Activity, Total Phenolics and Total Flavonoids of *Syzygium polyanthum* (Wight) Walp Leaves. *International Journal of Medicinal and Aromatic Plants.* 2(2), 219-228.
- Harismah, K., dan Chusniatun, 2016. Pemanfaatan Daun Salam (*Eugenia polyantha*) sebagai Obat Herbal dan Rempah Penyedap Makanan. *Warta LPM Journal UMS*, 19(2). 110-118.
- Iswantini, D., Yulian, M., Mulijani, S., Trivadila, 2014. Inhibition Kinetics of *Sida rhombifolia* L. Extract Toward Xanthine Oxidase by Electrochemical Method. *Indonesian Journal of Chemistry.*, 14(1), 71-77.
- Macek, K., 1972. *Pharmaceutical Application of Thin Layer Chromatography and Paper Chromatography.* 3rd edition, Elsevier Publishing Company, Amsterdam.
- Medscape, 2018. *Alupurinol (Rx).* <http://reference.medscape.com/drug/zyloprim-aloprim-alopurinol-342811>, diakses pada tanggal 9 Januari 2018.
- Moeloek, F. A., 2006. Herbal and traditional medicine: National perspectives and policies in Indonesia. *Jurnal Bahan Alam Indonesia.*, 5(1). 293-97.
- Nguyen, M. T., Awale, S., Tezuka, Y., Ueda, J., Tran, Q. L., Kadota, S., 2006. Xanthine Oxidase Inhibitors from the Flowers of *Chrysanthemum sinense*. *Planta Medica.*, 72, 46-51.
- Pacher, P., Nivorozhkin, A., & Szabe, C., 2006. Therapeutic Effects of Xanthine Oxidase Inhibitors: Renaissance Half a Century after the Discovery of Allopurinol. *Pharmacological Reviews.*, 58 (1), 87-114.
- Pangestu, A., dan Handayani, S. W., 2011. *Rotary Evaporator and Ultraviolet Lamp.* Institute Pertanian Bogor, Bogor.
- Rinayanti, A., Rahayu, S. T., Syachfitri, R. D., 2016. Uji Aktivitas Penghambatan Xantin Oksidase secara *In-Vitro* oleh Isolat 6,4'-Dihidroksi-4-Metoksibenzofenon-2-O-β-D Glukopiranosida (C₂₀H₂₂O₁₀) yang Diisolasi dari Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl). *Pharmaceutical Science and Research.*, 3(1), 1-11.
- Rodwell, V.W., Murray, R.K., Granner, D.K., 2006. *Biokimia Harper.* Penerbit EGC, Jakarta.
- Roth, H. J., 1994. *Pharmaceutical Analysis*, diterjemahkan oleh Sarjono Kisman, Gajah Mada University Press, Yogyakarta.

- Saputra, K. A., 2012. Uji Penghambatan Aktivitas Xantin Oksidase Secara *In Vitro* pada The Celup Kombinasi Daun Gandarusa (*Justicia gendarusa* Burm.) dan Kaliks Rosela (*Hibiscus sabdariffa* Linn.). *Skripsi*, Universitas Indonesia, Jakarta.
- Sarker, S.D., *et al*, 2006. *Methods in Biotechnology : Natural Products Isolation*, 2nd ed., Humana Press, New Jersey, pp 7-8, 32.
- Sudarsono, Gunawan D, Wahyono S, Donatus, I.A dan Purnomo, 2002. *Tumbuhan Obat II, Sifat-sifat, dan Penggunaan*. Pusat Studi Obat Tradisional, UGM, Yogyakarta.
- Sumono, A., dan Wulan, A., 2008. The Use of Bay Leaf (*Eugenia polyantha* Wight.) in Dentistry. *Dental Journal.*, 41(3), 147-150.
- Tjitrosoepomo, G.S., 1991. *Taksonomi Tumbuhan (Spermatophyta)*. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
- Umamaheswari, M., Asokkumar, K., Sivashammugam, A. T., Kemyaraju, A., 2009. In Vitro Xanthine Oxidase Inhibitory Activity of The Fractions of *Erythrina stricta* Roxb. *Journal of Ethnopharmacology.*, 124, 646-648.
- Van Hoorn, D.E.C., Nijveldt, R.J., Van Leeuwen, P.A.M., Hofman, Z., M'Rabet, L., 2002. Accurate Prediction of Xanthine Oxidase Inhibition Based on the Structure of Flavonoids. *Eur. J. Pharmacol.*, 451: 111-118.
- Watson, D. G., 2010. *Analisis Farmasi: Buku Ajar Untuk Mahasiswa Farmasi dan Praktisi Kimia Farmasi*, Edisi 2, Penerbit EGC, Jakarta.
- Widyaningsih, W., Septianingsih, U., Susanti, H., 2012. Penghambatan Aktivitas Xanthine Oxidase oleh Ekstrak Etanol Akar Sambiloto (*Andrographis paniculata*, Ness) Secara In Vitro. *Jurnal Ilmiah Kefarmasian*, 2(2), 153-163.
- Yuwono, M., Indrayanto, G., 2005. *Validation Method of Analysis by Using Chromatography, Profiles of Drugs Substances, Excipients and Related Methodology*, Vol.32, Elsevier Academic Press, New York.



Lampiran 1. Hasil Determinasi Tanaman Salam



Lampiran Hasil Identifikasi:

1.

Divisi	: Magnoliophyta
Class	: Magnoliosida
Sub class	: Rosidae
Order	: Myrtales
Familia	: Myrtaceae
Genus	: Syzygium
Species	: <i>Syzygium polyanthum</i> Wigh. Walp.
Sinonim	: <i>Eugenia polyantha</i> Wight.
Nama lokal	: Salam

2.

