

Efektivitas Penghambatan Enzim Xantin Oksidase Ekstrak Etanol Dan Fraksi Etanol, Fraks Etil Asetat Serta Fraksi N-Heksane Kulit Batang Mangrove Merah (*Rhizophora Mucronata*)

Danang Raharjo^{1*}, Bangkit Riska Permata^{2*}, Rafidah Haifah^{3*}

^{1,2,3} Program Studi Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Duta Bangsa Surakarta,
danang_raharjo@udb.ac.id

Received:7-3-2022

Revised: 9-3-2022

Accepted: 10-3-2022

Abstract

Hyperuresmia is an increase in serum uric acid levels above the normal limit (7.0 mg/dL for men and 6.0 mg/dL for women). Hyperuresmia at an advanced stage can cause gout or gout (a disease that attacks the joints and causes joint damage), kidney stones, kidney damage, and hypertension. One of the types of mangrove plants in Indonesia is the red mangrove (*Rhizophora mucronata*). Utilization of red mangrove as a traditional medicine has long been used as a medicine for sprains, diarrhea, dysentery, blood urine, fever, angina, diabetes, hematuria, stopping bleeding, coughing, inflammation and rheumatism. *Rhizophora mucronata* contains secondary metabolites of the phenol group, tannins, flavonoids, saponins, glucosides, terpenoids, and alkaloids. The purpose of this study was to determine the inhibitory activity of xanthine oxidase ethanol extract and bark fraction of red mangrove (*Rhizophora mucronata*) in vitro. The research process begins with the extraction of the bark of the red mangrove (*Rhizophora mucronata*) with 96% ethanol, then the process of fractionation using the liquid-liquid partition method with a separating funnel. Testing the activity of xanthine oxidase inhibition in vitro using a UV/VIS spectrophotometer. The results showed that the ethanol extract, ethanol fraction, ethyl acetate fraction and hexane fraction showed inhibitory activity of the xanthine oxidase enzyme with IC₅₀ values of 197,558 ± 20,862; 58,755 ± 3,821; 38,543 ± 1,440 and 210,213 ± 15,577 ppm. From the results of the study, it can be concluded that the ethanol extract and bark fraction of red mangrove (*Rhizophora mucronata*) can inhibit the activity of the xanthine oxidase enzyme with the ethyl acetate fraction providing the highest inhibitory activity with an IC₅₀ value of ; 38,543 ± 1,440 ppm.

Keywords: *Rhizophora mucronata*; Xanthine oxidase; Antihyperuricemia; Fraction.

Abstrak

Hiperuresmia merupakan peningkatan kadar asam urat serum di atas batas normal (7,0 mg/dL untuk pria dan 6,0 mg/dL untuk wanita). Hiperuresmia pada stadium lanjut dapat menyebabkan penyakit gout atau pirai (penyakit yang meyerang pada sendi dan menyebabkan kerusakan sendi), batu ginjal, kerusakan ginjal, dan hipertensi. Salah satu jenis tumbuhan mangrove yang ada di Indonesia adalah mangrove merah (*Rhizophora mucronata*). Pemanfaatan mangrove merah sebagai obat tradisional telah lama digunakan sebagai obat keseleo, diare, disentri, kencing darah, demam, angina, kencing manis, hematuria, penghenti pendarahan, batuk, radang dan rematik. *Rhizophora mucronata* mengandung metabolit sekunder golongan fenol, tanin, flavonoid, saponin, glukosida, terpenoid, dan alkaloid. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas penghambatan xantin oksidase ekstrak etanol dan fraksi kulit batang mangrove merah (*Rhizophora mucronata*) secara in vitro. Proses penelitian diawali dengan ekstraksi kulit batang mangrove merah (*Rhizophora mucronata*) dengan etanol 96 %, selanjutnya proses farksinasi menggunakan metode partisi cair-cair dengan corong pisah. Pengujian penghambatan aktivitas enzim xantin oksidase secara in vitro menggunakan spektrofotometer UV/VIS. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol, fraksi etanol, fraksi etil asetat dan fraksi heksane menunjukkan aktivitas penghambatan enzim xantin oksidase dengan nilai IC₅₀ masing-masing sebesar 197,558 ± 20,862; 58,755 ± 3,821; 38,543 ± 1,440 dan 210,213 ± 15,577 ppm. Dari hasil penelitian dapat disimpulkan ekstrak etanol dan fraksi kulit batang mangrove merah (*Rhizophora mucronata*) dapat menghambat

