



**UJI AKTIVITAS EKSTRAK BUAH TERONG BELANDA
(*Solanum betaceum* Cav.) SEBAGAI INHIBITOR α -AMILASE**

SKRIPSI

Oleh

Ratna Kusuma Dewi

NIM 151810301051

JURUSAN KIMIA

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

UNIVERSITAS JEMBER

2020



**UJI AKTIVITAS EKSTRAK BUAH TERONG BELANDA
(*Solanum betaceum* Cav.) SEBAGAI INHIBITOR α -AMILASE**

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat
untuk menyelesaikan Program Studi Kimia (S1)
dan mencapai gelar Sarjana Sains

Oleh

Ratna Kusuma Dewi

NIM 151810301051

**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS JEMBER**

2020

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan kepada:

1. Ibu Salati dan Bapak Suparto
2. Paman Aang Husairi dan Kakak Agus Setiawan, S.Pd
3. Guru-guru sejak Sekolah Dasar sampai Perguruan Tinggi
4. Almamater Universitas Jember



MOTTO

Tunjukilah kami jalan yang lurus.
(terjemahan surat Al-Fatihah ayat 6)*

Sesungguhnya urusan-Nya apabila Dia menghendaki sesuatu Dia hanya berkata
kepadanya, “Jadilah!” Maka jadilah sesuatu itu.
(terjemahan surat Yasin ayat 82)*



*) Departemen Agama RI. 2002. *Al-Qur'an dan Terjemahannya Juz 1-30*. Surabaya: Mekar Surabaya.

PERNYATAAN

Saya yang bertandatangan di bawah ini:

Nama : Ratna Kusuma Dewi

NIM : 151810301051

dengan sesungguhnya menyatakan bahwa karya ilmiah yang berjudul “Uji Aktivitas Ekstrak Buah Terong Belanda (*Solanum betaceum* Cav.) sebagai Inhibitor α -Amilase” adalah benar benar hasil karya saya sendiri, kecuali kutipan yang telah disebutkan sumber rujukannya, bukan karya hasil plagiarisme, dan belum pernah diajukan pada institusi mana pun. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang wajib dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenar-benarnya, tanpa ada tekanan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika dikemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 9 Januari 2020

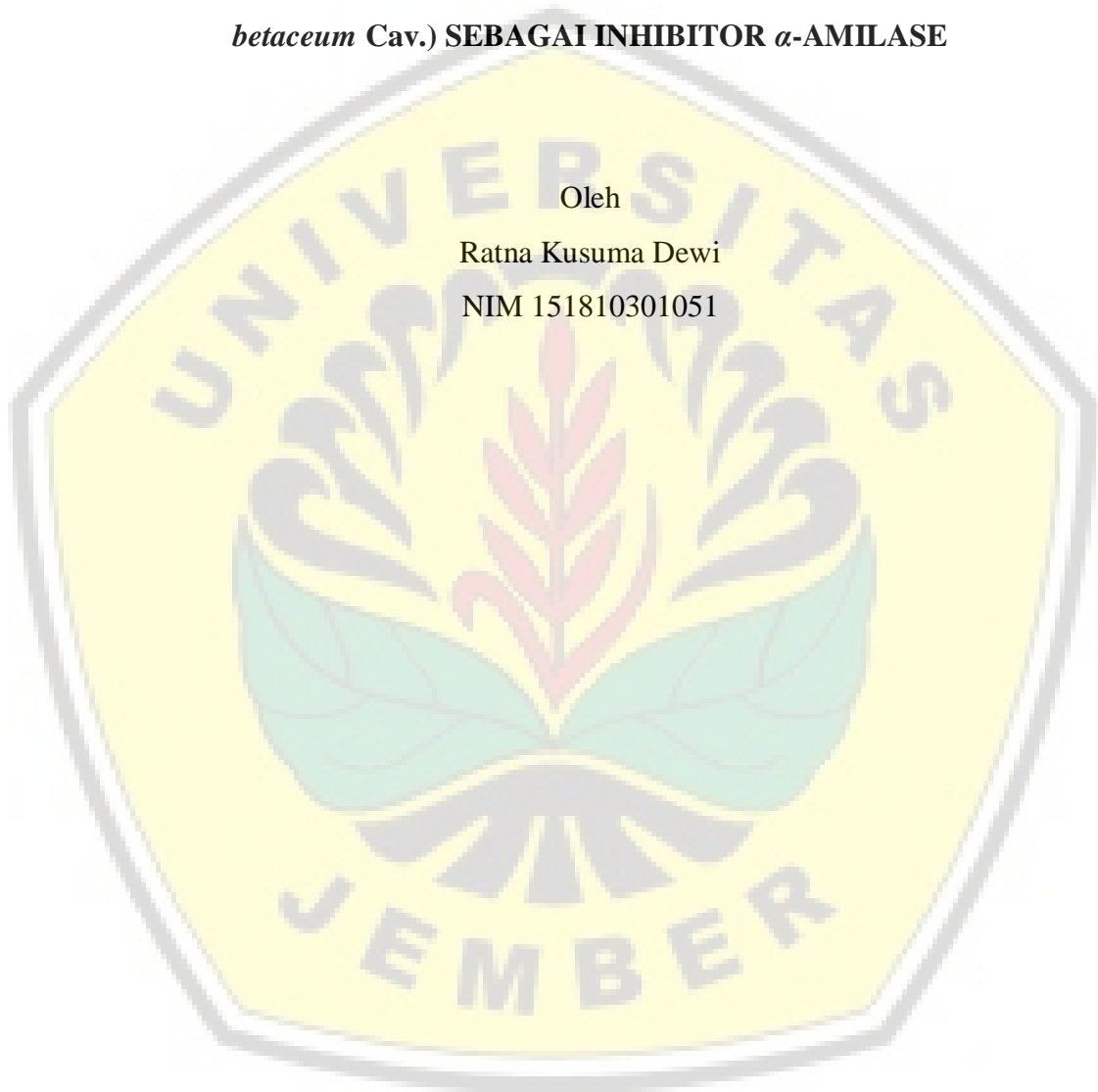
Yang menyatakan,

Ratna Kusuma Dewi

NIM 151810301051

SKRIPSI

**UJI AKTIVITAS EKSTRAK BUAH TERONG BELANDA (*Solanum
betaceum* Cav.) SEBAGAI INHIBITOR α -AMILASE**



Oleh

Ratna Kusuma Dewi

NIM 151810301051

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Dr. Anak Agung Istri Ratnadewi, S.Si., M.Si

Dosen Pembimbing Anggota : Ari Satia Nugraha, S.F., GdipSc., MSc-res., PhD.,

Apt

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Uji Aktivitas Ekstrak Buah Terong Belanda (*Solanum betaceum* Cav.) sebagai Inhibitor α -Amilase” telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember pada:

hari, tanggal :

tempat : Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Tim Penguji;

Ketua (DPU),

Sekretaris (DPA),

Dr. A. A. I. Ratnadewi, S.Si., M.Si

Ari Satia Nugraha, S.F., GdipSc., MSc-

NIP. 197012251997022001

res., Ph.D., Apt

NIP. 197807212003121001

Penguji I,

Penguji II,

drh. Wuryanti Handayani, M.Si

Drs. Achmad Sjaifullah, M.Sc., Ph.D

NIP. 196008221985032002

NIP. 195910091986021001

Mengesahkan

Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Universitas Jember

Drs. Sujito, Ph.D

NIP. 196102041987111001

RINGKASAN

UJI AKTIVITAS EKSTRAK BUAH TERONG BELANDA (*Solanum betaceum* Cav.) SEBAGAI INHIBITOR α -AMILASE; Ratna Kusuma Dewi, 151810301051; 2020; 56 halaman; Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

Penyakit Diabetes Mellitus (DM) di Indonesia merupakan masalah besar dalam bidang kesehatan. Hal ini terbukti dari semakin meningkatnya penderita diabetes di Indonesia dari tahun ke tahun. Diabetes tipe 2 merupakan kategori yang 90% dialami oleh penderita diabetes. Diabetes tipe 2 disebabkan oleh tubuh yang kurang efektif dalam menggunakan insulin. Insulin merupakan hormon pengatur keseimbangan gula darah. Akibatnya ialah konsentrasi glukosa di dalam darah meningkat, atau disebut dengan hiperglikemia. Hiperglikemia pada penderita Diabetes Mellitus tipe 2 terjadi karena hidrolisis pati atau amilum oleh α -amilase di pankreas dan pemecahan oligosakarida oleh α -glukosidase di usus berjalan cepat. Strategi yang efektif untuk penanganan Diabetes Mellitus tipe 2 adalah dengan menghambat atau menginhibisi kerja α -amilase dan α -glukosidase. Penghambatan aktivitas enzim α -amilase dapat dilakukan dengan menggunakan senyawa metabolit sekunder.

Senyawa metabolit sekunder didapatkan dengan cara ekstraksi pelarut. Pelarut yang digunakan pada ekstraksi dalam penelitian ini adalah metanol (MeOH), heksana, diklorometana (DCM), dan etil asetat (EtOAc). Pemilihan pelarut berdasarkan perbedaan kepolaran. Terong Belanda mengandung flavonoid dan telah diketahui bahwa flavonoid memiliki aktivitas menginhibisi α -amilase, sehingga dilaksanakan penelitian tentang uji aktivitas ekstrak buah Terong Belanda (*Solanum betaceum* Cav.) sebagai inhibitor α -amilase.

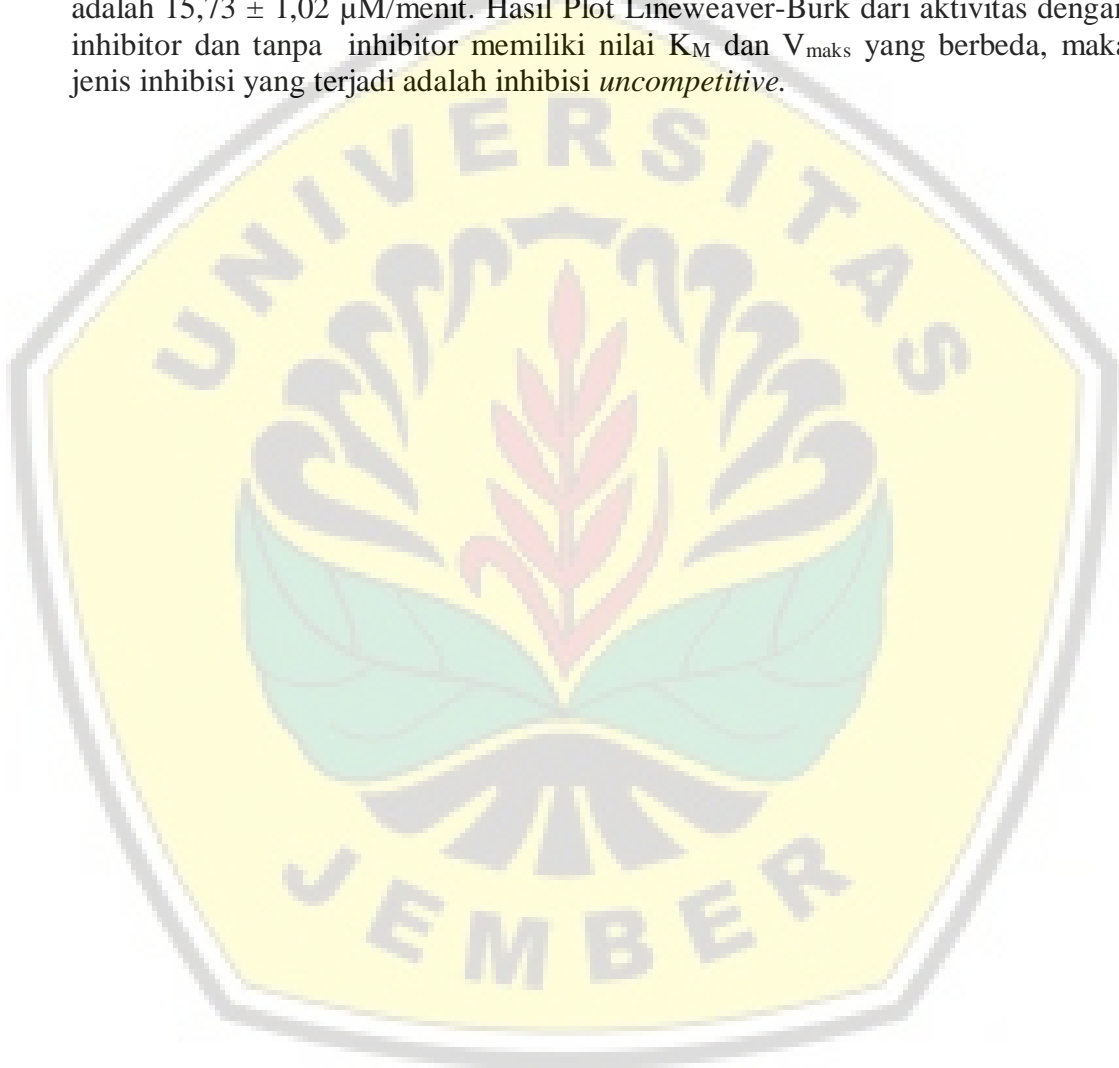
Aktivitas ekstrak sebagai inhibitor α -amilase sangat berhubungan dengan kinetika enzim. Analisis kinetika inhibisi α -amilase dari fraksi teraktif ekstrak buah Terong Belanda dimaksudkan untuk memaparkan informasi tentang jenis inhibisinya. Informasi yang dipaparkan adalah nilai K_M dan V_{maks} . V_{maks} merupakan kecepatan maksimum atau kecepatan pembatas ketika molekul enzim dijenuhkan oleh substrat. K_M merupakan konsentrasi dari substrat yang dibutuhkan untuk mencapai $\frac{1}{2} V_{maks}$.

Metode yang digunakan untuk menguji aktivitas enzim α -amilase yakni dengan mengukur gula pereduksi yang dihasilkan. Reagen yang digunakan untuk mengukur jumlah gula pereduksi adalah asam dinitrosalisilat (DNS). Reagen DNS jika bereaksi dengan gula pereduksi akan menghasilkan kompleks warna yang dapat diukur menggunakan spektrofotometer. Adanya penghambatan diamati dari nilai perbedaan absorbansi yang dihasilkan. Akarbosa digunakan sebagai pembanding dalam analisis inhibisi α -amilase.

Hasil penelitian ekstrak buah Terong Belanda dengan konsentrasi 100 μ g/mL dalam menginhibisi α -amilase memperlihatkan bahwa semakin meningkatnya kepolaran dari fraksi ekstrak maka kemampuannya dalam menginhibisi α -amilase semakin besar. Kemampuan inhibisi α -amilase tertinggi

adalah pada fraksi EtOAc yakni $55,42 \pm 1,02$ %, disusul oleh fraksi DCM yakni $47,94 \pm 0,15$ %, lalu fraksi heksana yakni $22,88 \pm 1,27$ %, dan yang paling rendah adalah ekstrak kasar metanol yakni $14,05 \pm 1,29$ %. Akarbosa sebagai pembanding memiliki kemampuan menghambat α -amilase sebesar $95,21 \pm 0,50$ %.

Hasil analisis kinetika inhibisi α -amilase dari fraksi teraktif (fraksi EtOAc) adalah nilai K_M dan V_{maks} . Nilai K_M dari kontrol adalah $3,56 \pm 0,56$ mg/mL sedangkan nilai K_M dari sampel adalah $2,51 \pm 0,16$ mg/mL. Nilai V_{maks} dari kontrol adalah $25,06 \pm 2,00$ μ M/menit sedangkan nilai V_{maks} dari sampel adalah $15,73 \pm 1,02$ μ M/menit. Hasil Plot Lineweaver-Burk dari aktivitas dengan inhibitor dan tanpa inhibitor memiliki nilai K_M dan V_{maks} yang berbeda, maka jenis inhibisi yang terjadi adalah inhibisi *uncompetitive*.