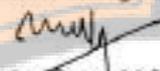
Divisi	: Magnoliophyta
Class	: Magnoliosida
Sub class	: Dilleniidae
Order	: Malvales
Familia	: Malvaceae
Genus	: Sida
Species	: <i>Sida rhombifolia</i> L.
Nama lokal	: Sidagori, sidaguri

3.

Divisi	: Magnoliophyta
Class	: Magnoliosida
Sub class	: Asteridae
Order	: Rubiales
Familia	: Rubiaceae
Genus	: Myrmecodia
Species	: <i>Myrmecodia armata</i> DC.
Sinonim	: <i>Myrmecodia echinata</i> Auct. Non Gaudich., <i>M. Tuberosa</i> (non Jack) Bl
Nama lokal	: Sarang semut

Yogyakarta, 5 September 2017

Mengetahui,
Kepala Laboratorium
Sistematika Tumbuhan
Fakultas Biologi UGM


Dr. Purnomo, M.S.
NIP. 195504211982031005

Lampiran 2. Sertifikat CV Merapi Farma



SURAT KETERANGAN

Kami yang bertanda tangan di bawah ini, menerangkan bahwa tanaman yang diambil dari CV. Merapi Farma Herbal oleh :

Nama : Dr. Erna Triwulandari Apt.
Adalah benar simplisia dari tanaman dari :
Nama Tanaman : Salam (*Eugenia polyantha W.*)
Bahan yang Diambil : Daun
Cara Pengeringan : Dikeringkan dengan pengovenan sinar matahari selama 4 hari
Daerah asal : Sidorejo Hargobinangun Pakem Sleman Daerah Istimewa Yogyakarta

Demikian surat keterangan ini, kami buat sesuai dengan sebenarnya. Semoga dapat dipergunakan sebagaimana mestinya

Yogyakarta, 23 Mei 2017
Management

(Supartini)



Lampiran 3. Certificate of Analysis Xanthine Oxidase Enzyme

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

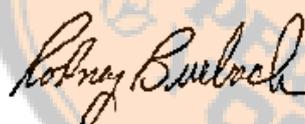
Certificate of Analysis

Product Name:

Xanthine Oxidase from bovine milk - lyophilized powder, 0.4-1.0 units/mg protein

Product Number: X4376
 Batch Number: SLBQ1518V
 Brand: SIGMA
 CAS Number: 9002-17-9
 MDL Number: MFCD00082145
 Storage Temperature: Store at 2 - 8 °C
 Quality Release Date: 10 FEB 2016
 Date Retested: 13 DEC 2017
 Recommended Retest Date: DEC 2019

Test	Specification	Result
Protein by Biuret units/mg Protein One unit will convert 1.0 micromole of xanthine to uric acid per minute at pH 7.5 at 25 deg C	10.0 - 25.0 % 0.4 - 1.0	17.0 % 0.7
Uricase Content	≤ 0.2 %	0.1 %



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

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.

Lampiran 4. Certificate of Analysis Xanthine

SIGMA-ALDRICH®

sigma-aldrich.com

3050 Spruce Street, Saint Louis, MO 63103, USA

Website: www.sigmaaldrich.com

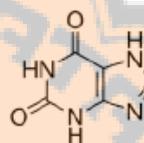
Email USA: techserv@sial.com

Outside USA: eurtechserv@sial.com

Certificate of Analysis

Product Name:
Xanthine - BioUltra, ≥99%

Product Number: X4002
 Batch Number: SLBB5664V
 Brand: SIGMA
 CAS Number: 69-89-6
 MDL Number: MFCD00078453
 Formula: C₅H₄N₄O₂
 Formula Weight: 152.11 g/mol
 Quality Release Date: 20 JAN 2012
 Date Retested: 10 MAR 2015
 Recommended Retest Date: MAR 2019



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 (Ash)	< 0.1 %	0.0 %
Aluminum (AL)	< 0.0005 %	< 0.0005 %
Phosphorus (P)	< 0.0005 %	< 0.0005 %
Lead (Pb)	< 0.001 %	< 0.001 %
Calcium (Ca)	< 0.0005 %	< 0.0005 %
Magnesium (Mg)	< 0.0005 %	< 0.0005 %
Sodium (Na)	0.005 %	0.001 %
Iron (Fe)	< 0.0005 %	< 0.0005 %
Copper (Cu)	< 0.0005 %	< 0.0005 %
Zinc (Zn)	< 0.0005 %	< 0.0005 %
Potassium (K)	< 0.005 %	< 0.005 %
Ammonia (NH ₄)	< 0.05 %	< 0.00 %
Insoluble Matter	0.1 %	0.0 %
Sulfate	< 0.05 %	< 0.01 %
Purity (HPLC)	100 %	100 %

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.