aktivitas enzim xantin oksidase dengan fraksi etil asetat memberikan aktivitas penghambatan tertinggi dengan nilai IC_{50} sebesar ; $38,543 \pm 1,440$ ppm.

Kata kunci: *Rhizopora mucronata*; Xantin oksidase; Antihiperuresemia; Fraksi.

1. Pendahuluan

Tingginya kadar asam urat dalam darah (UA Serum) merupakan salah satu masalah kesehatan yang dihadapi masyarakat dan berperan dalam etiologi banyak penyakit sistemik. Tingginya kadar asam urat dapat menjadi faktor pemicu terjadinya penyakit gagal ginjal, kardiovaskuler, neurodegeneratif, serebrovaskuler, autoimun, inflamasi, muskuloskeletal, endokrin metastasis dan gangguan metabolisme [1].

Hiperuresemia merupakan peningkatan kadar asam urat serum di atas batas normal (7,0 mg/dL untuk pria dan 6,0 mg/dL untuk wanita). Hiperuresemia pada stadium lanjut dapat menyebabkan penyakit gout atau pirai (penyakit yang meyerang pada sendi dan menyebabkan kerusakan sendi), batu ginjal, kerusakan ginjal, dan hipertensi [2].

Gout merupakan salah satu jenis penyakit radang sendi yang dipicu oleh tingginya kadar monosodium urat (MSU) dalam darah dan mengendap di sendi. Endapan monosodium urat membentuk kerystal dengan tepi yang tajam sehingga merusak jaringan sendi dan menyebabkan peradangan[3]. Monosodium urat atau asam urat merupakan hasil dari proses katabolisme purin yang dikatalisis oleh enzim xantin oksidase[4]. Pada keadaan normal asam urat akan diangkut ke ginjal dan di keluarkan melalui feses dan urin [5].

Salah satu jenis tumbuhan mangrove yang ada di Indonesia adalah bakau merah (*Rhizopora mucronata*). Pemanfaatan mangrove merah sebagai obat tradisional telah lama digunakan sebagai obat keseleo, diare, disentri, kencing darah, demam, angina, kencing manis, hematuria, penghenti pendarahan, batuk, radang dan rematik [6]. *Rhizophora mucronata* mengandung metabolit sekunder golongan fenol, tanin, flavonoid, saponin, glukosida, terpenoid, dan alkaloid [7]. Senyawa Flavonoid berperan seperti allopurinol yaitu sebagai inhibitor kompetitif yang bekerja dengan cara berkompetisi dengan substrat xantin untuk berikatan dengan sisi aktif enzim [8]. Gugus C-5 dan C-7 dihidrosil di cincin A pada flavonoid memiliki gugus yang mirip dengan xantin oksidase sehingga dapat menurunkan kadar asam urat [9]. Flavonoid bertindak sebagai inhibitor kompetitif dalam menghambat aktivitas xantin oksidase. Cos et al., 1998 melaporkan adanya ikatan rangkap pada flavonoid (terutama flavon dan flavonol) pada atom C2 dan C3 pada cincin C, mengakibatkan posisi cincin B co-planar dengan cincin A karena adanya konjugasi sehingga meningkatkan penghambatan xantin aktivitas oksidase [10].

Rhizopora mucronata memiliki banyak efek farmakologis seperti antioksidan, anti inflamasi, anti bakteri, antimikroba, sifat antidiabetes, analgesik, anti-HIV, dan anti-kolinesterase [11]. Chakraborty dan Raola, 2017 melaporkan ekstrak etanol daun *Rhizopora mucronata* memiliki efek sebagai antioksidan dengan metode DPPH menghasilkan nilai IC_{50} sebesar 13,8 ppm, sedangkan Suganthy dan Devi, 2016 melakukan uji yang sama dan mendapatkan nilai IC_{50} 47,39 ppm [12].