PRAKATA

Puji syukur kepada Allah SWT atas segala rahmat-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Uji Aktivitas Ekstrak Buah Terong Belanda (*Solanum betaceum* Cav.) sebagai Inhibitor α -Amilase”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

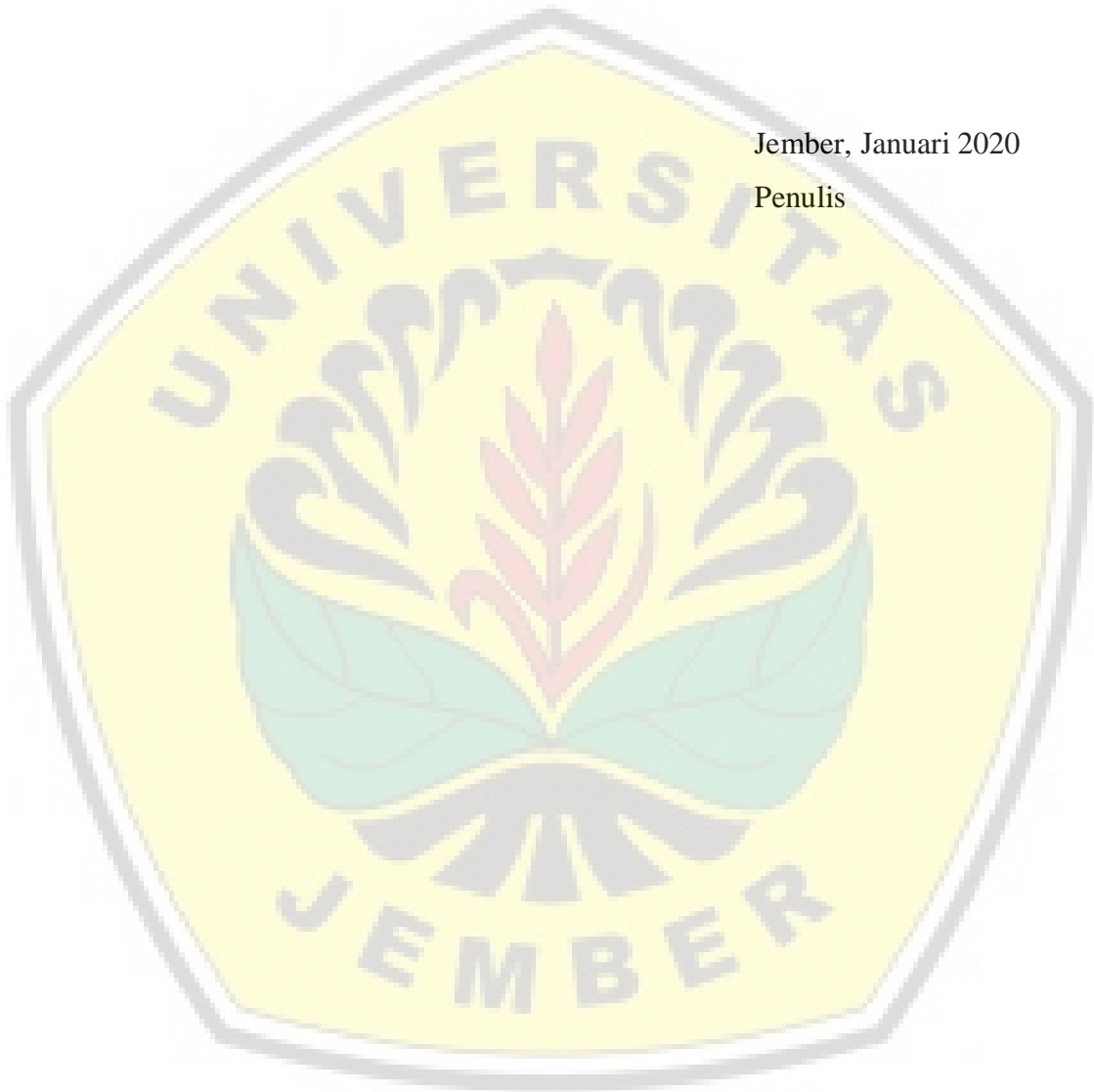
Penyusunan skripsi ini tentunya tidak terlepas dari bantuan berbagai pihak, sehingga penulis menyampaikan terimakasih kepada:

1. Drs. Sujito, Ph.D, selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember;
2. Dr. Bambang Piluharto, S.Si., M.Si., selaku Ketua Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember
3. Dr. A. A. I. Ratnadewi, S.Si., M.Si., selaku Dosen Pembimbing Utama dan Ari Satia Nugraha, S.F., GdipSc., MSc-res., Ph.D., Apt., selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah meluangkan waktu, pikiran, tenaga, dan perhatian dalam penulisan skripsi ini;
4. drh. Wuryanti Handayani, M.Si., selaku Dosen Penguji I dan Drs. Achmad Sjaifullah, M.Sc., Ph.D., selaku Dosen Penguji II yang telah meluangkan waktu untuk memberikan kritik dan saran demi kesempurnaan skripsi ini;
5. Yudi Ari Sulistiyo, S. Si., M. Si., selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah membimbing penulis selama menjadi mahasiswa;
6. dosen-dosen FMIPA UNEJ terutama dosen-dosen Jurusan Kimia yang telah memberikan ilmu pengetahuan kepada penulis;
7. teman teman angkatan 2015 (*Chrypton*), terimakasih atas perhatian, saran, semangat, dan kenangan yang telah diberikan;
8. teman-teman seperjuangan di laboratorium Center for Development of Advance Science (CDAST), terimakasih atas kerjasama, bantuan, dan saran selama penulis melakukan penelitian;
9. semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

Penulis telah berusaha sebaik baiknya untuk kesempurnaan skripsi ini.
Penulis berharap semoga skripsi ini bermanfaat.

Jember, Januari 2020

Penulis



DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSEMBAHAN	ii
HALAMAN MOTO	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
HALAMAN PEMBIMBING	v
HALAMAN PENGESAHAN	vi
RINGKASAN	vii
PRAKATA	ix
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Batasan Masalah	4
1.4 Tujuan Penelitian	4
1.5 Manfaat Penelitian	4
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Diabetes Mellitus	5
2.2 Enzim	5
2.2.1 Enzim α -amilase	5
2.2.2 Mekanisme Pemecahan Amilum	6
2.3 Inhibisi α -amilase	7
2.4 Kinetika Enzimatik	8
2.4.1 Persamaan Michaelis-Menten	8
2.4.2 Alur Lineweaver-Burk	9
2.4.3 Inhibisi Enzim	10
2.5 Senyawa Metabolit Sekunder	11
2.5.1 Flavonoid sebagai Inhibitor α -amilase	12
2.5.2 Tanin sebagai Inhibitor α -amilase	14

2.6 Tanaman Terong Belanda	15
2.7 Ekstraksi	16
2.8 Taman Nasional Bromo Tengger Semeru	18
2.9 Metode Uji Aktivitas Inhibisi α -amilase	18
BAB 3. METODE PENELITIAN.....	20
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian.....	20
3.2 Alat dan Bahan	20
3.2.1 Alat	20
3.2.2 Bahan	20
3.3 Rancangan Penelitian	21
3.3.1 Diagram Alir Penelitian.....	21
3.4 Prosedur Pelaksanaan Penelitian	22
3.4.1 Sampling	22
3.4.3 Pembuatan Simplisia Terong Belanda	22
3.4.3 Ekstraksi Senyawa Metabolit Sekunder Terong Belanda .	22
3.4.4 Pembuatan Kurva Standar Maltosa	23
3.4.5 Analisis Inhibisi α -Amilase oleh Ekstak buah Terong Belanda	24
3.4.6 Kinetika inhibisi α -Amilase	25
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	26
4.1 Hasil Ekstraksi Senyawa Metabolit Sekunder Buah Terong Belanda	27
4.2 Analisis Inhibisi α -Amilase oleh Ekstak buah Terong Belanda ...	29
4.3 Analisis Kinetika Inhibisi α -Amilase dari Fraksi Teraktif	30
BAB 5. PENUTUP	34
5.1 Kesimpulan	34
5.2 Saran	34
DAFTAR PUSTAKA	35
LAMPIRAN.....	39

DAFTAR TABEL

Halaman

4.1 Massa Ekstrak Hasil Ekstraksi 28



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Struktur Tiga Dimensi α -Amilase.....	6
2.2 Mekanisme Reaksi Hidrolisis Polisakarida oleh α -Amilase	6
2.3 Reaksi Hidrolisis Disakarida menjadi Glukosa oleh α -Glukosidase	7
2.4 Plot Penentuan K_M	9
2.5 Plot Lineweaver-Burk dari $1/v$ vs $1/[S]$	9
2.6 Tiga Tipe Inhibisi Reversibel dari Enzim	10
2.7 Kerangka C6-C3-C9 Flavonoid	11
2.8 Kerangka Isopren Penyusun Senyawa Terpenoid	12
2.9 Kerangka a) Tanin Terhidrolisis b) Tanin Terkondensasi.....	12
2.10 Struktur Kimia dan Klasifikasi Flavonoid.....	13
2.11 Flavonoid Golongan Dihydroflavonol dengan Gugus Orto Hidroksi pada Atom C-7 dan C-8	14
2.12. Flavonoid Golongan Dihydroflavonol dengan Gugus Orto Hidroksi pada Atom C-6 dan C-7	14
2.13 Struktur Flavonoid Golongan Flavanon dengan Gugus Orto Dihidroksi pada Cincin A Yaitu Atom C-7 dan C-8.....	14
2.14 Struktur Tanin yang Bersifat sebagai Inhibitor α -Amilase	15
2.15 Buah Terong Belanda.....	15
2.16 Reaksi Reduksi asam 3,5-dinitrosalisilat (DNS) dengan Gula Pereduksi	19
3.1 Kurva Hasil Pengeplotan Waktu Inkubasi dan Konsentrasi Produk	25
4.1 Kemampuan Inhibisi α -Amilase dari Masing Masing Fraksi dan Akarbosa sebagai Pembanding	29
4.2 (a) Kurva Lineweaver-Burk Pengulangan I (b) Kurva Lineweaver-Burk Pengulangan II (c) Kurva Lineweaver-Burk Pengulangan III.....	32

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
1. Pembuatan Larutan Maltosa	39
1.1 Larutan stok 2000 μM = 0,002 M.....	39
1.2 Pengenceran.....	39
2. Perhitungan % Rendemen	40
3. Perhitungan Massa Ekstrak yang Didapatkan dan % Rendemen Fraksi..	40
3.1 Massa Ekstrak.....	40
3.2 Perhitungan % Rendemen Fraksi.....	41
4. Kurva Standar Maltosa.....	41
5. % Inhibisi α -Amilase Per Fraksi.....	42
6. Penentuan V_0	43
6.1 Konsentrasi Substrat 1%	43
6.1.1 Pengulangan I	43
6.1.2 Pengulangan II	44
6.1.3 Pengulangan III.....	44
6.2 Konsentrasi Substrat 0,5%.....	45
6.2.1 Pengulangan I	45
6.2.2 Pengulangan II	45
6.2.3 Pengulangan III.....	46
6.3 Konsentrasi substrat 0,25%	46
6.3.1 Pengulangan I	46
6.3.2 Pengulangan II	47
6.3.3 Pengulangan III.....	47
6.4 Konsentrasi substrat 0,125%	48
6.4.1 Pengulangan I	48
6.4.2 Pengulangan II	48
6.4.3 Pengulangan III.....	49
7. Penentuan K_M dan V_{maks} Menggunakan Parameter Kinetika Michaelis Menten	49
8. Pembuatan Larutan Enzim	51
8.1 Konsentrasi Enzim	51

8.2 Pembuatan enzim α -amilase 0,7 U/mL	52
9. Perhitungan Aktivitas Enzim pada Penentuan % inhibisi per-Fraksi	52
10. Lembar Determinasi dan Validasi	53



BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penyakit Diabetes Mellitus (DM) di Indonesia merupakan masalah besar dalam bidang kesehatan. Hal ini terbukti dari semakin meningkatnya penderita diabetes di Indonesia dari tahun ke tahun. Penderita Diabetes Mellitus tahun 2013 di Indonesia diperkirakan jumlahnya adalah 12 juta (Kemenkes RI, 2014). Keadaan ini tentunya membutuhkan perhatian khusus dalam penanganannya.

Dua kategori utama Diabetes Mellitus ialah Diabetes Mellitus tipe 1 dan tipe 2. Diabetes tipe 2 merupakan kategori yang 90% dialami oleh penderita diabetes. Diabetes tipe 1 ditandai dengan kurangnya produksi insulin. Diabetes tipe 2 disebabkan oleh tubuh yang kurang efektif dalam menggunakan insulin. Insulin merupakan hormon pengatur keseimbangan gula darah. Akibatnya ialah konsentrasi glukosa di dalam darah meningkat, atau disebut dengan hiperglikemia. Hiperglikemia pada penderita Diabetes Mellitus tipe 2 terjadi karena hidrolisis pati atau amilum oleh α -amilase di pankreas dan pemecahan oligosakarida oleh α -glukosidase di usus berjalan cepat. Strategi yang efektif untuk penanganan Diabetes Mellitus tipe 2 adalah dengan menghambat atau menginhibisi kerja α -amilase dan α -glukosidase (Mohamed dkk., 2012).

Inhibisi α -amilase dan α -glukosidase dapat mengurangi kadar glukosa dengan menunda proses hidrolisis dan penyerapan karbohidrat. Enzim α -amilase bekerja menghidrolisis karbohidrat kompleks atau polisakarida di rongga mulut. Senyawa hasil hidrolisis yang didapatkan yakni oligosakarida seperti maltosa dan dekstrin. Pencernaan oligosakarida yang berupa maltosa dan dekstrin dilanjutkan oleh α -amilase yang terdapat di pankreas. Oligosakarida yang dihasilkan selanjutnya dihidrolisis lagi menjadi bentuk yang lebih sederhana oleh α -glukosidase. Hasil hidrolisis oligosakarida oleh α -glukosidase adalah monosakarida yang berupa glukosa, fruktosa, dan galaktosa. Monosakarida tersebut jika melebihi kadar maksimal maka menyebabkan hiperglikemia (Mohamed dkk., 2012).

Fitrianingsih dkk (2016) menyatakan bahwa penghambatan atau inhibisi α -amilase dilakukan untuk menurunkan aktivitas enzim α -amilase dalam memecah amilum. Semakin sedikit amilum yang terhidrolisis menjadi maltosa atau oligosakarida maka semakin sedikit pula maltosa dan glukosa atau monosakarida yang dihasilkan. Inhibisi aktivitas enzim α -amilase dapat dilakukan dengan menggunakan senyawa metabolit sekunder.

Senyawa metabolit sekunder tersebut didapatkan dengan cara ekstraksi pelarut. Konsep dari ekstraksi pelarut adalah “like dissolve like”, yakni senyawa dengan kepolaran sama maka akan larut. Teknik maserasi merupakan salah satu jenis ekstraksi. Kurniawaty (2016) menyatakan bahwa keunggulan metode maserasi adalah dapat memecah dinding sel dan membran sel ketika proses ekstraksi maserasi berlangsung. Hal ini disebabkan oleh perbedaan tekanan antara di dalam dan di luar sel sehingga sitoplasma yang mengandung senyawa metabolit sekunder akan larut ke dalam pelarut.

Pelarut yang digunakan pada ekstraksi dalam penelitian ini adalah metanol, heksana, diklorometana, dan etil asetat. Pemilihan pelarut berdasarkan perbedaan kepolaran. Pelarut pertama yang digunakan untuk ekstraksi yakni metanol karena metanol dapat mengikat senyawa metabolit sekunder dari yang bersifat polar hingga yang bersifat non-polar. Dengan penggunaan metanol sebagai pelarut utama, diharapkan senyawa metabolit sekunder dapat tertarik seluruhnya ke dalam ekstrak kasar metanol. Pelarut yang kedua yakni heksana. Heksana digunakan sebagai pelarut kedua agar molekul molekul non polar pada ekstrak kasar metanol dapat terikat. Pelarut diklorometana (DCM) digunakan sebagai pelarut ketiga agar senyawa-senyawa semipolar pada ekstrak kasar metanol dapat terlarut. Pelarut terakhir yang digunakan dalam penelitian ini adalah etil asetat.

Senyawa metabolit sekunder yang dapat digunakan sebagai inhibitor α -amilase menurut Piparo dkk (2008) adalah flavonoid. Sianturi dkk (2014) dalam penelitiannya menunjukkan bahwa tanaman Terong Belanda (*Solanum betaceum Cav.*) memiliki aktivitas sebagai antioksidan dan mengandung senyawa golongan flavonoid, tanin, terpen, steroid, dan saponin. Sianturi dkk (2014) juga

mengemukakan hasil penelitian bahwa buah Terong Belanda dapat meningkatkan kadar hemoglobin karena mengandung zat besi dan vitamin A. Penelitian tentang potensi Terong Belanda sebagai inhibitor α -amilase belum pernah dilakukan. Dengan latar belakang bahwa Terong Belanda mengandung flavonoid dan telah diketahui bahwa flavonoid memiliki aktivitas menghambat α -amilase maka dilaksanakan penelitian tentang uji aktivitas ekstrak buah Terong Belanda (*Solanum betaceum* Cav.) sebagai inhibitor α -amilase.

Aktivitas ekstrak sebagai inhibitor enzim α -amilase sangat berhubungan dengan kinetika enzim. Kinetika enzim ditinjau dari pengaruh konsentrasi substrat terhadap laju reaksi enzimatik. Analisis kuantitatif mengenai kinetika enzim dilakukan dengan persamaan Michaelis-Menten (Saropah, 2012).

Persamaan Michaelis-Menten dinyatakan dalam dua konstanta kinetika yakni V_{maks} dan K_M . V_{maks} merupakan kecepatan maksimum atau kecepatan pembatas ketika molekul enzim dijumpai oleh substrat. K_M merupakan konsentrasi dari substrat yang dibutuhkan untuk mencapai $\frac{1}{2} V_{maks}$. Persamaan Michaelis-Menten diwujudkan pada kurva Lineweaver-Burk. Plot digunakan untuk penentuan jenis inhibisi dari aktivitas inhibitor ekstrak. Jenis inhibisi yang terjadi yakni berkompetisi dengan enzim untuk bereaksi dengan substrat (*competitive*), bereaksi dengan sisi lain dari enzim (*uncompetitive*), maupun gabungan dari keduanya (*non-competitive*) (Armstrong, 1995).