SIGMA-ALDRICH®

sigma-aldrich.com

3050 Spruce Street, Saint Louis, MO 63103, USA

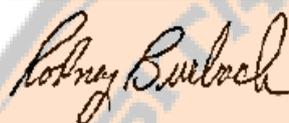
Website: www.sigmaaldrich.com

Email USA: techserv@sial.com

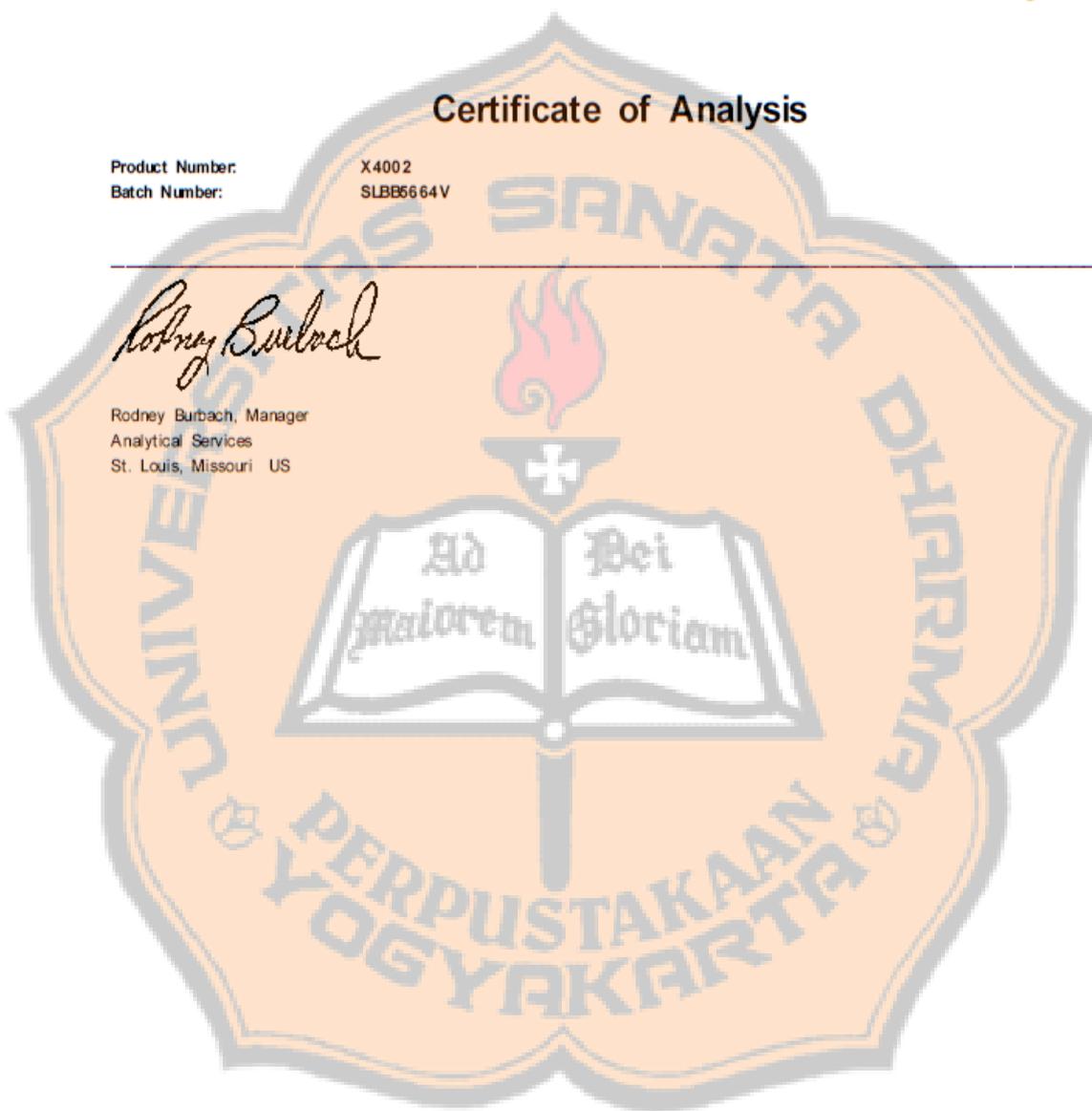
Outside USA: eurtechserv@sial.com

Certificate of Analysis

Product Number: X4002
Batch Number: SLBB6664V



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



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.

Version Number: 2

Page 2 of 2

Lampiran 5. Penimbangan Enzim Xantin Oksidase dan Substrat Xantin Oksidase

Pada label kemasan dituliskan :
 0,4 – 1 mg unit/mg protein
 44,2 mg solid 0,11 unit/mg solid
 0,7 unit/mg protein

Perhitungan unit enzim xantin oksidase:

- a. Jumlah total unit enzim:
 $44,2 \text{ mg solid} \times 0,11 \text{ unit/mg solid} = 4,862 \text{ unit}$
- b. Jumlah total mg protein dalam satu kemasan:

$$\frac{4,862 \text{ unit}}{0,7 \frac{\text{unit}}{\text{mg protein}}} = 6,94571 \approx 6,95 \text{ mg protein}$$
- c. Jumlah total enzim dalam satu kemasan:

$$\frac{44,2 \text{ mg solid}}{6,95 \text{ mg protein}} = 6,36 \text{ mg} \frac{\text{solid}}{\text{mg protein}}$$
- d. Jadi yang harus ditimbang untuk mendapatkan 0,1 unit enzim xantin yaitu:

$$\frac{0,1 \text{ unit}}{0,7 \frac{\text{unit}}{\text{mg protein}}} \times 6,36 \text{ mg} \frac{\text{solid}}{\text{mg protein}} = 0,90875 \text{ mg}$$
- e. Perhitungan enzim xantin oksidase di laboratorium

Cawan	25,7311 g
Cawan + isi	25,7402 g
Bobot enzim	0,0091 g → 9,1 mg

$$\frac{x \text{ unit}}{0,7 \frac{\text{unit}}{\text{mg protein}}} \times 6,36 \text{ mg} \frac{\text{solid}}{\text{mg protein}} = 9,1 \text{ mg} \rightarrow 1 \text{ unit}/10 \text{ mL} \rightarrow 0,1 \text{ unit}/\text{mL}$$

Perhitungan Larutan Substrat Xantin

BM Xantin 152,11 g/mol(Sigma Aldrich)

Substrat xantin yang ditimbang: 15,21 mg

$$\text{mmol xantin} = \frac{15,21 \text{ mg}}{152,11 \frac{\text{g}}{\text{mol}}} = 0,1 \text{ mmol}$$