Berdasarkan penelitian tersebut, mendorong peneliti untuk mengkaji lebih lanjut mengenai efek kulit batang mangrove *Rhizopora mucronata*. Peneliti akan mengkaji lebih dalam untuk mengetahui senyawa kimia aktif yang mempunyai aktivitas penghambat enzim xantin oksidase dari ekstrak etanol dan fraksi kulit batang mangrove *Rhizopora mucronata*.

Data diperoleh dengan mengukur nilai IC₅₀ ekstrak etanol dan fraksi kulit batang mangrove *Rhizophora mucronata*.

2. Metode

Alat dan Bahan

Spektrofotometer UV/VIS, bejana maserasi, rotary evaporator, corong pisah, alat gelas, serbuk kulit mangrove *Rhizophora mucronata*, etanol 96 %, aquades, etil asetat, heksane, dapar fosfat pH 7,5 0,05M, HCl 1N, substrat xantin (Sigma Aldrich), enzim xantin oksidase (Sigma Aldrich), DMSO 1%.

Ekstraksi Kulit Batang Mangrove Merah (*Rhizophora mucronata*)

Sebanyak 500 gram serbuk kulit batang mangrove merah diekstraksi dengan cara maserasi dengan menggunakan pelarut etanol 96 % selama 24 jam dengan beberapa kali pengadukan, kemudian saring dengan corong buchner. Ampas di remaserasi sebanyak 2 kali selama 24 jam. Maserat yang dipekatkan dengan rotary evaporator pada suhu 40 – 60°C. Ampas di remaserasi sebanyak 3 kali. Filtrat diuapkan diatas waterbath dan didapatkan ekstrak kental.

Fraksinasi Ekstrak Etanol Kulit Batang Mangrove Merah (*Rhizophora mucronata*)

Ekstrak kental sebanyak 20 g ekstrak dilarutkan dengan aquades sebanyak 150 mL etanol, kemudian dimasukkan dalam corong pisah. Fraksinasi pertama dengan penambahan n-heksana sebanyak 150 mL kemudian digojog dan didiamkan sampai terbentuk 2 lapisan (lapisan aquadest di bawah dan lapisan n-heksana di atas) ambil lapisan n-heksana (replikasi 3 kali). Fraksinasi selanjutnya dilakukan dengan penambahan etil asetat sebanyak 150 mL ke dalam lapisan kemudian digojog dan didiamkan sampai terbentuk 2 lapisan (lapisan aquadest di bawah dan lapisan etil asetat di atas) ambil lapisan n-heksana (replikasi 3 kali). Fraksi air, fraksi etil asetat dan fraksi n-heksana selanjutnya dipekatkan dengan rotary evaporator dan dipekatkan di atas water bath [13].

Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Kulit Batang Mangrove Merah (*Rhizophora mucronata*)

a. Senyawa Alkaloid

Larutan uji sebanyak 2 mL diuapkan di atas cawan porselin. Residu yang dihasilkan kemudian dilarutkan dengan 5 mL HCL 2 N. Larutan yang diperoleh dibagi ke dalam 3 tabung reaksi. Tabung pertama ditambahkan dengan 3 tetes HCl 2 N yang berfungsi sebagai blanko. Tabung kedua ditambahkan 3 tetes pereaksi Dragendorff dan tabung ketiga ditambahkan 3 tetes pereaksi Mayer. Terbentuk endapan jingga pada tabung kedua dan endapan kuning pada tabung ketiga menunjukkan adanya alkaloid [14].

b. Senyawa Flavonoid

Sebanyak 2 mg ekstrak kental dilarutkan dalam 1 mL etanol (95%) P. Kemudian ditambahkan 0.1 gram serbuk magnesium P dan 10 tetes asam klorida pekat. Jika

terjadi warna merah jingga sampai merah ungu menunjukkan adanya flavonoid. Jika warna kuning jingga menunjukkan adanya flavon, kalkon dan auron [14].