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah berdasarkan latar belakang di atas adalah sebagai berikut:

1. Apakah ekstrak bahan aktif yang diperoleh dari buah Terong Belanda (*Solanum betaceum* Cav.) dapat menghambat α -amilase?
2. Seberapa besar kemampuan inhibisi ekstrak buah Terong Belanda (*Solanum betaceum* Cav.) terhadap aktivitas α -amilase dengan melihat konstanta kinetiknya?
3. Bagaimana jenis inhibisi yang diuji dengan kinetika dari aktivitas enzimatik?

1.3 Batasan Masalah

Batasan masalah dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Tanaman Terong Belanda (*Solanum betaceum Cav.*) yang digunakan sebagai sampel penelitian ini diambil dari kawasan Taman Naional Bromo Tengger – Semeru, Probolinggo secara acak.
2. Bagian tanaman Terong Belanda (*Solanum betaceum Cav.*) yang diekstrak adalah seluruh bagian buah.
3. Ekstrak yang digunakan untuk penentuan jenis inhibisi menggunakan kinetika adalah ekstrak dari fraksi dengan aktivitas inhibisi terbesar.

1.4 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Mengetahui ekstrak bahan aktif yang diperoleh dari buah Terong Belanda (*Solanum betaceum Cav.*) dapat menghambat α -amilase atau tidak.
2. Mengetahui seberapa besar kemampuan inhibisi ekstrak bahan aktif terhadap aktivitas α -amilase.
3. Mengetahui jenis inhibisi yang diuji dengan kinetika dari aktivitas enzimatis.

1.5 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah memberikan informasi kepada pembaca utamanya masyarakat umum mengenai potensi ekstrak buah Terong Belanda (*Solanum betaceum Cav.*) sebagai alternatif obat antidiabetes.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Diabetes Mellitus

Diabetes Mellitus merupakan penyakit yang disebabkan oleh gagalnya pankreas dalam memproduksi insulin yang dibutuhkan tubuh atau dapat juga disebabkan oleh tubuh yang tidak dapat menggunakan insulin yang telah diproduksi secara efektif (Busatta, 2011). Dua kategori utama Diabetes Mellitus ialah Diabetes Mellitus tipe 1 dan tipe 2. Diabetes tipe 2 merupakan kategori yang 90% dialami oleh penderita diabetes. Diabetes tipe 1 ditandai dengan kurangnya produksi insulin. Diabetes tipe 2 disebabkan oleh tubuh yang kurang efektif dalam menggunakan insulin. Insulin merupakan hormon pengatur keseimbangan gula darah. Akibatnya ialah konsentrasi glukosa di dalam darah meningkat, atau disebut dengan hiperglikemia. Hiperglikemia pada penderita Diabetes Mellitus tipe 2 terjadi karena hidrolisis pati atau amilum oleh α -amilase di pankreas dan pemecahan oligosakarida oleh α -glukosidase di usus berjalan cepat. Penanganan Diabetes Mellitus tipe 2 adalah dengan menghambat atau menginhibisi kerja α -amilase dan α -glukosidase (Mohamed dkk., 2012).

2.2 Enzim

Enzim adalah katalis yang bertanggung jawab untuk terjadinya reaksi kimia pada proses biologis dalam sistem kehidupan. Enzim bekerja sebagaimana katalis anorganik, yakni mempercepat kecepatan reaksi dengan cara menurunkan energi aktivasi yang dibutuhkan agar reaksi terjadi. Dalam suatu reaksi enzimatik, enzim tidak rusak dalam arti tidak berubah sehingga akan dihasilkan kembali di akhir reaksi dan dapat digunakan kembali (Armstrong, 1995).

2.2.1 Enzim α -amilase

Awal mula ditemukannya enzim amilase yakni pada tahun 1833, Anselme Payen dan Jean-Francois melaporkan bahwa ada faktor dari ekstrak malt yang dapat digunakan kembali. Faktor tersebut disebut *diastase* atau dikenal sebagai amilase. Faktor ini dapat mengubah kanji menjadi gula (Armstrong, 1995).

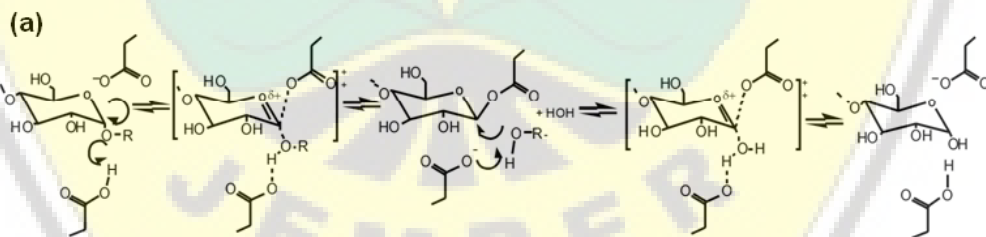
Jenis amilase terbagi menjadi tiga yakni α -amilase, β -amilase, dan γ -amilase. Sebagian besar enzim amilolitik adalah α -amilase (Janecek, 2009). α -amilase termasuk kalsium metaloenzim, yakni enzim yang tidak akan berfungsi jika kekurangan kalsium. α -amilase bekerja menghidrolisis pati atau amilum di ikatan α -1,4 glikosidik menghasilkan produk seperti glukosa dan maltosa (Sundarram dkk., 2014).



Gambar 2.1 Struktur Tiga Dimensi α -Amilase (Janecek, 2009)

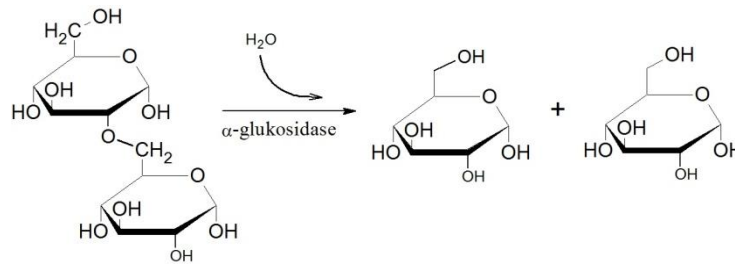
2.2.2 Mekanisme Pemecahan Amilum

Enzim α -amilase bekerja menghidrolisis karbohidrat kompleks atau polisakarida di rongga mulut. Mekanisme reaksi hidrolisis pati atau amilum oleh α -amilase adalah sebagai berikut :



Gambar 2.2 Mekanisme Reaksi Hidrolisis Polisakarida oleh α -Amilase (Janecek, 2009)

Senyawa hasil hidrolisis yang didapatkan yakni oligosakarida seperti maltosa dan dekstrin. Pencernaan oligosakarida yang berupa maltosa dan dekstrin dilanjutkan oleh α -amilase yang terdapat di pankreas. Oligosakarida yang dihasilkan selanjutnya dihidrolisis lagi ke bentuk yang lebih sederhana oleh α -glukosidase. Mekanisme reaksi hidrolisis oleh α -glukosidase adalah sebagai berikut



Gambar 2.3 Reaksi Hidrolisis Disakarida menjadi Glukosa oleh α -Glukosidase
(Berg dkk., 2002)

Hasil hidrolisis oligosakarida oleh α -glukosidase adalah monosakarida yang berupa glukosa, fruktosa, dan galaktosa. Monosakarida tersebut jika melebihi kadar yang maksimal maka menyebabkan hiperglikemia.

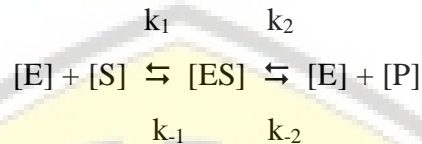
2.3 Inhibisi α -amilase

Judge dan Svensson (dalam Wahyuntari, 2011: 197) menyatakan bahwa α -amilase yang dihambat atau diinhibisi akan berpengaruh pada metabolisme dalam saluran pencernaan. Pengaruhnya ialah terganggunya ataupun melambatnya pemecahan karbohidrat sehingga akan mengurangi ketersediaan glukosa atau juga mempengaruhi pencernaan glukosa dan insulin. Pengaruh penghambatan α -amilase telah diuji pada manusia dan menunjukkan hasil bahwa penyerapan glukosa menjadi lambat sehingga konsentrasi glukosa plasma akan berkurang. Fitriarningsih dkk (2016) menyatakan bahwa penghambatan atau inhibisi α -amilase dilakukan untuk menurunkan aktivitas enzim α -amilase dalam memecah amilum. Semakin sedikit amilum yang terhidrolisis menjadi maltosa atau polisakarida maka semakin sedikit pula maltosa dan glukosa atau monosakarida yang dihasilkan. Inhibisi aktivitas enzim dapat dilakukan dengan menggunakan senyawa metabolit sekunder.

2.4 Kinetika Enzimatik

2.4.1 Persamaan Michaelis-Menten

Leonor Michaelis dan Maud L. Menten pada tahun 1913 mengemukakan teori umum tentang aksi dan kinetika enzim. Penjelasan mengenai reaksi enzimatik adalah sebagai berikut:



Enzim [E] bereaksi pertama dengan substrat untuk membentuk kompleks enzim-substrat [ES] lalu pada tahap kedua menghasilkan produk [P]. Reaksi keduanya dianggap reversibel dan kecepatan elementer konstan dari keempatnya disebut sebagai k_1 , k_2 , k_{-1} , dan k_{-2} . Reaksi enzimatik yang diekspresikan oleh Michaelis Menten meskipun memiliki keterbatasan tetap digunakan untuk analisis umum dari kinetika enzim. Persamaan Michaelis Menten adalah sebagai berikut:

$$v = \frac{v_{maks} [S]}{[S] + K_M} \quad (2.1)$$

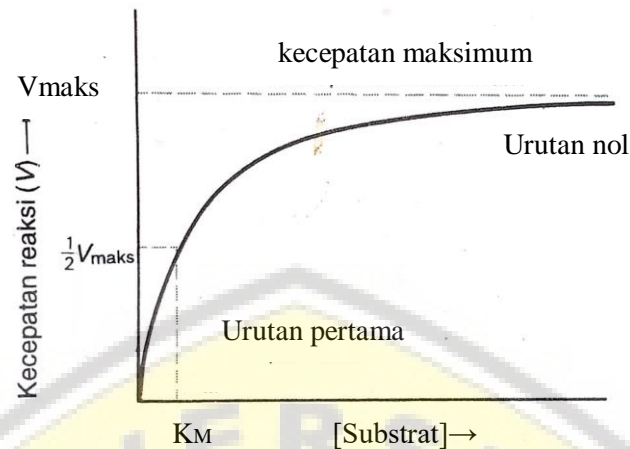
Briggs-Haldane memodelkan persamaan Michaelis Menten didapatkan definisi bahwa K_M merupakan $(k_2 + k_{-1})/k_1$, yakni rasio konstan untuk pemecahan dan pembentukan kompleks enzim substrat [ES]. V_{maks} merupakan kecepatan maksimal yang dicapai ketika jumlah total enzim $[E_t]$ dijenuhkan oleh substrat atau secara sederhana sebagai $V_{maks} = k_2([E_t])$. V merupakan kecepatan yang dicapai dengan [ES] kompleks enzim substrat saat [S] tertentu atau dinotasikan sebagai $v = k_2[ES]$ (Armstrong, 1995).

K_M yang merupakan konsentrasi substrat ketika setengah kecepatan V_{maks} maka persamaan Michaelis-Menten menjadi:

$$\frac{v_{maks}}{2} = \frac{v_{maks} [S]}{[S] + K_M} \quad (2.2)$$

Persamaan tersebut disusun kembali menjadi

$$K_M = [S] \quad (2.3)$$

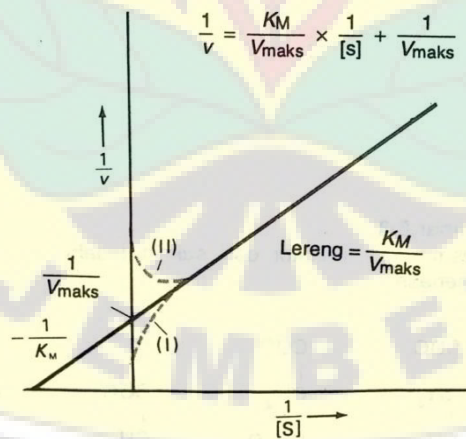
Gambar 2.4 Plot Penentuan K_M

2.4.2 Alur Lineweaver-Burk

Tahun 1934 Hans Lineweaver dan Dean Burk mengevaluasi K_M dan V_{maks} dengan cara memplot data kinetik sebagai perbandingan terbalik dari v dan $[S]$. Pernyataannya adalah sebagai berikut

$$\frac{1}{v} = \frac{K_M}{V_{maks}} \times \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{maks}} \quad (2.4)$$

Persamaan tersebut ekuivalen dengan persamaan garis lurus $y = mx + C$



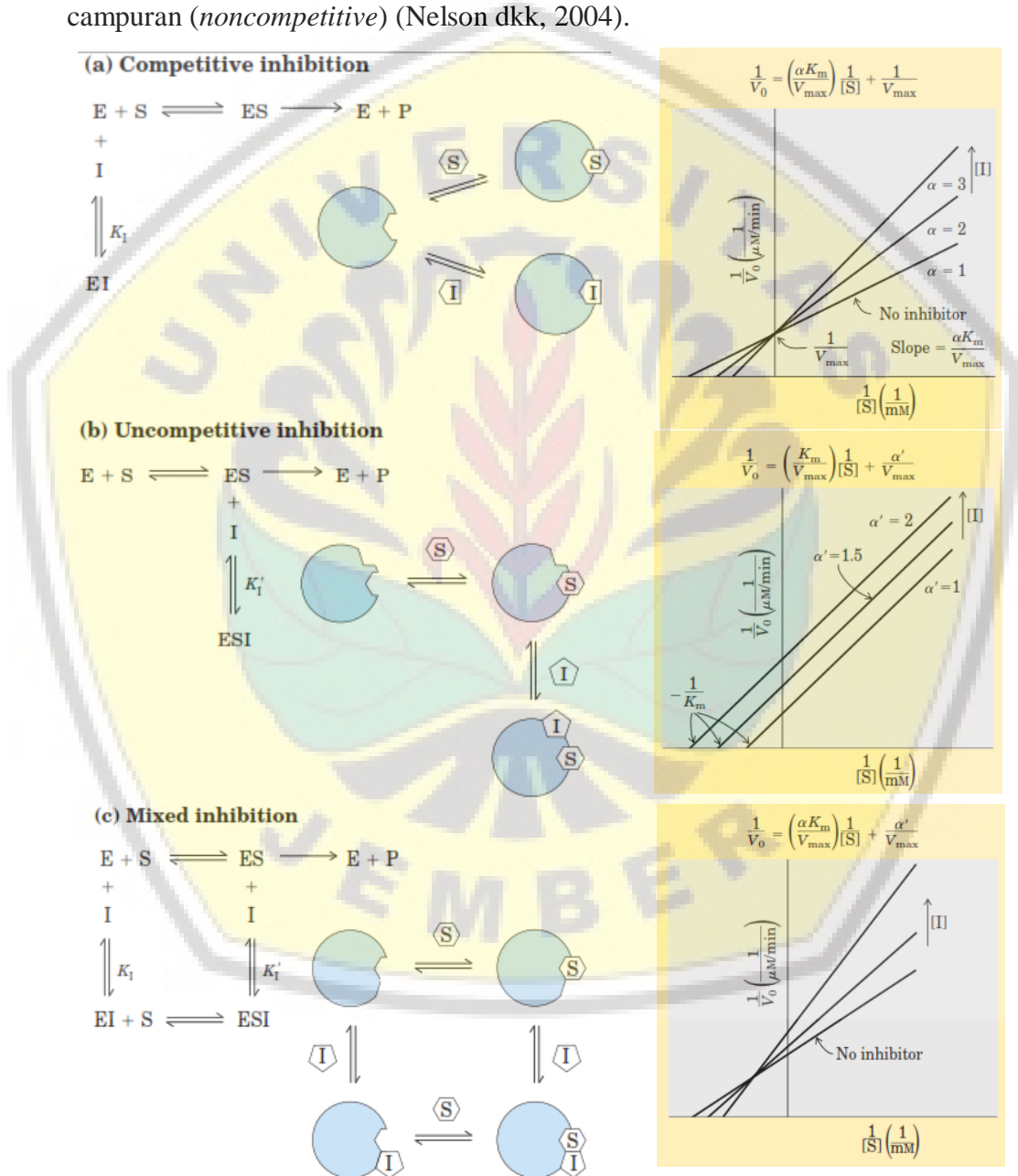
Gambar 2.5 Plot Lineweaver-Burk dari $1/v$ vs $1/[S]$ dengan (I) merupakan Aktivasi Substrat dan (II) merupakan Inhibisi Substrat

Keuntungan dalam pemakaian plot ini adalah pengukuran v dengan konsentrasi substrat yang sangat tinggi tidak diperlukan karena sulit dilakukan secara eksperimental. $[S]$ dapat diramalkan dari nilai $1/[S] = 0$.