Untuk mendapatkan 1 mM xantin maka:

$$1 \text{ mM} = \frac{0,1 \text{ mmol}}{\text{volume (L)}}$$

Volume = 0,1 L → 100 mL

Perhitungan substrat di laboratorium

Cawan	43,5547 g
Cawan + isi	43,5700 g
Bobot enzim	0,0153 g → 15,3 mg

Lampiran 6. Penimbangan Standar Allopurinol dan Ekstrak Daun Salam

a. Penimbangan Standar Allopurinol

Bobot standar allopurinol

- Konsentrasi allopurinol (10 mL) = 10 mg/10 mL
= 1000 µg/mL = 1000 ppm
- Volume yang diambil untuk mendapatkan seri konsentrasi
 - a. 0,5 ppm → 1000 ppm . x = 0,5 ppm . 10 mL
= 5 µL
 - b. 1 ppm → 1000 ppm . x = 1 ppm . 10 mL
= 10 µL
 - c. 2,5 ppm → 1000 ppm . x = 2,5 ppm . 10 mL
= 25 µL
 - d. 5 ppm → 1000 ppm . x = 5 ppm . 10 mL
= 50 µL
 - e. 10 ppm → 1000 ppm . x = 10 ppm . 10 mL
= 100 µL

b. Penimbangan Ekstrak Daun Salam

Bobot ekstrak etanol daun salam = 10 mg

- Konsentrasi ekstrak etanol daun salam (10 mL) = 10 mg/10 mL
= 1000 µg/mL = 1000 ppm
- Volume yang diambil untuk mendapatkan seri konsentrasi
 - a. 10 ppm → 1000 ppm . x = 10 ppm . 10 mL
= 100 µL
 - b. 20 ppm → 1000 ppm . x = 20 ppm . 10 mL
= 200 µL
 - c. 30 ppm → 1000 ppm . x = 30 ppm . 10 mL
= 300 µL
 - d. 40 ppm → 1000 ppm . x = 40 ppm . 10 mL
= 400 µL
 - e. 50 ppm → 1000 ppm . x = 50 ppm . 10 mL
= 500 µL

Lampiran 7. Gambar Simplisia Daun Salam, Ekstrak Daun Salam



Gambar 5. Serbuk Simplisia Daun Salam



Gambar 6. Proses re-maserasi dan ekstrak etanol kering daun salam

Lampiran 8. Karakterisasi Simplisia Daun Salam



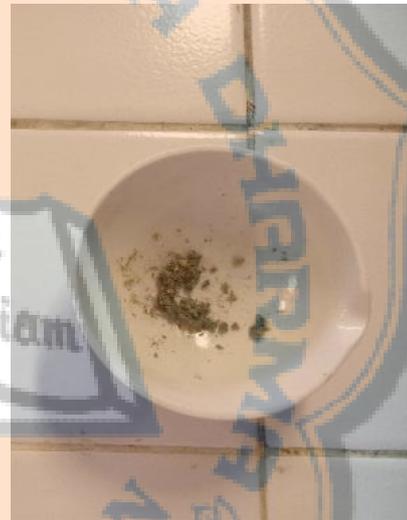
Penetapan kadar sari larut etanol



Penetapan kadar sari larut air



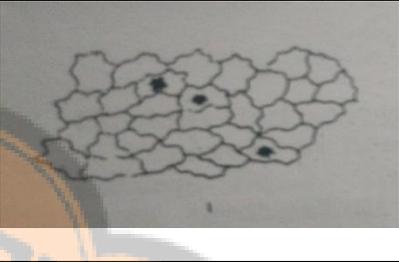
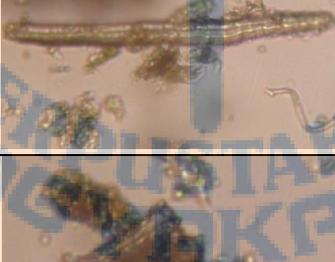
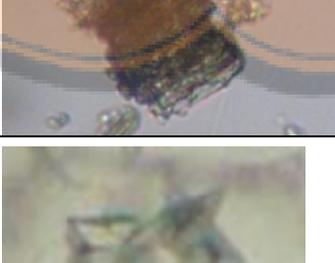
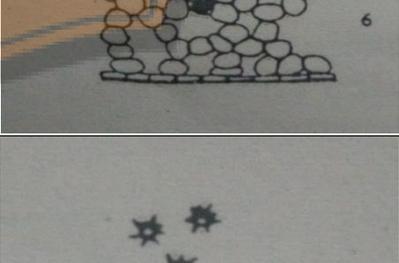
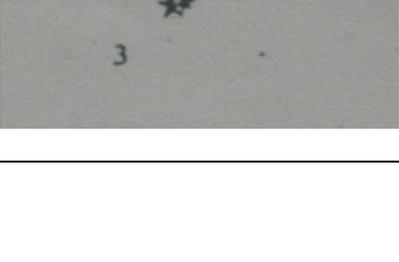
Penetapan kadar air



Penetapan kadar abu total

Gambar 7. Karakterisasi Simplisia Daun Salam

Lampiran 9. Pemeriksaan Mikroskopik Serbuk Simplisia Daun Salam

Bagian	Hasil	Literatur
Epidermis atas		
Berkas pembuluh		
Epidermis bawah dengan stoma tipe parasitik		
Serabut sklerenkim		
Fragmen mesofil		
Kristal Kalsium Oksalat		