c. Senyawa Saponin

Sebanyak 1 gram ekstrak ditambahkan dengan air hangat, dikocok vertikal selama 10 detik kemudian dibiarkan selama 10 detik. Pembentukan busa setinggi 1–10 cm yang stabil selama tidak kurang dari 10 menit, menunjukkan adanya saponin. Pada penambahan 1 tetes HCl 2 N, busa tidak hilang [15].

d. Senyawa Tanin

Larutan uji sebanyak 1 mL direaksikan dengan larutan besi (III) klorida 10%, jika terjadi warna biru tua atau hitam kehijauan menunjukkan adanya tanin [16].

e. Senyawa Steroid/terpenoid

Ekstrak sebanyak 0,2 gram dilarutkan dalam 10 mL etanol lalu dibagi menjadi dua bagian, masing-masing 5 mL, ditandai sebagai larutan IA dan IB. Larutan IA digunakan sebagai blanko dan larutan IB ditambah 1-2 mL H₂SO₄ pekat melalui dinding tabung reaksi. Adanya steroid tak jenuh ditandai dengan timbulnya cincin berwarna merah [15].

Uji Penghambatan Aktivitas Enzim Xantin Oksidase Secara Invitro

Sebanyak 1 mL larutan uji tambahkan 2,9 mL dapar fosfat pH 7,5 0,05 M, kemudian ditambahkan 2 mL larutan substrat ksantin 0,15 mM, pra inkubasi pada suhu 25°C selama 15 menit, lalu ditambahkan 0,1 mL larutan ksantin oksidase dan diinkubasi pada suhu 25°C selama 30 menit lalu segera ditambahkan 1 mL HCl 1 N untuk menghentikan reaksi. Ukur absorbansi pada panjang gelombang maksimal. Hitung persen penghambatan aktivitas ksantin oksidase dengan menggunakan persamaan:

$$\text{Percent inhibition} = \left\{ \frac{(A - B) - (C - D)}{(A - B)} \right\} \times 100$$

Dimana :

- A : Absorbansi tanpa sampel
- B : Absorbansi kontrol tanpa sampel dan enzim
- C : Absorbansi sampel
- D : Absorbansi kontrol tanpa enzim.

Nilai IC₅₀ dihitung menggunakan rumus persamaan regresi linier antara konsentrasi versus % penghambatan. Aktivitas inhibisi dinyatakan dengan *Inhibition Concentration* 50% (IC₅₀) yaitu konsentrasi sampel yang dapat menghambat kerja enzim ksantin oksidase sebanyak 50%. Nilai IC₅₀ didapatkan dari nilai x setelah mengganti y = 50 [17].

Tabel 1. Tabel perlakuan sampel dalam pengujian antihiperuresemia secara invitro.

Bahan	Volume (mL)			
	Sampel	Kontrol Sampel	Blanko	Kontrol blanko
Larutan ekstrak (300, 200, 100, 50, dan 5 ppm)	1	1	-	-
Larutan fraksi (50, 25, 10, 5, 1 ppm)	1	1	-	-
Larutan allopurinol (0,625, 1,25, 2,5, 5, dan 10 ppm)	1	1	-	-

Dapar fosfat pH 7,5 0,05 M	2,9	2,9	3,9	3,9
Substrat Ksantin 0,15 mM	2	2	2	2
Inkubasi selama 15 menit suhu 25°C				
Larutan ksantin oksidase	0,1	-	0,1	-
Dapar fosfat pH 7,5 0,05M	-	0,1	-	0,1
Diinkubasi 25°C selama 30 menit				
HCl 1N	1	1	1	1

3. Hasil dan Pembahasan

Hasil

Tabel 2. Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Kulit Batang Mangrove Merah (*Rhizopora mucronata*)

No	Golongan Senyawa	Hasil
1	Alkaloid	+
2	Steroid	+
3	Terpenoid	+
4	Flavonoid	+
5	Fenolik	+
6	Saponin	+
7	Tanin	+

Tabel 3. Hasil Uji Penghambatan Aktivitas Enzim Xantin Oksidase Ekstrak Etanol, Fraksi Kulit Batang Mangrove Merah (*Rhizopora mucronata*) Dan Allopurinol pada panjang gelombang 282,5 nm.