(Armstrong, 1995)

2.4.3 Inhibisi Enzim

Fenomena inhibisi dalam bidang enzimologi diteliti secara serius karena sangat penting untuk kebutuhan riset. Inhibitor merupakan zat yang dapat menurunkan kecepatan reaksi enzimatik secara spesifik. Tipe inhibisi reversibel dari enzim terbagi menjadi tiga yakni *competitive*, *uncompetitive*, dan inhibisi campuran (*noncompetitive*) (Nelson dkk, 2004).

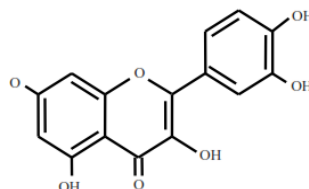


Gambar 2.6 Tiga Tipe Inhibisi Reversibel dari Enzim (Nelson dkk, 2004).

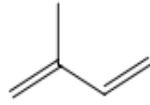
Inhibisi kompetitif terjadi ketika inhibitor berkompetisi dengan substrat untuk berinteraksi dengan sisi aktif dari enzim. Inhibitor kompetitif berinteraksi dengan sisi aktif enzim membentuk kompleks inhibitor-enzim (EI) sehingga menghambat proses pengikatan substrat oleh sisi aktif enzim dan tidak terjadi interaksi antara enzim-substrat (ES). Inhibisi unkompetitif menghambat proses katalisis pembentukan produk oleh enzim dengan cara inhibitor berinteraksi dengan sisi aktif yang berbeda dengan sisi aktif yang mengikat substrat sehingga terbentuk kompleks enzim-substrat-inhibitor (ESI). Inhibisi nonkompetitif atau inhibisi campuran terjadi ketika inhibisi kompetitif dan inhibisi unkompetitif terjadi secara bersamaan. Inhibitor nonkompetitif terikat pada sisi aktif tempat substrat berinteraksi (kompetitif) dan juga inhibitor kompetitif dapat terikat dengan sisi aktif yang berbeda dari sisi aktif yang berinteraksi dengan substrat (unkompetitif) (Nelson, David L. and Michael M. Cox, 2004).

2.5 Senyawa metabolit sekunder

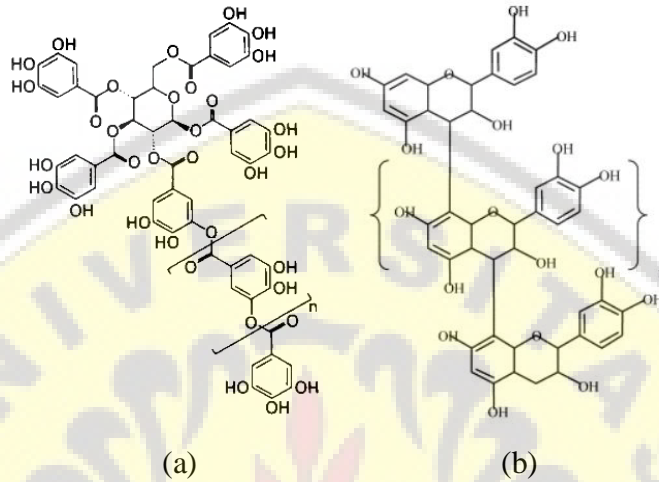
Atun (dalam Ergina, 2014: 166) menyatakan bahwa senyawa metabolit sekunder merupakan senyawa yang dijadikan sebagai sumber molekul utama dalam penemuan dan pengembangan obat-obat baru (Atun, 2008). Senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam tanaman bermacam macam. Chelladurai dkk. (2018) menyatakan bahwa senyawa metabolit sekunder yang ada dalam tanaman diantaranya adalah flavonoid, saponin, alkaloid, tanin, coumarins, antosianin, betasianin, terpenoid, fenol, dan steroid. Chelladurai dkk (2018) juga menyatakan bahwa senyawa metabolit sekunder yang memberi respon positif terhadap uji inhibisi α -amilase dan α -glukosidase adalah flavonoid, terpenoid, dan tanin.



Gambar 2.7 Kerangka C6-C3-C9 Flavonoid



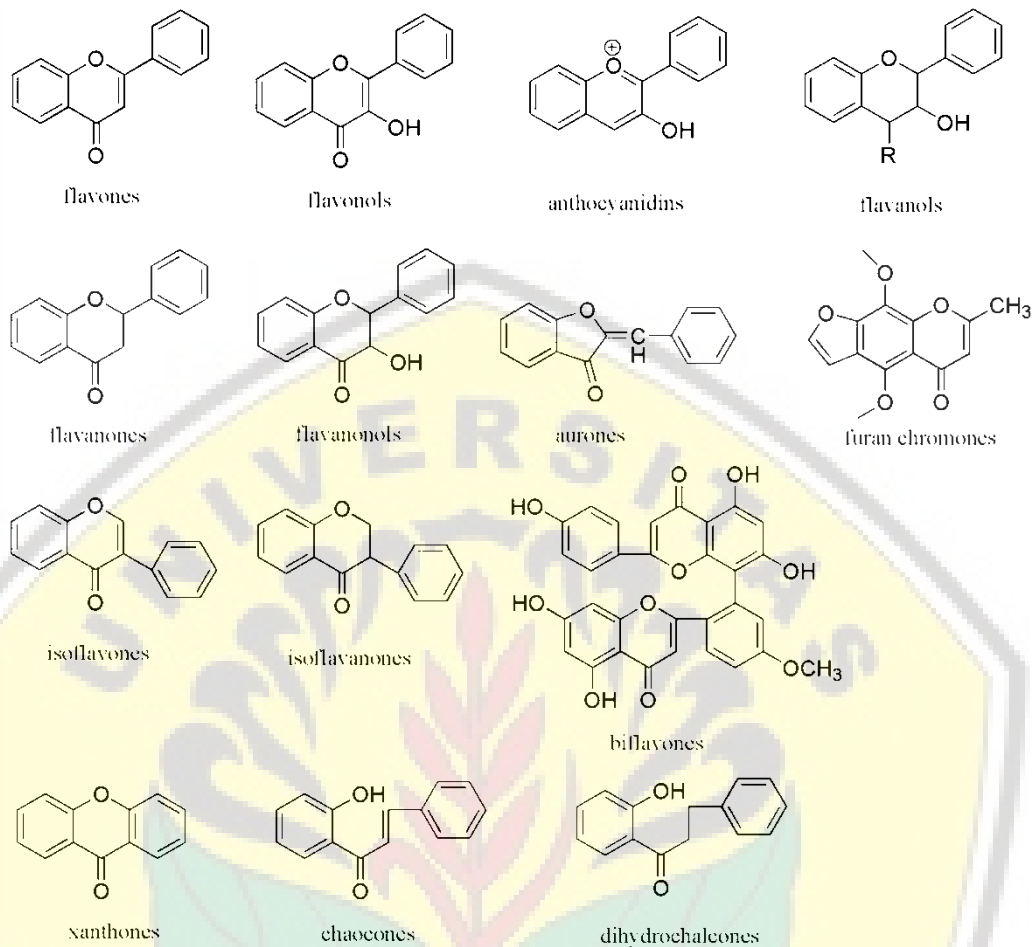
Gambar 2.8 Kerangka Isopren Penyusun Senyawa Terpenoid



Gambar 2.9 Kerangka a) Tanin Terhidrolisis b) Tanin Terkondensasi

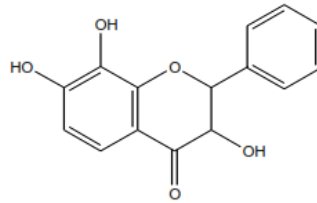
2.5.1 Flavonoid sebagai inhibitor α -amilase

Flavonoid merupakan salah satu senyawa metabolit sekunder yang keberadaannya sangat luas di alam. Bioaktif flavonoid memiliki banyak manfaat antara lain sebagai antibakteri atau antivirus, kardioprotektif, antiinflamasi, anti penuaan, anti kanker, dan antidiabetes (Wang dkk, 2018).

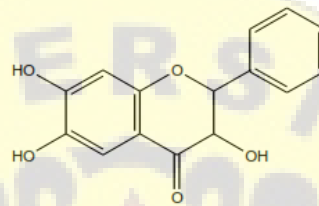


Gambar 2.10 Struktur Kimia dan Klasifikasi Flavonoid (Wang dkk, 2018)

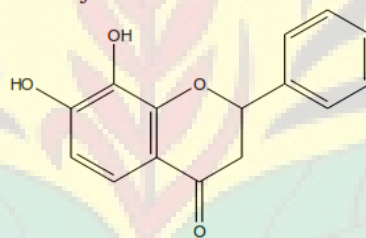
Dewi dkk (2014) menyatakan bahwa hasil identifikasi senyawa dalam isolat biji Terong Belanda mengandung beberapa senyawa flavonoid. Senyawa flavonoid tersebut adalah dari golongan flavanon dengan gugus orto dihidroksi pada cincin A yakni atom C-7, C-8 dan juga senyawa flavonoid dari golongan dihidroflavonol dengan gugus orto yang dihidroksi pada atom C-7 dan C-8 atau gugus orto yang dihidroksi pada atom C-7 dan C-8 pada cincin A. Dugaan struktur flavonoid adalah sebagai berikut



Gambar 2.11 Flavonoid Golongan Dihidroflavonol dengan Gugus Orto Hidroksi pada Atom C-7 dan C-8



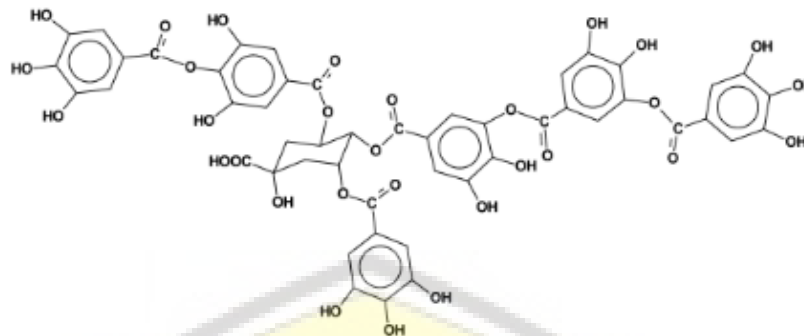
Gambar 2.12. Flavonoid Golongan Dihidroflavonol dengan Gugus Orto Hidroksi pada Atom C-6 dan C-7



Gambar 2.13 Struktur Flavonoid Golongan Flavanon dengan Gugus Orto Dihidroksi pada Cincin A yaitu Atom C-7 dan C-8

2.5.2 Tannin sebagai inhibitor α -amilase

Kandra dkk. (2004) menyatakan bahwa senyawa tanin dapat mengikat sisi aktif dari enzim α -amilase membentuk kompleks enzim-inhibitor (EI). Jenis inhibisi yang terjadi adalah inhibisi kompetitif. Struktur tanin terhidrolisis yang dapat mengikat sisi aktif enzim adalah sebagai berikut:



Gambar 2.14 Struktur Tanin yang Bersifat Sebagai Inhibitor α -Amilase (Kandra dkk, 2004)

2.6 Tanaman Terong Belanda

Terong Belanda (*Solanum betaceum Cav.*) dalam bahasa Inggris disebut Tree Tomato atau Tamarillo fruit (Vasco dkk., 2009). Terong Belanda merupakan salah satu *tanaman* yang buahnya sering dikonsumsi oleh masyarakat. Terong Belanda (*Solanum betaceum Cav.*) merupakan tanaman asli Amerika Serikat. Di Indonesia, tanaman Terong Belanda dikembangkan di daerah Sumatra Utara, Bali, dan Jawa (Asih dkk, 2015).



Gambar 2.15 Buah Terong Belanda (Vasco dkk, 2009)

Klasifikasi Terong Belanda secara taksonomi ialah sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Tracheobionta
Divisi	: Spermatophyta
Subdivisi	: Angiospermae
Klass	: Dicotyledonae
Subklass	: Asteridae
Ordo	: Solanales
Famili	: Solanaceae
Genus	: Solanum
Spesies	: Solanum betaceum Cav.

Dewi dkk (2014) menyatakan bahwa Terong Belanda memiliki sifat antioksidan, Departemen Kesehatan dan Kesehatan Sosial menyatakan bahwa Terong Belanda memiliki manfaat sebagai obat tekanan darah tinggi dan penyegar badan, Sianturi dkk (2013) menyatakan bahwa Terong Belanda meningkatkan jumlah eritrosit dan kadar hemoglobin mencit jantan. Kandungan flavonoid dari ekstrak Terong Belanda dapat menghambat radikal bebas sehingga bersifat antioksidan. Sianturi (2013) juga melaporkan hasil skrining kandungan metabolit jus buah terong belanda mengandung flavonoid, tanin, terpen, steroid, dan saponin.

2.7 Ekstraksi

Konsep dari ekstraksi pelarut adalah “like dissolve like”, yakni senyawa dengan kepolaran sama maka akan larut. Metode ekstraksi yang dapat digunakan untuk sampel yang tidak tahan terhadap temperatur tinggi adalah metode maserasi. Metode maserasi dilakukan dengan cara merendam sampel pada pelarut dalam waktu tertentu. Faktor yang dapat mempengaruhi hasil ekstraksi diantaranya metode ekstraksi, jenis pelarut, konsentrasi pelarut, dan temperatur yang digunakan saat proses ekstraksi berlangsung. Metode maserasi memiliki kelebihan diantaranya alat yang dipakai sederhana tetapi dihasilkan produk yang baik dan juga senyawa yang tidak tahan terhadap temperatur tinggi tidak akan

rusak. Proses perendaman sampel menggunakan pelarut sangat menguntungkan karena senyawa yang ada di dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut organik yang digunakan. Pemecahan dinding sel terjadi karena adanya perbedaan tekanan di dalam dan di luar dinding sel yang disebabkan oleh peristiwa plasmolisis selama perendaman. Waktu perendaman diatur untuk mendapatkan hasil ekstraksi yang sempurna (Ningsih dkk, 2016).

Efektivitas yang tinggi pada proses maserasi diakibatkan oleh pemilihan pelarut. Pemilihan pelarut didasarkan pada kelarutan bahan alam atau sampel dalam suatu pelarut. Nurdiansyah dan Abdi Redha (2013) menyatakan bahwa pelarut yang banyak digunakan untuk proses isolasi senyawa organik secara umum adalah metanol karena metanol dapat melarutkan sebagian besar senyawa organik. Proses perendaman dilakukan berulang kali hingga keseimbangan konsentrasi antara larutan di dalam dan di luar sel tercapai. Lama perendaman yang dilakukan dapat diatur. Metode maserasi lebih baik daripada metode perkolasi. Hal ini dibuktikan oleh Nobre dkk. (2005) dalam percobaannya dalam membandingkan kadar flavonoid *Momordica charantia L.*

Ekstraksi terjadi sempurna jika interaksi efektif antara senyawa yang akan diisolasi dengan pelarut. Cara agar terjadi interaksi yang efektif adalah dengan memperluas permukaan sampel yakni dengan memperkecil ukuran bahan alam atau sampel. Semakin kecil ukuran bahan atau sampel maka akan semakin luas bagian yang berinteraksi efektif dengan pelarut. Kondisi yang demikian menyebabkan kecepatan untuk mencapai keseimbangan konsentrasi antara larutan di dalam dan di luar sel menjadi lebih besar. Pengadukan terhadap sampel dilakukan untuk menghindari memadatnya sampel sehingga pelarut sulit menembus bahan. Pelarut yang tidak menembus bahan menyebabkan senyawa aktif di dalam sampel tidak terekstrak dengan baik.