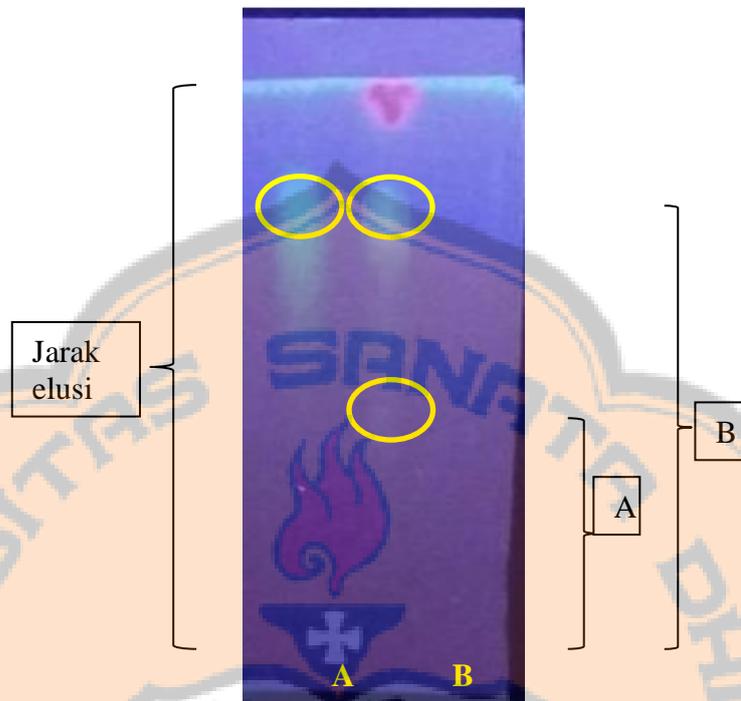
Lampiran 10. Uji Kualitatif Daun Salam

No.	Uji Tabung	Hasil	Literatur
1.	<p>Uji Saponin</p> 	Terbentuk busa	Terbentuk busa setelah penggojokan
2.	<p>Uji Flavonoid</p> 	Larutan yang terbentuk berwarna kuning	Larutan yang terbentuk berwarna kuning setelah penambahan reagen
3.	<p>Uji Tannin</p> 	Larutan yang terbentuk berwarna hijau kehitaman	Terbentuknya warna biru tua atau hijau kehitaman setelah ditambahkan dengan pereaksi $FeCl_3$
4.	<p>Uji Alkaloid</p> 	Larutan berubah berwarna meah dan terbentuk endapan merah bata	Terbentuknya endapan warna merah setelah ditetesi reagen Dragendroff
5.	<p>Uji Steroid</p>  <p style="text-align: center;">Terbentuknya cincin coklat</p>	Terbentuknya cincin berwarna cokelat	Terbentuknya cincin warna coklat menunjukkan adanya triterpenoid, sedangkan sterol diitunjukkan dengan cincin berwarna hijau
6.	<p>Uji Minyak Atsiri</p> 	tercium bau spesifik setelah dipanaskan	Tercium bau spesifik setelah dipanaskan



Gambar 8. Proses elusi plat KLT oleh ekstrak etanol daun salam

Lampiran 11. Perhitungan Nilai Rf Ekstrak Etanol Daun Salam



Ket. A: standar kuersetin, B: ekstrak etanol daun salam. Fase diam yang digunakan yaitu silika gel GF₂₅₄ dengan fase gerak n-butanol:asam asetat: air dengan perbandingan 4:1:5 da jarak rambat 75 mm dengan deteksi UV 366 nm.

Tabel Perhitungan Nilai Rf

	Jarak Bercak (cm)	Jarak Elusi (cm)	Nilai Rf
A	3,4	7,5	0,45
B	6,7		0,89

Lampiran 12. Data Penimbangan Ekstrak Etanol Daun Salam dan % rendemen.

	Penimbangan
Arloji kosong	53,0911 g
Arloji + isi	63,0916 g
Arloji + sisa	53,0918 g
Bobot	9,9998 g

Penimbangan Simplisia Daun Salam untuk Ekstraksi

	Penimbangan
Cawan porselen	65,7231 g
Cawan + isi	67,2460 g

Penimbangan Bobot Tetap

Bobot Cawan	Cawan + isi	Bobot ekstrak	Rendemen
65,7231 g	67,2460 g	1,5229 g	15,23%

Perhitungan Rendemen Ekstrak

$$\% \text{ rendemen ekstrak daun salam} = \frac{\text{bobot ekstrak}}{\text{bobot simplisia awal}} \times 100\%$$

$$\% \text{ rendemen ekstrak daun salam} = \frac{1,5229 \text{ g}}{9,9998 \text{ g}} \times 100\%$$

$$= 15,23\%$$

Lampiran 13. Data Penimbangan Karakterisasi Daun Salam

Tabel Penimbangan Kadar Abu Total

Cawan kosong	24,1667 g
Cawan + isi	27,1670 g
Bobot	3,0003 g
Cawan + isi (setelah dipijar)	24,2183 g
Bobot abu	0,0516 g
Kadar abu total	1,72% b/b

Tabel Penimbangan Kadar Abu Tidak Larut Asam

Cawan kosong	24,1667 g
Cawan + isi (setelah dipijar)	24,1913 g
Bobot abu	0,0246 g
Kadar abu tidak larut asam	0,82% b/b

Tabel Penimbangan Kadar Sari Larut Air

Bobot simplisia	5,0002 g
Cawan kosong	41,5215 g
Cawan + isi	42,3808 g
Bobot	0,8593 g
Kadar sari larut air	17,19% b/b

Tabel Penimbangan Kadar Sari Larut Etanol

Bobot simplisia	5,0001 g
Cawan kosong	47,9690 g
Cawan + isi	48,5802 g
Bobot	0,6112 g
Kadar sari larut air	12,22% b/b