No	Sampel	Hasil IC ₅₀ (ppm)
1	Allopurinol	0,28 ± 2,162
2	Ekstrak Etanol	197,558 ± 20,862
3	Fraksi Etanol	58,755 ± 3,821
4	Fraksi Etil asetat	38,543 ± 1,440
5	Fraksi Heksane	210,213 ± 15,577

PEMBAHASAN

Dalam penelitian ini sampel yang digunakan adalah kulit batang mangrove merah (*Rhizopora mucronata*) yang didapatkan dari daerah Sigandu, Pekalongan dan dilakukan detriminasi oleh Materia Medika Batu Malang. Proses ekstraksi dilakukan dengan maserasi dengan merendam 500 gram serbuk kulit batang mangrove merah (*Rhizopora mucronata*) dengan menggunakan etanol 96% sebagai pelarut selama 24 jam kemudian disaring. Ampas yang didapatkan kemudian dilakukan remaserasi sebanyak 2 kali dengan waktu 24 jam setiap remaserasi. Maserat yang dihasilkan kemudian dilakukan pemekatan dengan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40°C sampai 60°C. Setelah dilakukan pemekatan didapatkan rendemen sebanyak 12,8 %. Proses skrining fitokimia dilakukan dengan uji tabung untuk mengetahui golongan senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak etanol kulit batang mangrove merah (*Rhizopora mucronata*). Dari hasil skrining fitokimia yang telah dilakukan didapatkan hasil ekstrak etanol mangrove merah (*Rhizopora mucronata*) mengandung senyawa golongan alkaloid, terpenoid, steroid, flavonoid, fenolik, saponin dan

tannin (Tabel 2). Proses fraksinasi dilakukan dengan metode partisi cair-cair dengan menggunakan pelarut etanol, etil asetat dan heksane.

Dalam melakukan pegujian terhadap aktivitas enzim xantin oksidase terhadap ekstrak etanol dan fraksi kulit batang mangrove merah (*Rhizophora mucronata*) dilakukan dalam berbagai konsentrasi untuk mengetahui pengaruh konsentrasi terhadap kemampuan dalam penghambatan aktivitas enzim xantin oksidase untuk mengubah xantin menjadi asam urat. Selain itu juga dilakukan pengujian terhadap kontrol sampel sebagai faktor koreksi sehingga hasil pengukuran merupakan kemampuan sampel sebenarnya dalam menghambat aktivitas enzim xantin oksidase. Sebelum dilakukan pengujian perlu dilakukan optimasi panjang gelombang untuk mengetahui panjang gelombang maksimum asam urat yang dihasilkan dari reaksi antara substrat xantin dan enzim xantin oksidase. Dari optimasi yang dilakukan pada panjang gelombang 200-400 nm, didapatkan hasil panjang gelombang maksimum asam urat dari hasil reaksi sebesar 282,5 nm. Pengujian juga dilakukan terhadap allopurinol sebagai pembanding. Prinsip pengujian penghambatan enzim xantin oksidase adalah dengan mengukur jumlah asam urat yang terbentuk dari reaksi antara xantin dengan enzim xantin oksidase [18].

Hasil pengukuran penghambatan aktivitas enzim xantin oksidase pada sampel menunjukkan hasil sebagai berikut. Ekstrak etanol diperoleh nilai IC_{50} sebesar $197,558 \pm 20,862$ ppm, fraksi etanol (polar) diperoleh nilai IC_{50} sebesar $58,755 \pm 3,821$ ppm, fraksi etil asetat (semi polar) diperoleh nilai IC_{50} sebesar $38,543 \pm 1,440$ ppm dan fraksi heksane non polar diperoleh nilai IC_{50} sebesar $210,213 \pm 15,577$ ppm. Dari hasil pengujian menunjukkan fraksi etil asetat mempunyai nilai IC_{50} terendah yaitu $38,543 \pm 1,440$ ppm.