Ekstrak pekat yang telah dihasilkan dari proses maserasi dilarutkan dengan air agar senyawa yang terdapat pada ekstrak larut kembali dan dapat digunakan untuk ekstraksi cair-cair (Rahayu dkk, 2015). Proses ekstraksi yang dilakukan terhadap ekstrak uji adalah ekstraksi cair-cair ekstrak dengan n-heksana, kloroform, etil asetat. Voight (dalam Mardiyah, 2014:42) menyatakan

bahwa penggunaan pelarut tersebut dimaksudkan agar senyawa dengan kepolaran berbeda dapat terekstrak dalam pelarut yang sesuai. Razali dkk (2017) menyatakan bahwa perbedaan kepolaran pelarut organik ditinjau dari nilai indeks kepolaran, semakin besar nilai indeks kepolaran maka semakin besar pula kepolarannya. Indeks kepolaran heksana, diklorometana (DCM), etil asetat (EtOAc), dan metanol (MeOH) berturut turut adalah 0,1; 3,1; 4,4; dan 5,1. Ekstrak fraksi heksana, diklorometana, etil asetat, dan metanol dari sampel selanjutnya diuapkan pelarutnya hingga didapatkan ekstrak pekat. Sani dkk (2014) menyatakan bahwa rendemen ekstrak dihitung dengan cara membandingkan massa akhir ekstrak yang didapatkan dengan berat awal sampel dikalikan 100%.

$$\% \text{ rendemen} = \frac{\text{massa akhir ekstrak}}{\text{massa awal sampel}} \times 100 \quad (2.1)$$

2.8 Taman Nasional Bromo Tengger Semeru

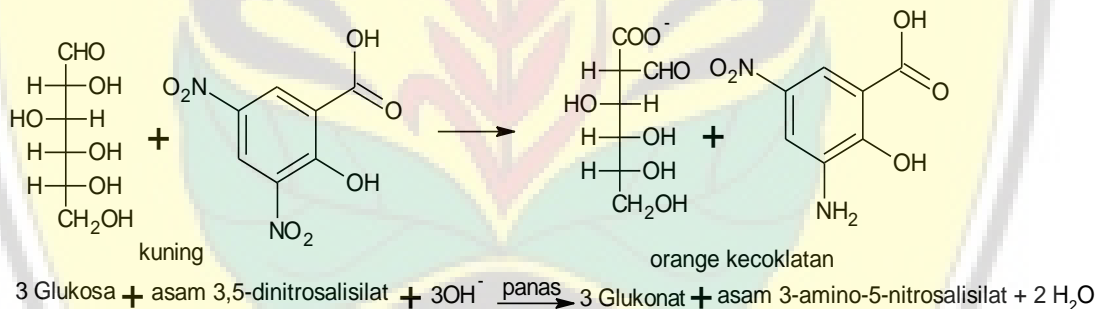
Surat Pernyataan Menteri Pertanian Nomor 736/Mentan/X/1982 merupakan dasar dari ditetapkannya Taman Nasional Bromo Tengger Semeru (TNBTS) sebagai kawasan Taman Nasional. Penetapan ini sejak Oktober 1982. Potensi kekayaan alam yang unik dan juga besar ini menjadi alasan dari penetapan kawasan Bromo Tengger sebagai kawasan Taman Nasional. Kawasan Taman Nasional Bromo Tengger Semeru memiliki hutan yang kawasannya cukup luas serta keanekaragaman flora. Letak geografis dari Taman Nasional Bromo Tengger Semeru adalah antara 7054' – 8013' LS dan 112051' – 113004' BT dengan ketinggian 750-3676 mdpl. Rentang ketinggian yang begitu lebar memungkinkan untuk memiliki keragaman hayati yang cukup tinggi (Hidayat dkk, 2007).

2.9 Metode Uji Aktivitas Inhibisi α -amilase

Fossum dan Whitaker (dalam Santoso, 2018:14) menyatakan bahwa pengukuran uji aktivitas inhibisi atau penghambatan α -amilase dapat diukur menggunakan dua cara yakni mengukur jumlah gula pereduksi yang dihasilkan dari hidrolisis pati oleh α -amilase atau dengan mengukur sisa pati yang tidak terhidrolisis. Metode yang umum digunakan untuk menguji aktivitas α -amilase yakni dengan mengukur gula pereduksi yang dihasilkan. Pereaksi atau reagen

yang dapat digunakan untuk mengukur jumlah gula pereduksi adalah asam dinitrosalisilat (DNS). Reagen DNS jika bereaksi dengan gula pereduksi maka akan menghasilkan kompleks warna yang dapat diukur menggunakan spektrofotometer. Adanya penghambatan diamati dari nilai perbedaan absorbansi yang dihasilkan.

Timerman (dalam Santoso, 2018:15) menyatakan bahwa penghentian reaksi hidrolisis pati oleh α -amilase dilakukan dengan melakukan pemanasan. Pemanasan menyebabkan konfigurasi dari α -amilase berubah, sehingga aktivitas enzim akan berhenti. Konsentrasi produk dari reaksi hidrolisis ditentukan menggunakan reagen DNS. Reagen DNS direduksi oleh gula reduksi yang dihasilkan dari hidrolisis pati. Perubahan warna dari reagen DNS yang berwarna kuning menjadi senyawa asam 3-amino-5-nitrosalisilat yang berwarna orange kecoklatan diukur absorbansinya menggunakan microplate readers pada panjang gelombang maksimum 540 nm. Reaksinya adalah sebagai berikut



Gambar 2.16 Reaksi Reduksi asam 3,5-dinitrosalisilat (DNS) dengan Gula Pereduksi

BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan April 2019 sampai Oktober 2019 di laboratorium CDAST (*Center for Development of Advanced Sciences and Technology*) Universitas Jember.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

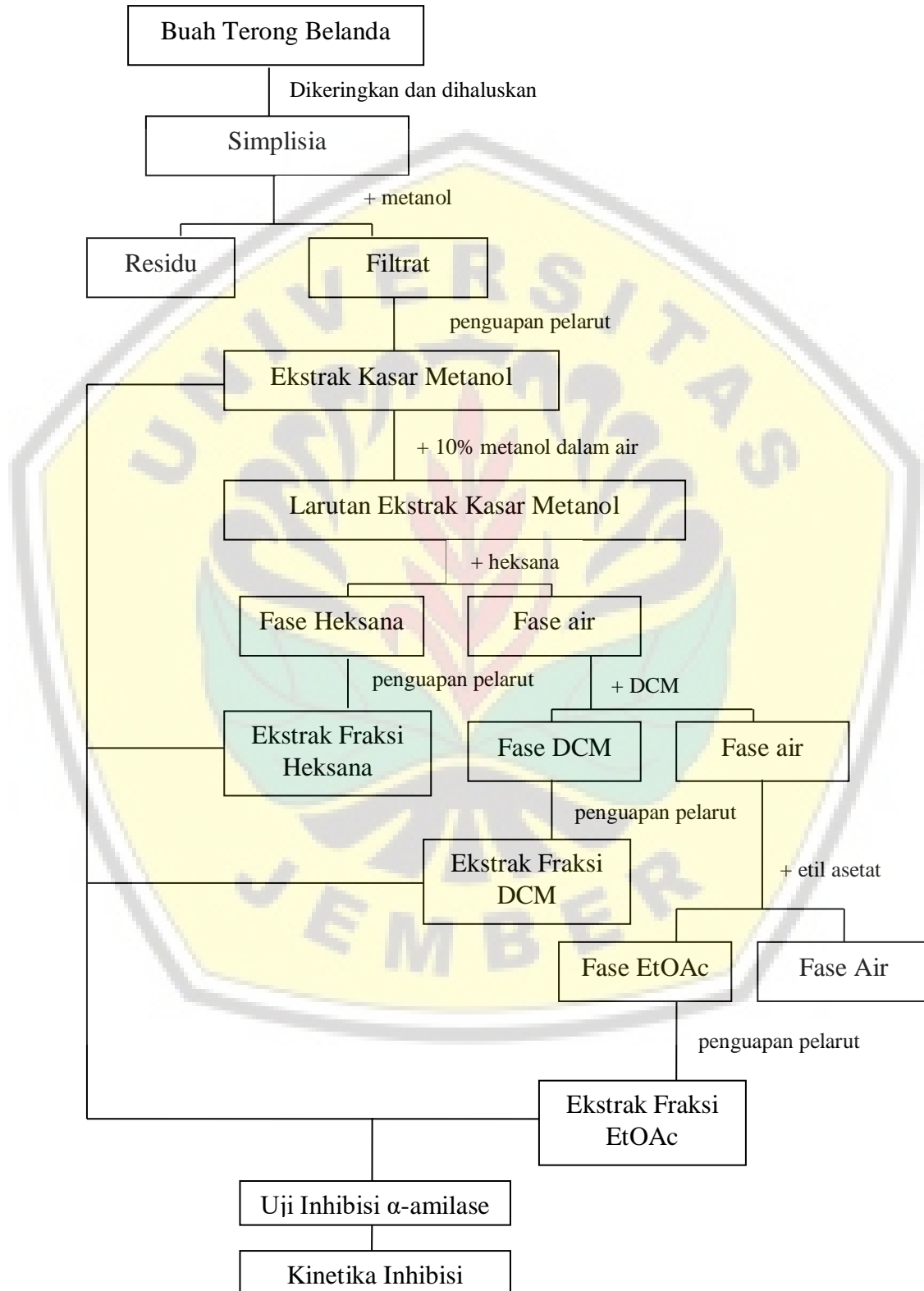
Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah peralatan instrumen, peralatan gelas, dan peralatan non gelas. Peralatan instrumen yang digunakan antara lain adalah blender, *magnetic stirrer*, neraca analitik, *rotary evaporator*, satu set alat spektrofotometer UV-Vis, inkubator, *dry block*, *digital moisture tester*, dan pipet mikro. Peralatan gelas yang digunakan antara lain adalah gelas beaker, erlenmeyer, gelas ukur, corong gelas, corong pisah, tabung reaksi, dan labu ukur. Peralatan non gelas antara lain gunting, kertas saring, plastik sampel, *aluminium foil*, kertas label, dan eppendorf.

3.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan yakni bagian buah tanaman Terong Belanda (*Solanum betaceum* Cav.), metanol, akuades, akuademin, heksana, diklorometana (DCM), etil asetat (EtOAc), dimetilsulfoksida (DMSO) (Merck), buffer fosfat pH 6,9 0,02 M, larutan asam 3,5 dinitrosalisilat (DNS), α -amilase (Sigma-Aldrich), pati terlarut (Merck), dan akarbosa (*Glucobay*).

3.3 Rancangan Penelitian

3.3.1 Diagram Alir Penelitian



3.4 Prosedur Pelaksanaan Penelitian

3.4.1 *Sampling*

Pengambilan sampel dilakukan di kawasan Taman Nasional Bromo Tengger, Probolinggo. Peralatan yang digunakan untuk mengambil sampel seperti gunting tanaman, pisau, dan wadah berupa kantong kresek besar. Bagian tanaman yang diambil sebagai sampel adalah seluruh bagian buah. Sampel yang telah didapat lalu dimasukkan dalam wadah dan diberi label nama tanamannya.

3.4.2 Pembuatan Simplisia Terong Belanda

Tanaman dibersihkan lalu dikeringkan menggunakan sinar matahari tidak langsung dan juga diangin-anginkan sampai sampel kering. Sampel kering kemudian dihaluskan menggunakan blender. Kadar air dari simplisia diukur menggunakan *digital moisture tester*.

3.4.3 Ekstraksi Senyawa Metabolit Sekunder Buah Terong Belanda

Ekstraksi senyawa metabolit dari simplisia buah Terong Belanda dilakukan dengan cara ekstraksi pelarut. Ekstraksi yang pertama dilakukan adalah dengan metode maserasi. Pelarut yang digunakan ialah metanol agar seluruh senyawa metabolit sekunder didapatkan. Dilanjutkan dengan penguapan pelarut metanol. Ekstrak dilarutkan dengan akuades kemudian dilanjutkan fraksinasi menggunakan metode partisi cair-cair untuk mendapatkan ekstrak dengan tingkat kepolaran berbeda. Pelarut yang digunakan ialah heksana, kemudian diklorometana (DCM), dan yang terakhir adalah etil asetat. Penggunaan pelarut tersebut diurut berdasarkan tingkat kepolarannya.

Simplisia ditimbang sebanyak 50 gram lalu dimasukkan ke dalam erlenmeyer 1000 mL lalu ditambahkan 300 mL. Campuran kemudian dilakukan pengadukan menggunakan *magnetic stirrer* selama 24 jam. kemudian difiltrasi diambil filtratnya. Pengulangan dilakukan sampai filtrat tidak berwarna untuk memastikan bahwa seluruh senyawa metabolit sekunder telah habis terikat dengan metanol. Filtrat yang didapat kemudian dilakukan penguapan pelarut

menggunakan *rotary evaporator* sehingga didapatkan ekstrak kasar metanol (*crude methanol extract*).

Ekstrak kasar metanol sebagian disimpan sebagai referens. 2 gram ekstrak kasar metanol dilarutkan dalam 25 ml larutan metanol 10% dalam air.. Larutan ekstrak kasar metanol dimasukkan dalam corong pisah lalu ditambahkan pelarut heksana dengan perbandingan 1:1. Dikocok selama 1 jam. Diambil fase atas untuk dilakukan penguapan pelarut menggunakan *rotary evaporator* hingga didapatkan ekstrak fraksi heksana. Fase air (bawah) dilanjutkan ekstraksi menggunakan DCM dengan perbandingan 1:1. Dikocok selama 1 jam. Diambil fase bawah untuk dilakukan penguapan pelarut menggunakan *rotary evaporator* hingga didapatkan ekstrak fraksi DCM. Fase air (atas) dilanjutkan ekstraksi menggunakan etil asetat dengan perbandingan 1:1. Diambil fase atas untuk dilakukan penguapan pelarut menggunakan *rotary evaporator* hingga didapatkan ekstrak fraksi etil asetat.

3.4.4 Pembuatan Kurva Standar Maltosa

Perlakuan pertama adalah membuat 1 mL larutan maltosa 2000 μM sebagai larutan stok. Pelarut yang digunakan adalah buffer fosfat pH 6,9 0,02 M. Perhitungan mengenai massa maltosa terdapat pada lampiran 1. Larutan stok kemudian diencerkan dengan pelarut yang sama hingga didapatkan larutan maltosa dengan konsentrasi yang bervariasi yakni 100 μM , 200 μM , 400 μM , 800 μM , dan 1600 μM . Perhitungan pengenceran terdapat pada lampiran 1. Perlakuan selanjutnya adalah mengambil masing masing 160 μL larutan maltosa dimasukkan dalam eppendorf berbeda lalu ditambahkan 80 μL larutan DNS. Larutan kemudian divortex dan dipanaskan selama 5 menit menggunakan dry block dengan suhu 100°C. Selanjutnya ditambahkan 720 μL akuademin lalu divortex dan diukur masing masing absorbansi dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 540 nm. Larutan blanko yang digunakan adalah buffer fosfat pH 6,9 0,02 M dengan perlakuan sama seperti larutan maltosa. Nilai absorbansi yang didapatkan tersebut diplotkan menjadi kurva standar maltosa lalu didapatkan persamaan kurva standar maltosa.

3.4.5 Analisis Inhibisi α -Amilase oleh Ekstak buah Terong Belanda

Dibuat larutan ekstrak dari keempat fraksi dengan konsentrasi 100 $\mu\text{g/mL}$ dalam pelarut 30% DMSO dalam buffer fosfat pH 6,9 0,02 M. Diambil 100 μL larutan ekstrak dari 4 fraksi masing masing dimasukkan ke dalam 2 eppendorf diberi label S^+ dan S^- . 100 μL larutan DMSO 30% dalam buffer fosfat pH 6,9 0,02 M dimasukkan ke dalam 2 eppendorf diberi label C^+ dan C^- . Eppendorf berlabel S^+ dan C^+ ditambahkan 150 μL α -amilase (0,7 u/ml) sedangkan eppendorf berlabel S^- dan C^- ditambahkan 150 μL buffer fosfat pH 6,9 0,02 M. Larutan divortex kemudian dilakukan pre-inkubasi 15 menit pada suhu 37°C. Kemudian semua eppendorf ditambahkan *soluble starch* (1% w/v). Larutan diinkubasi pada suhu 37°C selama 15 menit kemudian reaksi hidrolisis dihentikan dengan cara mendidihkan larutan selama 1 menit.

Larutan diambil sebanyak 160 μL untuk dimasukkan ke dalam eppendorf lain dengan label yang sama. Reagen DNS ditambahkan sebanyak 80 μL lalu divortex kemudian dilakukan pemanasan selama 5 menit menggunakan *dry block* pada suhu 100°C. Larutan kemudian diencerkan dengan menambahkan 720 μL akuademin. Masing masing larutan diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 540 nm. Perbandingan yang digunakan yakni akarbosa.

Nilai absorbansi dari masing masing dikonversi menjadi konsentrasi produk maltosa melalui persamaan kurva standar maltosa. Persen inhibisi α -amilase dihitung melalui persamaan berikut :

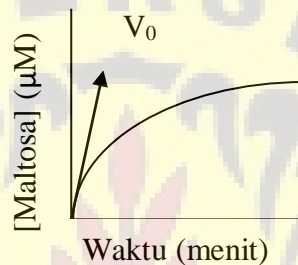
$$\% \text{ inhibisi} = \left(\frac{(C^+ - C^-) - (S^+ - S^-)}{(C^+ - C^-)} \right) \times 100\%$$

Keterangan :

C^+ = konsentrasi maltosa kontrol dengan enzim, C^- = konsentrasi maltosa kontrol tanpa enzim,. Sedangkan S^+ = konsentrasi maltosa sampel dengan enzim , dan S^- = konsentrasi maltosa sampel tanpa enzim

3.4.6 Kinetika inhibisi α -Amilase

Kinetika inhibisi dianalisis menggunakan metode 3.4.5 namun ada variasi konsentrasi pati terlarut dan juga waktu inkubasi. Variasi konsentrasi pati terlarut yakni 1%; 0,5%; 0,25%; dan 0,125%. Variasi waktu inkubasi pada masing masing konsentrasi pati terlarut adalah 0,3,6,9,12,18, dan 21 menit untuk mendapatkan nilai kecepatan awal reaksi (V_0). Gambar 3.1 merupakan bentuk kurva hasil pengeplotan antara waktu inkubasi dan konsentrasi produk. Nilai V_0 sama dengan *slope* dari kurva tersebut.