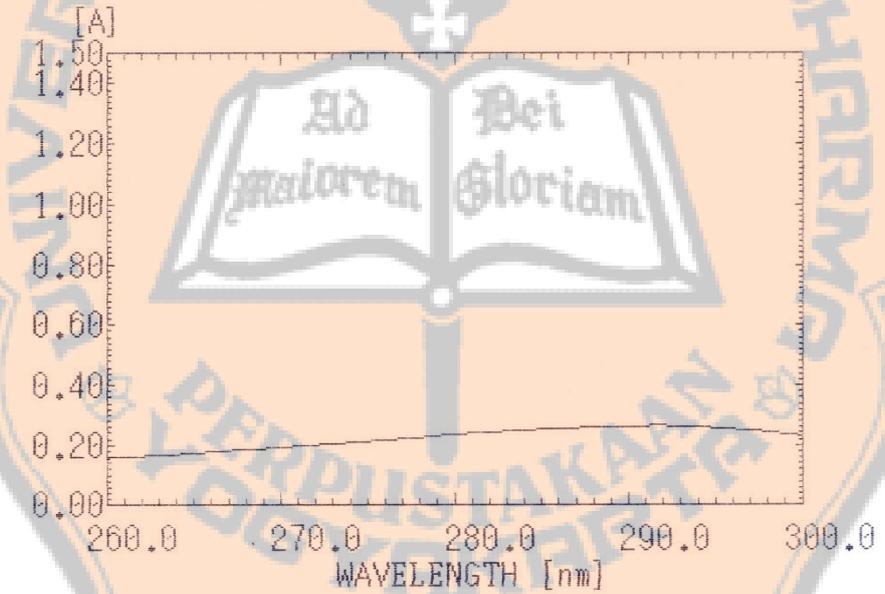
Lampiran 14. Data Optimasi Panjang Gelombang

18/Nov/17 13:31:17

Peak detection			
Abscis.	ABS	Abscis.	ABS
291.5	0.265		

Graph [A] Valley

18/Nov/17 13:33:29



Lampiran 15. Data Perhitungan %Inhibisi dan IC₅₀ Standar Allopurinol dan Ekstrak Etanol Daun Salam dan Grafik Persamaan Linear

Tabel Data Absorbansi Kontrol Blanko dan Blanko

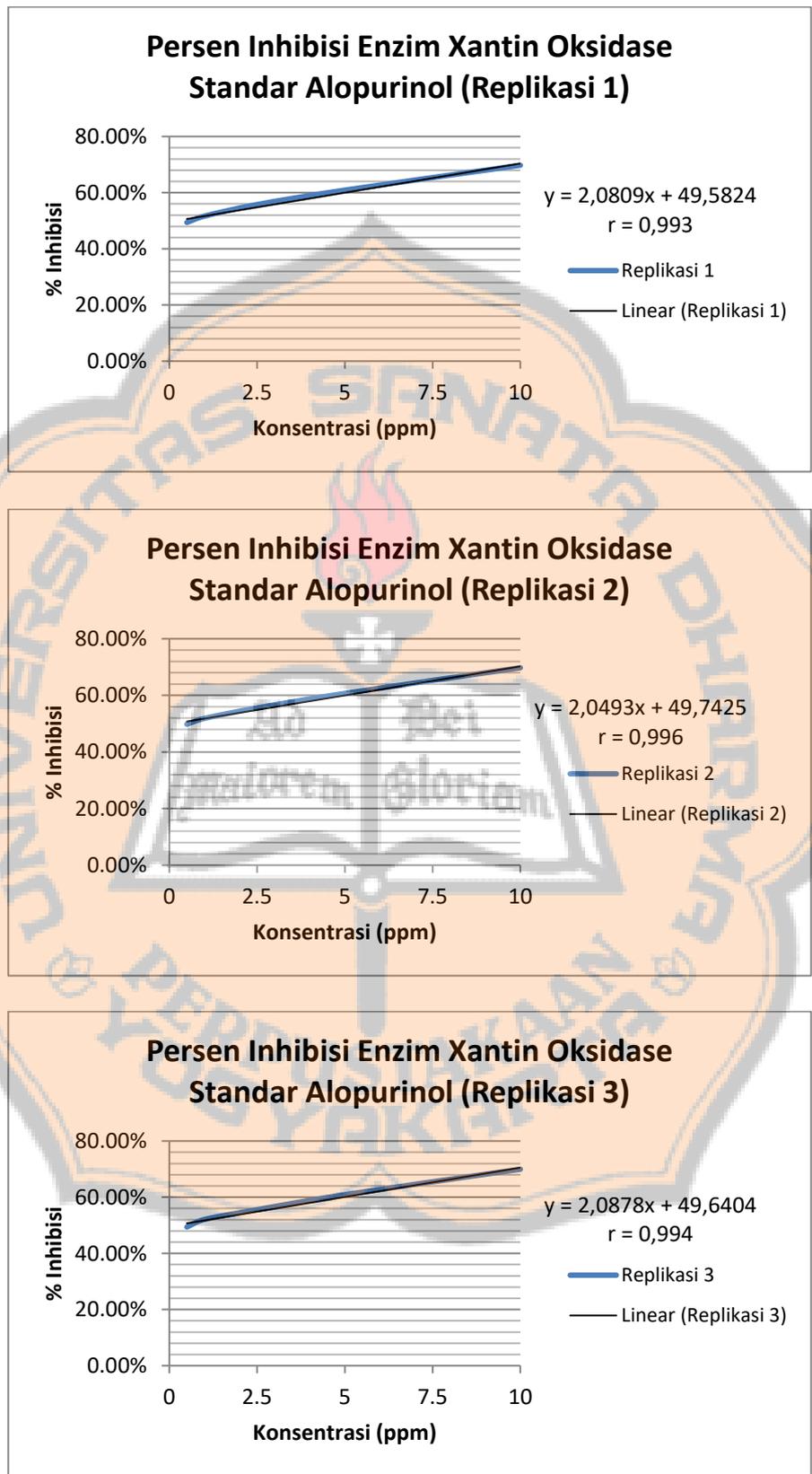
	Blanko	Kontrol Blanko	(Rata2 B)-(Rata-rata KB)
Replikasi 1	0,616	0,151	0,486
Replikasi 2	0,664	0,152	
Replikasi 3	0,634	0,152	
Rata-rata	0,638	0,152	