Hasil pengujian penghambatan aktivitas enzim ksantin oksidase terhadap allopurinol sebagai standar pembanding menunjukkan bahwa alopurinol memiliki efek penghambatan aktivitas ksantin oksidase dengan nilai IC_{50} $0,28 \pm 2,162$ ppm. Allopurinol berperan sebagai inhibitor kompetitif yang memiliki struktur menyerupai substrat. Allopurinol juga diketahui memiliki afinitas puluhan kali lebih kuat terhadap enzim ksantin oksidase dibandingkan ksantin sehingga apabila dalam lingkungan terdapat allopurinol bersama-sama dengan ksantin (substrat), maka allopurinol yang akan lebih bereaksi dengan enzim ksantin oksidase membentuk produk (oksipurinol) dibandingkan dengan substratnya sendiri sehingga aktivitas enzim ksantin oksidase akan menurun dan asam urat yang terbentuk juga sedikit [19]. Hasil uji penghambatan aktivitas enzim xantin oksidase ekstrak etanol, fraksi kulit buah pepaya dan allopurinol dapat dilihat pada tabel 3.

Aktivitas penghambatan xantin oksidase kemungkinan disebabkan adanya kandungan tanin dan senyawa flavonoid dalam tanaman. Tanin dikenal kemampuannya bereaksi dengan protein yang mengakibatkan terbentuknya kompleks tannin-protein sehingga mengurangi aktivitas katalis xantin oksidase, sedangkan aktivitas penghambatan oleh flavonoid yaitu disebabkan karena kerangka strukturnya posisi geometris yang hampir mirip dengan xantin dan adanya gugus hidroksil pada posisi C5 dan C7 yang memungkinkannya untuk teroksidasi oleh xantin oksidase [20].

4. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan maka dapat ditarik kesimpulan ekstrak etanol kulit batang mangrove merah (*Rhizophora mucronata*) mengandung senyawa golongan

alkaloid, steroid, terpenoid, flavonoid fenolik, saponin dan tanin. Dari hasil uji penghambatan aktivitas enzim xantin oksidase terhadap ekstrak etanol, fraksi etanol, fraksi etil asetat dan fraksi heksane didapatkan nilai IC_{50} sebesar masing-masing sebesar $197,558 \pm 20,862$; $58,755 \pm 3,821$; $38,543 \pm 1,440$ dan $210,213 \pm 15,577$ ppm. Fraksi etil asetat memberikan aktivitas penghambatan enzim xantin oksidase tertinggi dengan nilai IC_{50} sebesar $38,543 \pm 1,440$ ppm.