Gambar 3.1 Kurva Hasil Pengeplotan Waktu Inkubasi dan Konsentrasi Produk. Nilai V_0 masing-masing konsentrasi *soluble starch* digunakan untuk membuat kurva Lineweaver-Burk. Kurva Lineweaver-Burk dibuat melalui pengeplotan antara $1/[\text{soluble starch}]$ dan $1/V_0$.

BAB 5. PENUTUP

5.1 Kesimpulan

1. Ekstrak bahan aktif yang diperoleh dari buah Terong Belanda (*Solanum betaceum Cav.*) dapat menghambat α -amilase. Kemampuan inhibisi α -amilase tertinggi adalah pada fraksi EtOAc yakni $55,42 \pm 1,29 \%$, disusul oleh fraksi DCM yakni $47,94 \pm 0,15 \%$, lalu fraksi heksana yakni $22,88 \pm 1,27 \%$, dan yang paling rendah adalah ekstrak kasar metanol yakni $14,05 \pm 1,29 \%$.
2. Konstanta kinetika yang didapatkan dari penelitian ini adalah nilai K_M dan V_{maks} . Nilai K_M dari kontrol adalah $3,56 \pm 0,56$ mg/mL sedangkan nilai K_M dari sampel adalah $2,51 \pm 0,16$ mg/mL. Nilai V_{maks} dari kontrol adalah $25,06 \pm 2,00$ μ M/menit sedangkan nilai V_{maks} dari sampel adalah $15,73 \pm 1,02$ μ M/menit.
3. Jenis inhibisi ekstrak fraksi teraktif (ekstrak fraksi EtOAc) dari Terong Belanda (*Solanum betaceum Cav*) terhadap enzim α -amilase adalah inhibisi *uncompetitive*

5.2 Saran

Perlu dilakukan isolasi dan identifikasi kandungan senyawa aktif pada ekstrak fraksi EtOAc dari terong belanda (*Solanum betaceum Cav.*) karena dari hasil penelitian ini memiliki kemampuan inhibisi α -amilase paling besar dibandingkan dengan fraksi lainnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Armstrong, F. B. 1995. *Buku Ajar Biokimia Edisi Ketiga*. Jakarta: EGC.
- Asih, I. A. R., I. W. Sudiarta, dan A. A. W. Suci. 2015. Aktivitas antioksidan senyawa golongan flavonoid ekstrak etanol daging buah terong belanda (*Solanum betaceum* Cav.). *Jurnal Kimia*. 9(1): 35-40.
- Asih, I. A. R. A., I. B. P. Manuaba, K. Berata, dan B. K. Satriyasa. 2018. The Flavonoid Glycosides Antioxidant from Terong Belanda (*Solanum betaceum*). *Biomedical and Pharmacology Journal*. 11(4).
- Berg, J. M., dan L. Stryer. 2002. *Biochemistry*. Edisi 5. New York (US): WH Freeman.
- Busatta, F. 2011. Obesity, diabetes, and the thrifty gene. *Journal of Anthropology*. 7(1): 117-133.
- Chelladurai, G. R. M., dan C. Chinnachamy. 2018. Alpha amylase and alpha glucosidase inhibitory effects of aqueous stem extract of salacia oblonga and its gc-ms analysis. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 54(1): 1-10.
- Departemen Kesehatan dan Kesehatan Sosial. 2001. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia Cetakan Pertama Jilid Kedua*. Jakarta: Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan.
- Dewi, N. W. O. A. C., N. M. Puspawati, I. M. D. Swantara, I. A. R. A. Asih, dan W. S. Rita. 2014. Aktivitas antioksidan senyawa flavonoid ekstrak etanol biji terong belanda (*Solanum betaceum, syn*) dalam menghambat reaksi peroksidasi lemak pada plasma darah tikus wistar. *Journal of Applied Chemistry*. 2(1): 7-16.
- Ergina, S. Nuryanti, dan I. D. Pursitasari. 2014. Uji kualitatif senyawa metabolit sekunder pada daun palado (*Agave angustifolia*) yang diekstraksi dengan pelarut air dan etanol. *Jurnal Akademika Kimia*. 3(3): 165-172.
- Fitrianingsih S. P., I. T. Maulana, R. Choesrina., D. Dwiputri, dan R. Aprilliani. 2016. Uji aktivitas penghambatan alfa amilase ekstrak daun *Tithonia Diversifolia* secara in vitro. *Prosiding SnaPP*. 6(1):108-115.
- Hayati, E. K., A Jannah, dan R. Ningsih. 2012. Identifikasi Senyawa dan Aktivitas Antimalaria In Vivo Ekstrak Etil Asetat Tanaman Anting-Anting (*Acalypha indica* L.). *Jurnal Molekul*. 7(1): 20-32.

- Hayati, E. K., R. Muti'ah, dan I. Chusna. 2013. Identifikasi senyawa metabolit sekunder ekstrak n-heksana batang kesembukan (*Paederia Foetida* Linn). *Jurnal Alchemy*. 2(3): 150-153.
- Hidayat, S., dan R. A. Risna. 2007. Kajian ekologi tanaman obat langka di taman nasional bromo tengger semeru. *Jurnal Biodiversitas*. 8 (3): 169-173.
- Indriyani L., H. Soetjipto, dan L. Sihasale. 2006. Skrining fitokimia dan uji toksisitas ekstrak daun pecut kuda (*Stachytarpheta jamaicensis* L. Vahl) terhadap larva udang *Artemia salina* Leach. *Berkas Penelitian*. 12: 57-61.
- Janecek, S. 2009. Amylolytic enzymes – focus on the alpha amylases from archaea and plants. *Nova Biotechnologica*. 9(1): 5-25.
- Jansman, A. J. M. 1993. Tannins in feedstruffs for simple-stomached animals. *Nutrition Research Review*. 6: 209-236.
- Kandra, L., G. Gyemant, A. Zajacz, dan G. Batta. 2004. Inhibitory effects of tannin on human salivary α -amylase. *Biochemical and Biophysical Research Communication*. 319: 1265-1271.
- Kang, H. 2011. The chloroform fraction of *Solanum nigrum* supresses nitric oxide and tumor necrosis factor- α in LPS-stimulated mouse peritonealmacrophages through inhibition pf p38, JNK, and ERK $^{1/2}$. *The American Journal of Chinese Medicine*. 39(6): 1261-1273.
- Kementrian Kesehatan RI. 2014. *Pusat Data dan Informasi*. Jakarta Selatan.
- Kurniawaty, E., dan E. E. Lestari. 2016. Uji efektivitas daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) Sebagai pengobatan diabetes melitus. *Majority*. 5(2): 32-36.
- Mardiyah, U., A. G. Fasya, B. Fauziyah, dan S. Amalia. 2014. Ekstraksi, uji aktivitas antioksidan dan identifikasi golongan senyawa aktif alga merah *eucheuma spinosum* dari perairan banyuwangi. *Alchemy*. 3 (1): 39-46.
- Mohamed, E. A. H., M. J. A. Siddiqul, L. F. Ang, A. Sadikun, S. H. Chan, S. C. Tan, M. Z. Asmawi, dan M. F. Yam.. 2012. Potent α -glucosidase and α -amylase inhibitory activitie of standardized 50% ethanolic extracts and sinensetin from orthosiphon stamineus benth sd anti-diabetic mechanism. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 12(176): 1-7.
- Nakamura, M., J. H. Ra, Y. Jee, dan J. S. Kim. 2016. Impact of different partitioned solvents on chemical composition and bioavailability of *Sasa quelpaertensis nakai* leaf extract. *Journal of Food and Drug Analysis*. 30: 1-11.

- Ningsih, D. R., Zufahair, D. Kartika. 2016. Identifikasi senyawa metabolit sekunder serta uji aktivitas ekstrak daun sirsak sebagai antibakteri. *Jurnal Molekul*. 11(1): 101:111.
- Nelson, David L. and Michael M. Cox. 2004. *Lehninger Principles of Biochemistry Fourth Edition*. New York: WH Freeman and Company.
- Nobre, C. P., F. N. Raffin, dan T. F. Moura. 2005. Standardization of extracts from *Momordica charantia L.*(Cucurbitaceae) by total flavonoids content determination. *Acta Farm Bonaerense*. 24(4): 562:566.
- Nurdiansyah dan A. Redha. 2013. Efek lama maserasi bubuk kopra terhadap rendemen, densitas, dan bilangan asam biodiesel yang dihasilkan dengan metode transesterifikasi in situ. *Jurnal Belian*. 10(2): 218-224.
- Piparo E. L., H. Scheib, N. Frei, G. Williamson, M. Grigorov, dan C. J. Chou. 2008. Flavonoids for controlling starch digestion: structural requirements for inhibiting human α -amylase. *Journal of Medicinal Chemistry*. 51(12): 3555-3561.
- Rahayu, S., N. Kurniasih, dan V. Amalia. 2015. Ekstraksi dan identifikasi senyawa flavonoid dari limbah kulit bawang merah sebagai antioksidan alami. *Alkimiya*. 2(2): 1-8.
- Ramazani, A., S. Zakeri, S. Sardari, N. Khodakarim, dan N. D. Djadid. 2010. In vitro and in vivo anti-malarial activity of *Boerhavia elegans* and *Solanum surattense*. *Malaria Journal*. 9(124): 1-8.
- Razali, M., C. Didaskalou, J. F. Kim, M. Babaei, E. Drioli, Y. M. Lee, dan G. Szekely. 2017. Exploring and exploiting the effect of solvent treatment in membrane separations. *Research Article*. 9(12): 11279-11289.
- Sabouri, A. A. 2009. Enzyme inhibition and activation: a general theory. *Journal of The Iranian Chemical Society*. 6(2): 219-229.
- Sani, R. N., F. C. Nisa, R. D. Andriani, dan J. M. Maligan. 2014. Analisis rendemen dan skrining fitokimia ekstrak etanol mikroalga laut *Tetraselmis chuii*. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. 2(2): 121-126.
- Santoso, F. V. 2018. Penentuan aktivitas antidiabetes ekstrak daun tanaman melalui metode inhibisi α -amilase menggunakan spektrofotometri. *Skripsi*. Jember: Universitas Jember.
- Saropah, D. A., A. Jannah, dan A. Maunatin. 2012. Kinetika reaksi enzimatik ekstrak kasar enzim selulase bakteri selulolitik hasil isolasi dari bekatul. *Alchemy*. 2(1): 34-45.

- Sa'adah, H., dan H. Nurhasnawati. 2015. Perbandingan pelarut etanol dan air pada pembuatan ekstrak umbi bawang tiwai (*Eleutherine Americana* Merr) menggunakan metode maserasi. *Jurnal Ilmiah Manuntung*. 1(2): 149-153.
- Sianturi, S., M. Tanjung, dan E. Sabri. 2013. Pengaruh buah terong belanda (*Solanum Betaceum* Cav.) terhadap jumlah eritrosit dan kadar hemoglobin mencit jantan (*Mus Musculus* L.) anemia strain ddw melalui induksi natrium nitrit (NaNO₂). *Journal Article Saintia Biologi*. 49-54.
- Sundarram, A., dan T. P. K. Murthy. 2014. α -Amylase production and applications: a review. *Journal of Applied & Environmental Microbiology*. 2(4): 166-175.
- Susanty dan F. Bachmid. 2016. Perbandingan metode ekstraksi maserasi dan refluks terhadap kadar fenolik dari ekstrak tongkol jagung (*Zea mays* L.). *Jurnal Konversi*. 5(2): 87-93.
- Tundis, R., M. R. Loizzo, G. A. Statti, dan F. Menichini. 2007. Inhibitory effects on the digestive enzyme α -amylase of three salsola species (*Chenopodiaceae*) in vitro. *Journal Pharmazie*. 62(6): 473-475.
- Vasco, C., J. Avila, J. Ruales, U. Svanberg, dan A. K. Eldin. 2009. Physical and chemical characteristics of golden-yellow and purple-red varieties of tamarillo fruit (*Solanum betaceum* Cav.). *International Journal of Food Sciences and Nutrition*. 60: 278-288.
- Wahyuntari, B. 2011. Penghambat α -amilase: jenis, sumber, dan potensi pemanfaatannya dalam kesehatan. *Jurnal teknologi dan industri pangan*, 22(2): 197-201.
- Wang, T., Q. Li, dan K. Bi. 2018. Bioactive flavonoids in medicinal plants : structure, activity, and biological fate. *Asian Journal of Pharmaceutical Science*. 13: 12-23.
- Zhang, Q., J. Zheng, A. Shevade, L. Zhang, S. H. Zehrke, G. S. Heffelfinfe, dan S. Jiang. 2002. Transport diffusion of liquid water and methanol through membranes. *Journal of Chemical Physics*. 117(2): 808-818.

LAMPIRAN

1. Pembuatan Larutan Maltosa

1.1 Larutan stok 2000 μM = 0,002 M

$$\begin{aligned} 0002 \text{ M} &= \frac{\text{massa maltosa}}{Mr \text{ maltosa}} \times \frac{1000 \text{ mL/L}}{\text{volume pelarut (mL)}} \\ &= \frac{\text{massa maltosa}}{342,3 \text{ gram/mol}} \times \frac{1000 \text{ mL/L}}{2 \text{ mL}} \end{aligned}$$

$$\text{Massa maltosa} = 0,001369 \text{ gram}$$

1.2 Pengenceran

$$M_1 \cdot V_1 = M_2 \cdot V_2$$

- [1600 μM]

$$\begin{aligned} 2000 \mu\text{M} \cdot V_1 &= 1600 \mu\text{M} \cdot 500 \mu\text{L} \\ V_1 &= \frac{1600 \mu\text{M} \cdot 500 \mu\text{L}}{2000 \mu\text{M}} \\ &= 400 \mu\text{L} \end{aligned}$$

- [800 μM]

$$\begin{aligned} 2000 \mu\text{M} \cdot V_1 &= 800 \mu\text{M} \cdot 500 \mu\text{L} \\ V_1 &= \frac{800 \mu\text{M} \cdot 500 \mu\text{L}}{2000 \mu\text{M}} \\ &= 200 \mu\text{L} \end{aligned}$$

- [400 μM]

$$\begin{aligned} 2000 \mu\text{M} \cdot V_1 &= 400 \mu\text{M} \cdot 500 \mu\text{L} \\ V_1 &= \frac{400 \mu\text{M} \cdot 500 \mu\text{L}}{2000 \mu\text{M}} \\ &= 100 \mu\text{L} \end{aligned}$$

- [200 μM]

$$\begin{aligned} 2000 \mu\text{M} \cdot V_1 &= 200 \mu\text{M} \cdot 500 \mu\text{L} \\ V_1 &= \frac{200 \mu\text{M} \cdot 500 \mu\text{L}}{2000 \mu\text{M}} \\ &= 50 \mu\text{L} \end{aligned}$$

- [100 μM]

$$\begin{aligned}
 2000 \mu\text{M} \cdot V_1 &= 100 \mu\text{M} \cdot 500 \mu\text{L} \\
 V_1 &= \frac{100 \mu\text{M} \cdot 500 \mu\text{L}}{2000 \mu\text{M}} \\
 &= 25 \mu\text{L}
 \end{aligned}$$

2. Perhitungan % Rendemen

$$\begin{aligned}
 \text{Massa kandungan air pada simplisia} &= \text{massa simplisia} \times \text{kadar air} \\
 &= 50,0018 \text{ gram} \times 9,93\% \\
 &= 4,97 \text{ gram}
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Massa simplisia kering} &= \text{massa simplisia} - \text{massa kandungan air} \\
 &= 50,0018 \text{ gram} - 4,97 \text{ gram} \\
 &= 45,03 \text{ gram}
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \% \text{ rendemen} &= \frac{\text{massa ekstrak yang dihasilkan}}{\text{massa simplisia kering}} \times 100 \% \\
 &= \frac{9,50139 \text{ gram}}{45,03 \text{ gram}} \times 100 \% \\
 &= 21,10 \%
 \end{aligned}$$

3. Perhitungan Massa Ekstrak yang Didapatkan dan % Rendemen Fraksi

3.1 Massa Ekstrak

$$\text{Massa ekstrak} = (\text{massa ekstrak} + \text{vial}) - \text{massa vial kosong}$$

Fraksi	Massa Ekstrak + Massa Vial (gram)	Massa Vial (gram)	Massa Ekstrak (gram)
Ekstrak kasar metanol	27,34002	17,83863	9,50139
Ekstrak fraksi heksana	9,77442	9,62515	0,14927
Ekstrak fraksi DCM	9,72931	9,75735	0,02804
Ekstrak fraksi EtOAc	9,75920	9,69700	0,06220