Tabel Perhitungan %Inhibisi dan IC₅₀ Standar Allopuriol

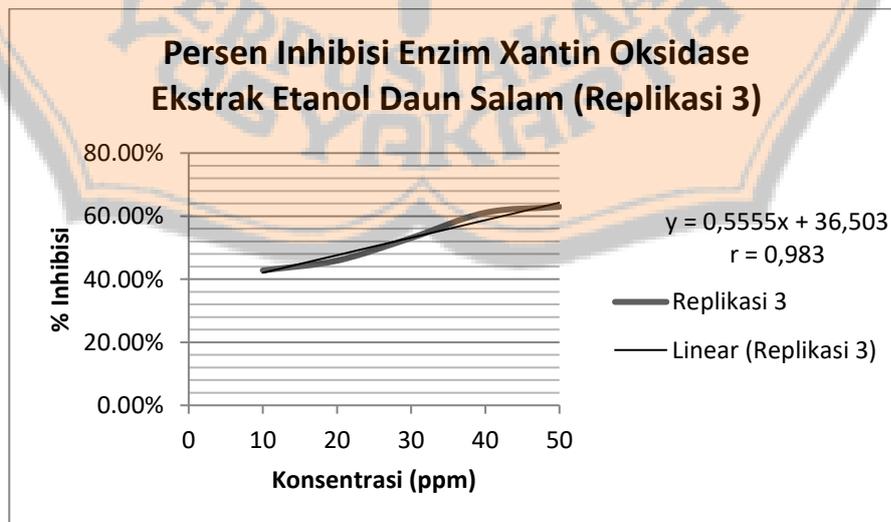
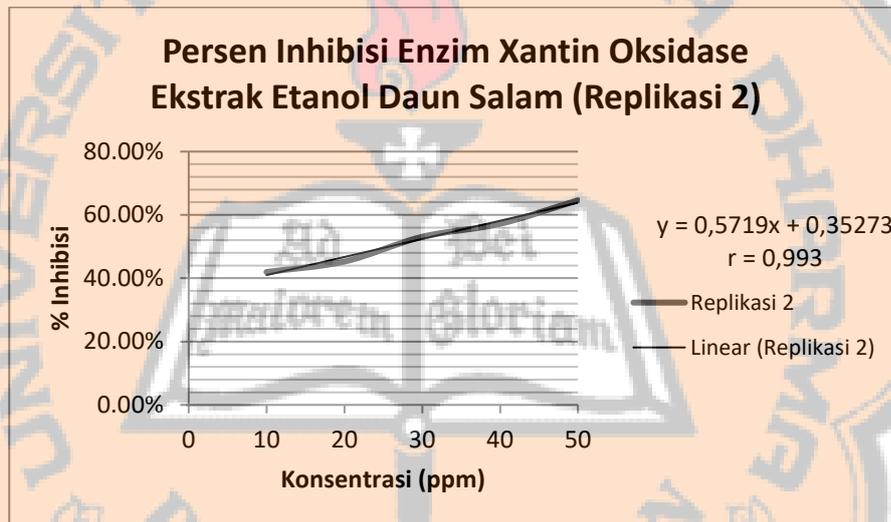
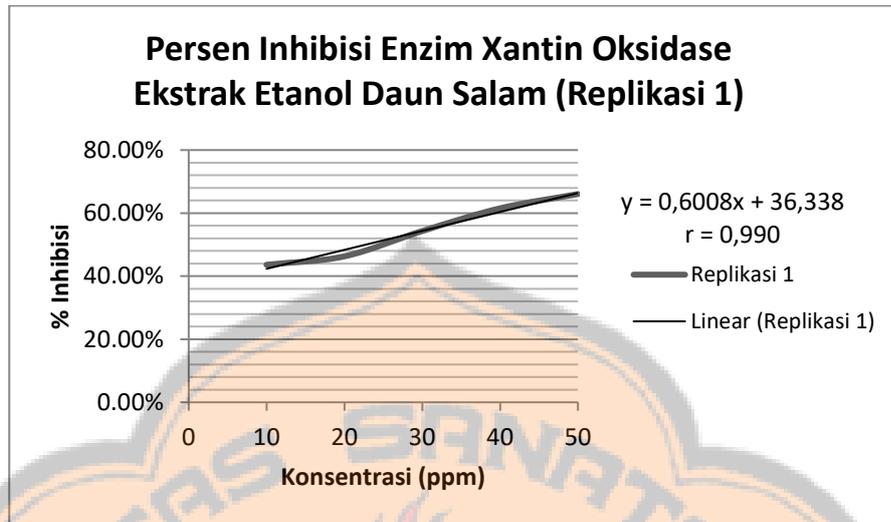
Replikasi	Konsentrasi (µg/mL)	Sampel	Kontrol Sampel	B – KB	S – KS	% Inhibisi	IC ₅₀
R1	0,5	0,306	0,060	0,486	0,246	49,38%	0,200
	1	0,289	0,054	0,486	0,235	51,65%	
	2,5	0,274	0,059	0,486	0,215	55,76%	
	5	0,259	0,069	0,486	0,190	60,91%	
	10	0,243	0,096	0,486	0,147	69,75%	
R2	0,5	0,305	0,061	0,486	0,244	49,79%	0,126
	1	0,289	0,055	0,486	0,234	51,85%	
	2,5	0,275	0,059	0,486	0,216	55,56%	
	5	0,259	0,068	0,486	0,191	60,70%	
	10	0,243	0,096	0,486	0,147	69,75%	
R3	0,5	0,305	0,059	0,486	0,246	49,38%	0,172
	1	0,289	0,056	0,486	0,233	52,06%	
	2,5	0,274	0,058	0,486	0,216	55,56%	
	5	0,259	0,069	0,486	0,190	60,91%	
	10	0,243	0,097	0,486	0,146	69,96%	