Referensi

- [1] P. Fang, X. Li, J. J. Luo, H. Wang, and X. Yang, "A double-edged sword: uric acid and neurological disorders," *Brain Disord. Ther.*, vol. 2, no. 2, p. 109, 2013.
- [2] R. Juwita, C. Saleh, and S. Sitorus, "Uji aktivitas antihiperurisemia dari daun hijau tanaman pucuk merah (*Syzygium myrtifolium* walp.) terhadap mencit jantan (*Mus musculus*)," *J. At.*, vol. 2, no. 1, pp. 162–168, 2017.
- [3] N. Dalbeth, T. J. Lauterio, and H. R. Wolfe, "Mechanism of action of colchicine in the treatment of gout," *Clin. Ther.*, vol. 36, no. 10, pp. 1465–1479, 2014.
- [4] S. H. Nile, B. Kumar, and S. W. Park, "In vitro evaluation of selected benzimidazole derivatives as an antioxidant and xanthine oxidase inhibitors," *Chem. Biol. Drug Des.*, vol. 82, no. 3, pp. 290–295, 2013.
- [5] F. Cendrianti, S. Muslichah, and E. U. Ulfa, "Uji aktivitas antihiperurisemia ekstrak n-heksana, etil asetat, dan etanol 70% daun tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) pada mencit jantan hiperurisemia," *Pustaka Kesehat.*, vol. 2, no. 2, pp. 205–210, 2014.
- [6] G. K. Chinnaboina, A. M. S. S. Babu, R. Verma, P. Sharma, and B. Shrivastava, "Pharmacological evaluation of ethanolic extract of *Rhizophora mucronata* flower against streptozotocin-induced diabetic nephropathy in experimental animals," *J. Pharmacogn. Phytochem.*, vol. 7, no. 5, pp. 381–387, 2018.
- [7] P. Thirunavukkarasu, S. Asha, R. Reddy, D. Priya, R. Hari, and N. Sudhakar, "Phytochemical analysis of medicinal mangrove plant species *Ceriops decandra*," *Glob. J. Pharmacol.*, vol. 12, no. 1, pp. 24–30, 2018.
- [8] P. A. L. Pacher, A. Nivorozhkin, and C. Szabó, "Therapeutic effects of xanthine oxidase inhibitors: renaissance half a century after the discovery of allopurinol," *Pharmacol. Rev.*, vol. 58, no. 1, pp. 87–114, 2006.
- [9] D. E. C. Van Hoorn *et al.*, "Accurate prediction of xanthine oxidase inhibition based on the structure of flavonoids," *Eur. J. Pharmacol.*, vol. 451, no. 2, pp. 111–118, 2002.
- [10] P. Cos *et al.*, "Structure– activity relationship and classification of flavonoids as inhibitors of xanthine oxidase and superoxide scavengers," *J. Nat. Prod.*, vol. 61, no. 1, pp. 71–76, 1998.
- [11] T. K. Sur, A. K. Hazra, D. Bhattacharyya, and A. Hazra, "Antiradical and antidiabetic properties of standardized extract of Sunderban mangrove *Rhizophora mucronata*," *Pharmacogn. Mag.*, vol. 11, no. 42, p. 389, 2015.
- [12] K. Chakraborty and V. K. Raola, "Two rare antioxidant and anti-inflammatory oleanenes from loop root Asiatic mangrove *Rhizophora mucronata*," *Phytochemistry*, vol. 135, pp. 160–168, 2017.

- [13] A. H. Maravirnadita, "Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi n-Heksan, Etil Asetat, dan Air dari Buah Belimbing Manis (*Averrhoa carambola*) dengan Metode DPPH," *Skripsi*, pp. 1–14, 2019.
- [14] N. R. Farnsworth, "Biological and phytochemical screening of plants," *J. Pharm. Sci.*, vol. 55, no. 3, pp. 225–276, 1966.
- [15] R. I. Depkes, "Materia Medika Indonesia," *Heal. Dep. Repub. Indones. Jilid VI Jakarta*, 1995.
- [16] T. Robinson, "Kandungan organik tumbuhan tingkat tinggi," *Bandung Penerbit ITB*, p. 1995, 1995.
- [17] K. Anam, D. Susilo, D. Kusri, and L. N. A. Agustina, "Research Article Chemical Constituents and Inhibition Xanthine Oxidase Activity of *Avicennia marina* Exudate." Go to reference in article, 2017.
- [18] A. Rina Yanti Eff, S. T. Rahayu, and R. D. Syachfitri, "Uji aktivitas penghambatan xantin oksidase secara in-vitro Oleh Isolat 6, 4'-dihidroksi-4-metoksibenzofenon-2-O-B-D glukopiranosida (C₂₀H₂₂O₁₀) yang diisolasi dari mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl)," *Pharm. Sci. Res.*, vol. 3, no. 1, p. 1, 2016.
- [19] L. STRYER and T. P. B. B. FKUI, "Biokimia (Biochemistry), Volume II," 2000.
- [20] P. L. Owen and T. Johns, "Xanthine oxidase inhibitory activity of northeastern North American plant remedies used for gout," *J. Ethnopharmacol.*, vol. 64, no. 2, pp. 149–160, 1999.