3.2 Perhitungan % Rendemen Fraksi

$$\% \text{ rendemen fraksi} = \frac{\text{massa fraksi yang didapat}}{\text{massa ekstrak kasar metanol pada fase air}} \times 100 \%$$

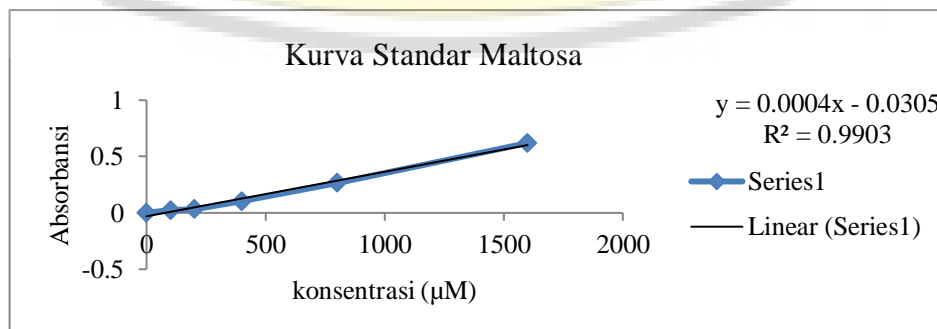
Massa ekstrak kasar metanol yang digunakan 2,00240 gram

Fraksi	Massa fraksi yang didapat (gram)	Massa ekstrak kasar metanol pada fase air (gram)	% rendemen
Ekstrak fraksi heksana	0,14927	2,0024	7,45
Ekstrak fraksi DCM	0,02804	1,8531	1,51
Ekstrak fraksi EtOAc	0,06220	1,8251	3,41

4. Kurva Standar Maltosa

Konsentrasi Maltosa (μM)	Absorbansi	Rata rata	SD
0	0	0	0
100	0,022 0,023 0,026 0,036	0,023	0,002
200	0,025 0,037 0,094	0,032	0,007
400	0,105 0,112 0,259	0,103	0,007
800	0,264 0,273 0,624	0,265	0,009
1600	0,615 0,621	0,620	0,007

SD = standar deviasi



5. % Inhibisi α -Amilase Per Fraksi

$$\% \text{ Inhibisi } \alpha\text{-Amilase} = \left(\frac{[C^+ - C^-] - [S^+ - S^-]}{[C^+ - C^-]} \right) \times 100\%$$

C^+ = pelarut sampel + enzim + substrat

C^- = pelarut sampel + pelarut enzim + substrat

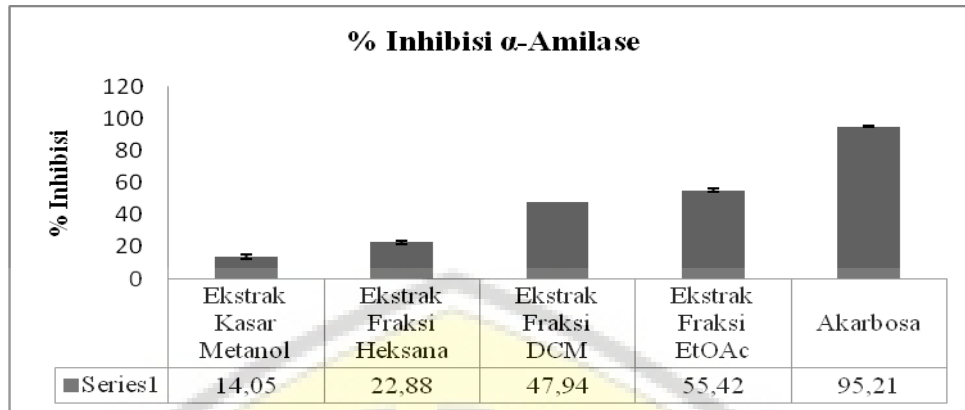
S^+ = sampel + enzim + substrat

S^- = pelarut sampel + pelarut enzim + substrat

Absorbansi		[Maltosa]		[C ⁺ - C ⁻]	Rata-Rata
C ⁺	C ⁻	[C ⁺]	[C ⁻]		
0,487	0,082	1293,75	281,25	1012,50	
0,479	0,095	1273,75	313,75	960,00	990,83
0,490	0,090	1301,25	301,25	1000,00	

Sampel	Absorbansi		[Maltosa] μ M			% Inhibisi	Rata-Rata	SD
	S ⁺	S ⁻	[S ⁺]	[S ⁻]	[S ⁺ -S ⁻]			
Ekstrak Kasar Metanol	0,453	0,108	1208,75	346,25	862,50	12,95	14,05	1,29
	0,449	0,107	1198,75	343,75	855,00	13,71		
	0,441	0,106	1178,75	341,25	837,50	15,47		
Ekstrak Fraksi Heksana	0,425	0,114	1138,75	361,25	777,50	21,53	22,88	1,27
	0,415	0,110	1113,75	351,25	762,50	23,04		
	0,410	0,109	1101,25	348,75	752,50	24,05		
Ekstrak Fraksi DCM	0,305	0,099	838,75	323,75	515,00	48,02	47,94	0,15
	0,300	0,093	826,25	308,75	517,50	47,77		
	0,296	0,090	816,25	301,25	515,00	48,02		
Ekstrak Fraksi EtOAc	0,292	0,111	806,25	353,75	452,50	54,33	55,42	1,02
	0,285	0,109	788,75	348,75	440,00	55,59		
	0,280	0,107	776,25	343,75	432,50	56,35		
Akarbosa	0,112	0,091	356,25	303,75	52,50	94,70	95,21	0,50
	0,109	0,090	348,75	301,25	47,50	95,21		
	0,107	0,090	343,75	301,25	42,50	95,71		

SD = standar deviasi



6. Penentuan V_0

$$[C] = [C^+] - [C^-]$$

$$[S] = [S^+] - [S^-]$$

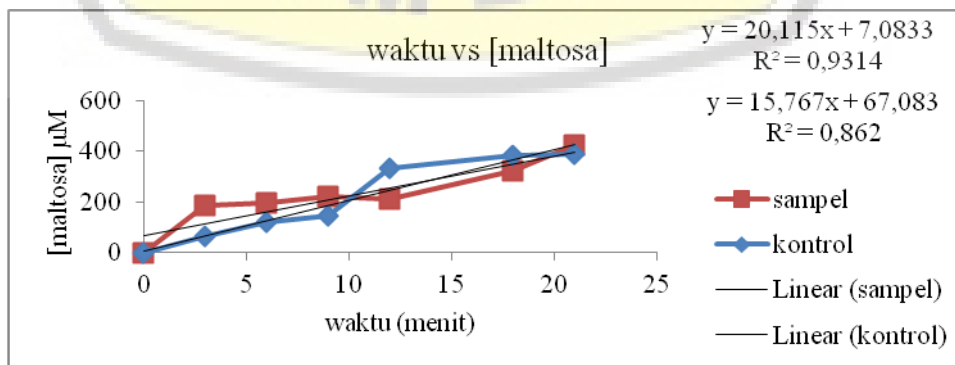
$$[C]_0 = [C] - [C]_{t=0}$$

$$[S]_0 = [S] - [S]_{t=0}$$

6.1 Konsentrasi Substrat 1%

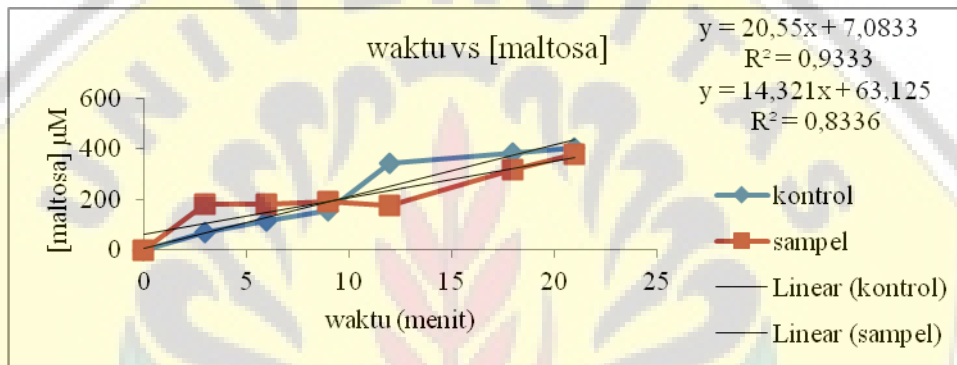
6.1.1 Pengulangan I

waktu (menit)	absorbansi				[maltosa] μ M							
	C ⁺	C ⁻	S ⁺	S ⁻	[C ⁺]	[C ⁻]	[S ⁺]	[S ⁻]	[C]	[S]	[C] ₀	[S] ₀
0	0,300	0,055	0,139	0,060	826,25	213,75	423,75	226,25	612,5	197,5	0	0
3	0,337	0,066	0,224	0,071	918,75	241,25	636,25	253,75	677,5	382,5	65	185
6	0,360	0,067	0,248	0,091	976,25	243,75	696,25	303,75	732,5	392,5	120	195
9	0,374	0,070	0,259	0,092	1011,25	251,25	723,75	306,25	760	417,5	147,5	220
12	0,451	0,073	0,263	0,100	1203,75	258,75	733,75	326,25	945	407,5	332,5	210
18	0,489	0,091	0,330	0,121	1298,75	303,75	901,25	378,75	995	522,5	382,5	325
21	0,493	0,092	0,378	0,130	1308,75	306,25	1021,25	401,25	1002,5	620	390	422,5



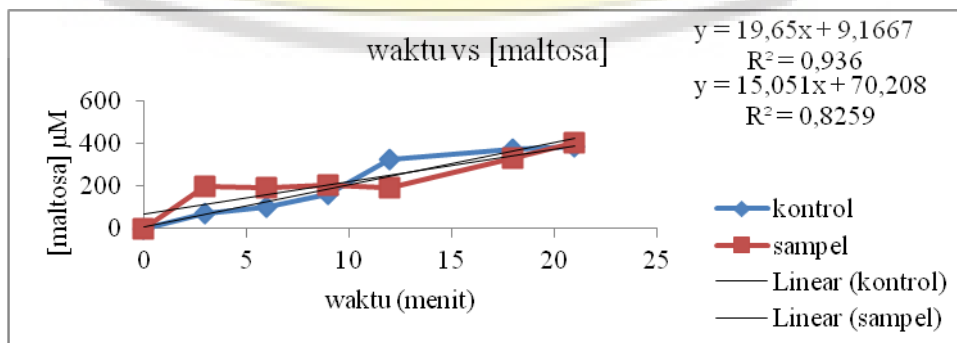
6.1.2 Pengulangan II

Waktu (menit)	absorbansi				[maltosa] μM							
	C ⁺	C ⁻	S ⁺	S ⁻	[C ⁺]	[C]	[S ⁺]	[S]	[C]	[S]	[C] ₀	[S] ₀
0	0,304	0,059	0,151	0,06	836,25	223,75	453,75	226,25	612,5	227,5	0	0
3	0,339	0,067	0,236	0,072	923,75	243,75	666,25	256,25	680	410	67,5	182,5
6	0,360	0,069	0,255	0,091	976,25	248,75	713,75	303,75	727,5	410	115	182,5
9	0,379	0,071	0,261	0,094	1023,75	253,75	728,75	311,25	770	417,5	157,5	190
12	0,457	0,075	0,263	0,101	1218,75	263,75	733,75	328,75	955	405	342,5	177,5
18	0,49	0,092	0,340	0,122	1301,25	306,25	926,25	381,25	995	545	382,5	317,5
21	0,498	0,092	0,381	0,138	1321,25	306,25	1028,75	421,25	1015	607,5	402,5	380



6.1.3 Pengulangan III

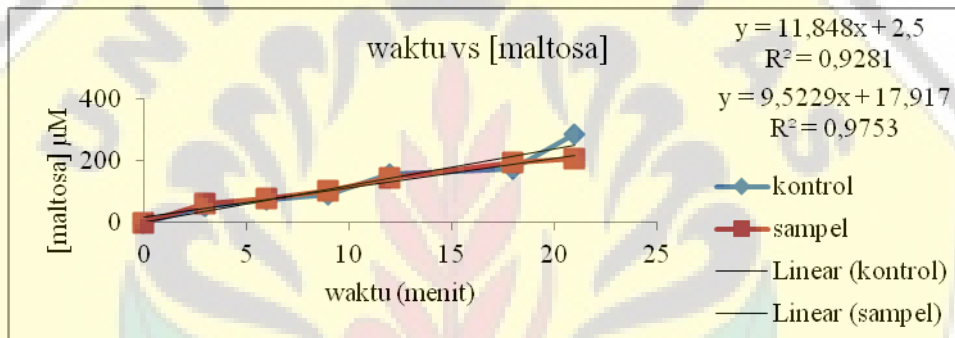
waktu (menit)	absorbansi				[maltosa] μM							
	C ⁺	C ⁻	S ⁺	S ⁻	[C ⁺]	[C]	[S ⁺]	[S]	[C]	[S]	[C] ₀	[S] ₀
0	0,310	0,061	0,151	0,066	851,25	228,75	453,75	241,25	622,5	212,5	0	0
3	0,345	0,067	0,240	0,075	938,75	243,75	676,25	263,75	695	412,5	72,5	200
6	0,361	0,070	0,256	0,094	978,75	251,25	716,25	311,25	727,5	405	105	192,5
9	0,384	0,071	0,263	0,095	1036,25	253,75	733,75	313,75	782,5	420	160	207,5
12	0,458	0,079	0,266	0,104	1221,25	273,75	741,25	336,25	947,5	405	325	192,5
18	0,493	0,094	0,341	0,123	1308,75	311,25	928,75	383,75	997,5	545	375	332,5
21	0,499	0,097	0,385	0,138	1323,75	318,75	1038,75	421,25	1005	617,5	382,5	405



6.2 Konsentrasi Substrat 0,5%

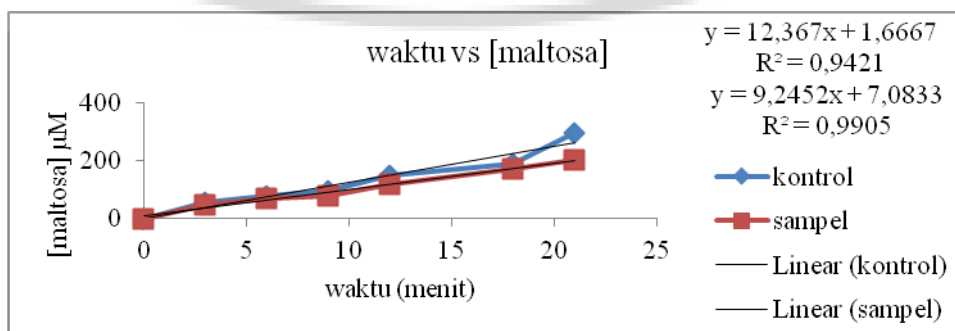
6.2.1 Pengulangan I

waktu (menit)	absorbansi				[maltosa]							
	C ⁺	C ⁻	S ⁺	S ⁻	[C ⁺]	[C ⁻]	[S ⁺]	[S ⁻]	[C]	[S]	[C] ₀	[S] ₀
0	0,236	0,018	0,116	0,051	666,25	121,25	366,25	203,75	545	162,5	0	0
3	0,258	0,018	0,140	0,051	721,25	121,25	426,25	203,75	600	222,5	55	60
6	0,265	0,018	0,147	0,051	738,75	121,25	443,75	203,75	617,5	240	72,5	77,5
9	0,275	0,020	0,160	0,054	763,75	126,25	476,25	211,25	637,5	265	92,5	102,5
12	0,300	0,020	0,177	0,055	826,25	126,25	518,75	213,75	700	305	155	142,5
18	0,310	0,023	0,197	0,054	851,25	133,75	568,75	211,25	717,5	357,5	172,5	195
21	0,357	0,024	0,208	0,061	968,75	136,25	596,25	228,75	832,5	367,5	287,5	205



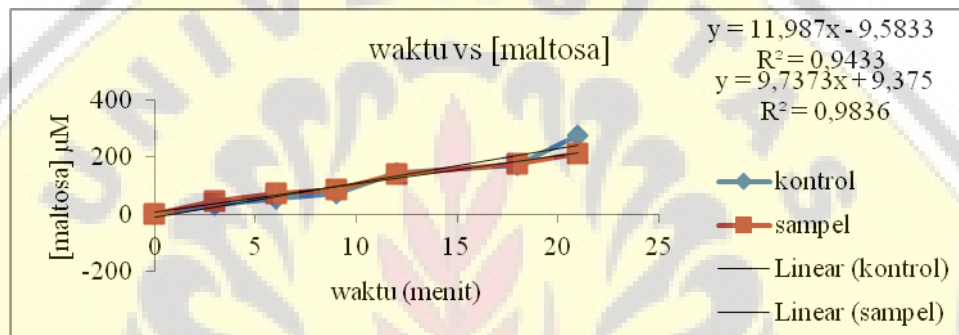
6.2.2 Pengulangan II

Waktu (menit)	absorbansi				[maltosa] μM							
	C ⁺	C ⁻	S ⁺	S ⁻	[C ⁺]	[C ⁻]	[S ⁺]	[S ⁻]	[C]	[S]	[C] ₀	[S] ₀
0	0,237	0,018	0,127	0,052	668,75	121,25	393,75	206,25	547,5	187,5	0	0
3	0,261	0,019	0,145	0,052	728,75	123,75	438,75	206,25	605	232,5	57,5	45
6	0,270	0,020	0,156	0,054	751,25	126,25	466,25	211,25	625	255	77,5	67,5
9	0,277	0,020	0,162	0,055	768,75	126,25	481,25	213,75	642,5	267,5	95	80
12	0,302	0,023	0,178	0,055	831,25	133,75	521,25	213,75	697,5	307,5	150	120
18	0,317	0,023	0,201	0,057	868,75	133,75	578,75	218,75	735	360	187,5	172,5
21	0,363	0,025	0,218	0,062	983,75	138,75	621,25	231,25	845	390	297,5	202,5