Tabel Perhitungan %Inhibisi dan IC₅₀ Ekstrak Etanol Daun Salam

	Konsentrasi (µg/mL)	Sampel	Kontrol Sampel	B - KB	S - KS	%inhibisi	IC ₅₀
R.1	10	0,389	0,115	0,486	0,274	43,62%	22,74
	20	0,381	0,120	0,486	0,261	46,30%	
	30	0,349	0,127	0,486	0,222	54,32%	
	40	0,315	0,128	0,486	0,187	61,52%	
	50	0,296	0,131	0,486	0,165	66,05%	
R.2	10	0,397	0,115	0,486	0,282	41,98%	25,75
	20	0,382	0,116	0,486	0,266	45,27%	
	30	0,354	0,126	0,486	0,228	53,09%	
	40	0,339	0,131	0,486	0,208	57,20%	
	50	0,306	0,134	0,486	0,172	64,61%	
R.3	10	0,391	0,113	0,486	0,278	42,80%	24,30
	20	0,381	0,118	0,486	0,263	45,88%	
	30	0,353	0,125	0,486	0,228	53,09%	
	40	0,318	0,129	0,486	0,189	61,11%	
	50	0,311	0,131	0,486	0,180	62,96%	



Gambar 9. Persen Inhibisi Enzim Xantin Oksidase Standar Allopurinol 3 Replikasi



Gambar 10. Persen Inhibisi Enzim Xantin Oksidase Ekstrak Etanol Daun Salam 3 Replikasi

Lampiran 16. Surat Legalitas Penggunaan Aplikasi SPSS untuk Pengujian Data Secara Statistik



SURAT KETERANGAN

NO. 10/UGM/KU/CEBU.4/PELTH/I/2018

Yang bertanda tangan dibawah ini saya:

Nama : Dewi Ismimasitoh
NIP : 196805312014092001
Jabatan : Data Manajemen dan Analisis Data Pusat Kajian CE&BU
Fakultas Kedokteran UGM

dengan ini menerangkan bahwa:

Nama : Agnes Puspitasari
No. Mhs : 148114154

Telah melakukan Analisa Data di Pusat Kajian CE&BU dengan menggunakan program " IBM SPSS Statistics 22 Lisensi UGM."

Demikian surat keterangan ini saya buat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Yogyakarta, 17 Januari 2018
Analisis Data



Dewi Ismimasitoh
NIP. 196805312014092001



Lampiran 17. Hasil Pengujian IC₅₀ dengan Statistik

Descriptives

Group		Statistic	Std. Error	
IC 50	ALLOPURINOL	Mean	.16733	
		95% Confidence Interval for Mean		
		Lower Bound	.07355	
		Upper Bound	.26112	
		5% Trimmed Mean	.	
		Median	.17600	
		Variance	.001	
		Std. Deviation	.037754	
		Minimum	.126	
		Maximum	.200	
		Range	.074	
		Interquartile Range	.	
		Skewness	-.979	1.225
		Kurtosis	.	.
DAUN SALAM		Mean	24.26333	
		95% Confidence Interval for Mean		
		Lower Bound	20.52387	
		Upper Bound	28.00279	
		5% Trimmed Mean	.	
		Median	24.30000	
		Variance	2.266	
		Std. Deviation	1.505335	
		Minimum	22.740	
		Maximum	25.750	
		Range	3.010	
		Interquartile Range	.	
		Skewness	-.110	1.225
		Kurtosis	.	.

Tests of Normality

Group	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
IC 50 ALLOPURINOL	.257	3	.	.960	3	.618
DAUN SALAM	.178	3	.	1.000	3	.960

a. Lilliefors Significance Correction

T-Test

Group Statistics

Group	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
IC 50 ALLOPURINOL	3	.16733	.037754	.021797
DAUN SALAM	3	24.26333	1.505335	.869106

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means	
		F	Sig.	t	df
IC 50	Equal variances assumed	4.071	.114	-27.716	4
	Equal variances not assumed			-27.716	2.003

Independent Samples Test

		t-test for Equality of Means			
		Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference
					Lower
IC 50	Equal variances assumed	.000	-24.096000	.869379	-26.509783
	Equal variances not assumed	.001	-24.096000	.869379	-27.832135

Independent Samples Test

		t-test for Equality of Means	
		95% Confidence Interval of the Difference	
		Upper	
IC 50	Equal variances assumed	-21.682217	
	Equal variances not assumed	-20.359865	

BIOGRAFI PENULIS



Penulis skripsi dengan judul “Karakterisasi dan Identifikasi Kandungan Kimia Daun Salam Serta Uji Efek Penghambatan Enzim Xantin Oksidase Ekstrak Etanol Daun Salam (*Eugenia Polyantha* Wight.)” memiliki nama lengkap Agnes Puspitasari. Penulis merupakan anak pertama dari 2 bersaudara dari pasangan Tjioe, Jiantoro dan Novi Suryani. Penulis dilahirkan di Purwokerto, 18 Oktober 1997.

Riwayat pendidikan formal yang ditempuh penulis yaitu TK Kristen Bina Harapan Purbalingga (2000-2003), kemudian penulis melanjutkan pendidikan tingkat Sekolah Dasar di SD Kristen Bina Harapan Purbalingga (2003-2009). Penulis melanjutkan pendidikan di SMP Negeri 1 Purbalingga (2009-2012) dan SMA Negeri 1 Purwokerto (2012-2014). Kemudian pada tahun 2014, penulis melanjutkan pendidikan sarjana di Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma. Selama memasuki masa perkuliahan, penulis aktif menjalani berbagai kegiatan di fakultas. Penulis pernah menjadi Asisten Dosen pada mata kuliah Botani Farmasi (2017), Komunikasi Farmasi (2017), dan Pharmaceutical Care 3 (2018). Selain itu penulis pernah menjadi panitia Pharmacy Performance Road to School (2015, 2016), Pharmacy 3 ON 3 Basketball Competition (2015, 2016) LCC Kimia 2016 serta penulis pernah mengikuti Seminar Nasional Pharmadays 2014 “Mengupas Peran Praktisi Kesehatan dalam Penggunaan Obat Off Label di Indonesia”.