6.2.3 Pengulangan III

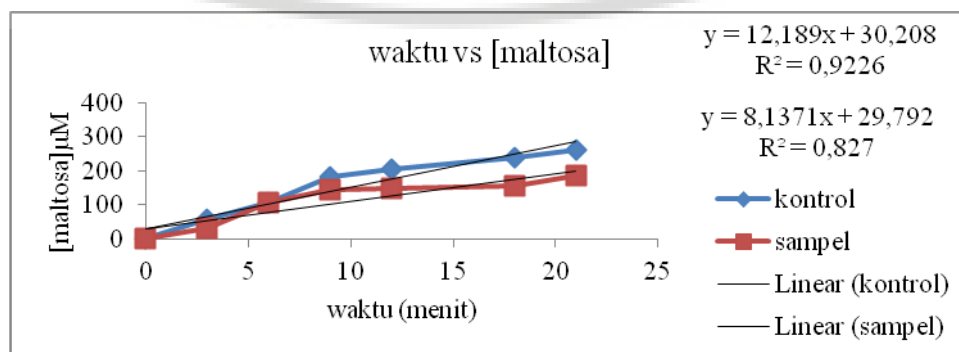
waktu (menit)	absorbansi				[maltosa] μM							
	C ⁺	C ⁻	S ⁺	S ⁻	[C ⁺]	[C ⁻]	[S ⁺]	[S ⁻]	[C]	[S]	[C] ₀	[S] ₀
0	0,244	0,018	0,128	0,053	686,25	121,25	396,25	208,75	565	187,5	0	0
3	0,262	0,022	0,147	0,054	731,25	131,25	443,75	211,25	600	232,5	35	45
6	0,271	0,022	0,159	0,055	753,75	131,25	473,75	213,75	622,5	260	57,5	72,5
9	0,277	0,021	0,165	0,055	768,75	128,75	488,75	213,75	640	275	75	87,5
12	0,309	0,025	0,188	0,056	848,75	138,75	546,25	216,25	710	330	145	142,5
18	0,319	0,024	0,204	0,058	873,75	136,25	586,25	221,25	737,5	365	172,5	177,5
21	0,364	0,028	0,222	0,062	986,25	146,25	631,25	231,25	840	400	275	212,5



6.3 Konsentrasi substrat 0,25%

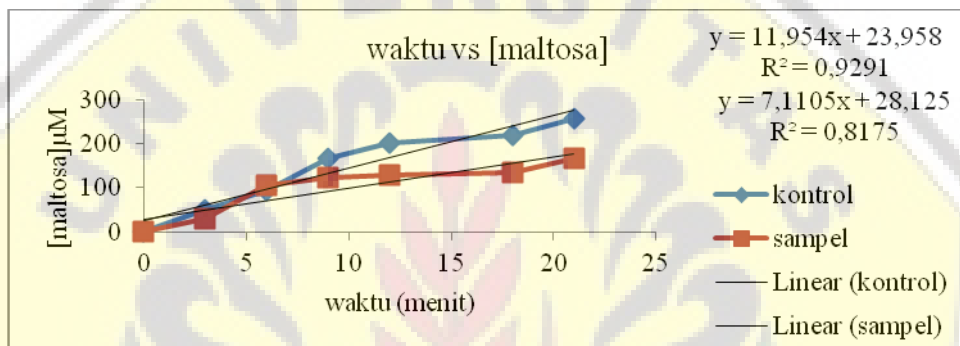
6.3.1 Pengulangan I

waktu (menit)	absorbansi				[maltosa] μM							
	C ⁺	C ⁻	S ⁺	S ⁻	[C ⁺]	[C ⁻]	[S ⁺]	[S ⁻]	[C]	[S]	[C] ₀	[S] ₀
0	0,192	0,020	0,093	0,029	556,25	126,25	308,75	148,75	430	160	0	0
3	0,215	0,020	0,110	0,033	613,75	126,25	351,25	158,75	487,5	192,5	57,5	32,5
6	0,236	0,021	0,140	0,034	666,25	128,75	426,25	161,25	537,5	265	107,5	105
9	0,267	0,022	0,157	0,035	743,75	131,25	468,75	163,75	612,5	305	182,5	145
12	0,277	0,023	0,160	0,037	768,75	133,75	476,25	168,75	635	307,5	205	147,5
18	0,291	0,023	0,168	0,042	803,75	133,75	496,25	181,25	670	315	240	155
21	0,301	0,025	0,182	0,044	828,75	138,75	531,25	186,25	690	345	260	185



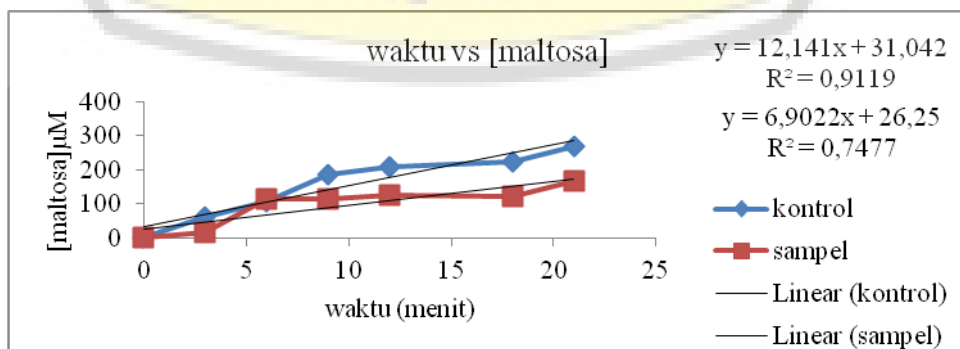
6.3.2 Pengulangan II

waktu (menit)	absorbansi				[maltosa] μM							
	C ⁺	C ⁻	S ⁺	S ⁻	[C ⁺]	[C ⁻]	[S ⁺]	[S ⁻]	[C]	[S]	[C] ₀	[S] ₀
0	0,201	0,021	0,102	0,031	578,75	128,75	331,25	153,75	450	177,5	0	0
3	0,221	0,021	0,116	0,033	628,75	128,75	366,25	158,75	500	207,5	50	30
6	0,240	0,022	0,148	0,035	676,25	131,25	446,25	163,75	545	282,5	95	105
9	0,269	0,022	0,157	0,037	748,75	131,25	468,75	168,75	617,5	300	167,5	122,5
12	0,284	0,023	0,16	0,038	786,25	133,75	476,25	171,25	652,5	305	202,5	127,5
18	0,292	0,024	0,169	0,044	806,25	136,25	498,75	186,25	670	312,5	220	135
21	0,309	0,026	0,184	0,046	848,75	141,25	536,25	191,25	707,5	345	257,5	167,5



6.3.3 Pengulangan III

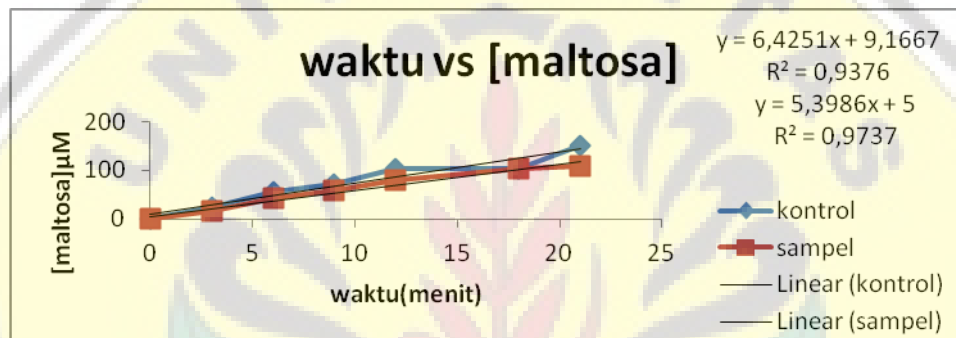
waktu (menit)	absorbansi				[maltosa] μM							
	C ⁺	C ⁻	S ⁺	S ⁻	[C ⁺]	[C ⁻]	[S ⁺]	[S ⁻]	[C]	[S]	[C] ₀	[S] ₀
0	0,201	0,022	0,107	0,031	578,75	131,25	343,75	153,75	447,5	190	0	0
3	0,226	0,023	0,118	0,035	641,25	133,75	371,25	163,75	507,5	207,5	60	17,5
6	0,245	0,024	0,157	0,035	688,75	136,25	468,75	163,75	552,5	305	105	115
9	0,277	0,023	0,16	0,038	768,75	133,75	476,25	171,25	635	305	187,5	115
12	0,285	0,023	0,165	0,039	788,75	133,75	488,75	173,75	655	315	207,5	125
18	0,295	0,026	0,169	0,045	813,75	141,25	498,75	188,75	672,5	310	225	120
21	0,314	0,027	0,189	0,046	861,25	143,75	548,75	191,25	717,5	357,5	270	167,5



6.4 Konsentrasi substrat 0,125%

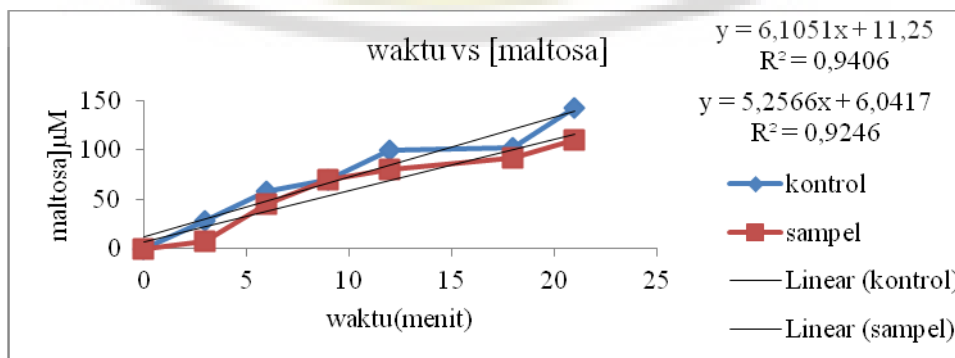
6.4.1 Pengulangan I

waktu (menit)	absorbansi				[maltosa]							
	C ⁺	C ⁻	S ⁺	S ⁻	[C ⁺]	[C ⁻]	[S ⁺]	[S ⁻]	[C]	[S]	[C] ₀	[S] ₀
0	0,13	0,016	0,056	0,02	401,25	116,25	216,25	126,25	285	90	0	0
3	0,141	0,017	0,062	0,02	428,75	118,75	231,25	126,25	310	105	25	15
6	0,154	0,018	0,073	0,02	461,25	121,25	258,75	126,25	340	132,5	55	42,5
9	0,162	0,019	0,082	0,023	481,25	123,75	281,25	133,75	357,5	147,5	72,5	57,5
12	0,174	0,019	0,092	0,024	511,25	123,75	306,25	136,25	387,5	170	102,5	80
18	0,179	0,024	0,1	0,023	523,75	136,25	326,25	133,75	387,5	192,5	102,5	102,5
21	0,198	0,024	0,107	0,027	571,25	136,25	343,75	143,75	435	200	150	110



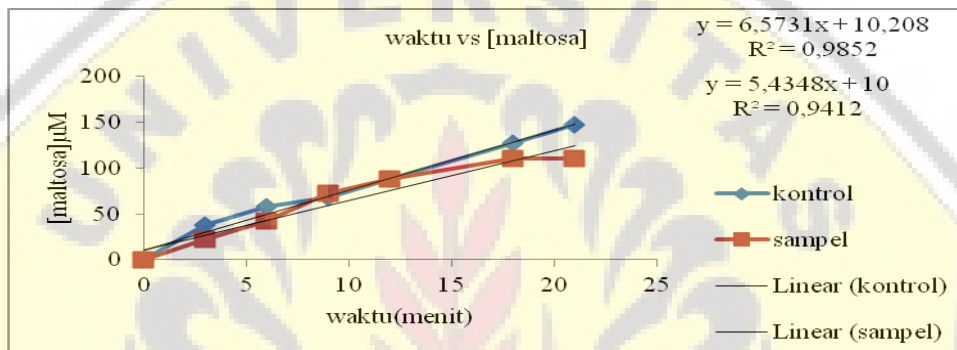
6.4.2 Pengulangan II

Waktu (menit)	absorbansi				[maltosa] µM							
	C ⁺	C ⁻	S ⁺	S ⁻	[C ⁺]	[C ⁻]	[S ⁺]	[S ⁻]	[C]	[S]	[C] ₀	[S] ₀
0	0,133	0,017	0,059	0,02	408,75	118,75	223,75	126,25	290	97,5	0	0
3	0,144	0,017	0,063	0,021	436,25	118,75	233,75	128,75	317,5	105	27,5	7,5
6	0,158	0,019	0,079	0,022	471,25	123,75	273,75	131,25	347,5	142,5	57,5	45
9	0,164	0,02	0,09	0,023	486,25	126,25	301,25	133,75	360	167,5	70	70
12	0,176	0,02	0,095	0,024	516,25	126,25	313,75	136,25	390	177,5	100	80
18	0,181	0,024	0,101	0,025	528,75	136,25	328,75	138,75	392,5	190	102,5	92,5
21	0,198	0,025	0,11	0,027	571,25	138,75	351,25	143,75	432,5	207,5	142,5	110



6.4.3 Pengulangan III

waktu (menit)	absorbansi				[maltosa] μM							
	C ⁺	C ⁻	S ⁺	S ⁻	[C ⁺]	[C ⁻]	[S ⁺]	[S ⁻]	[C]	[S]	[C] ₀	[S] ₀
0	0,134	0,017	0,059	0,021	411,25	118,75	223,75	128,75	292,5	95	0	0
3	0,149	0,017	0,069	0,022	448,75	118,75	248,75	131,25	330	117,5	37,5	22,5
6	0,159	0,019	0,079	0,024	473,75	123,75	273,75	136,25	350	137,5	57,5	42,5
9	0,165	0,021	0,091	0,024	488,75	128,75	303,75	136,25	360	167,5	67,5	72,5
12	0,176	0,024	0,098	0,025	516,25	136,25	321,25	138,75	380	182,5	87,5	87,5
18	0,193	0,025	0,107	0,025	558,75	138,75	343,75	138,75	420	205	127,5	110
21	0,202	0,026	0,11	0,028	581,25	141,25	351,25	146,25	440	205	147,5	110

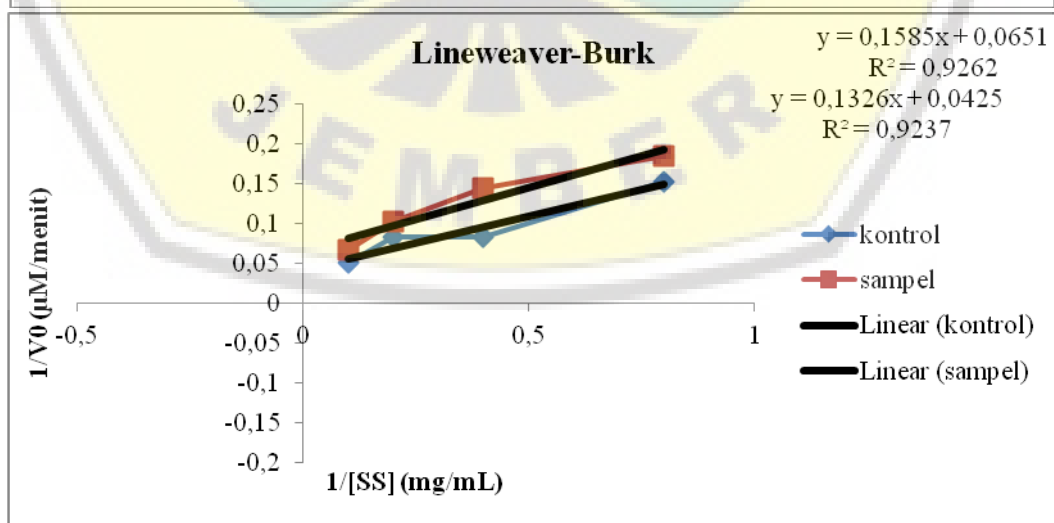
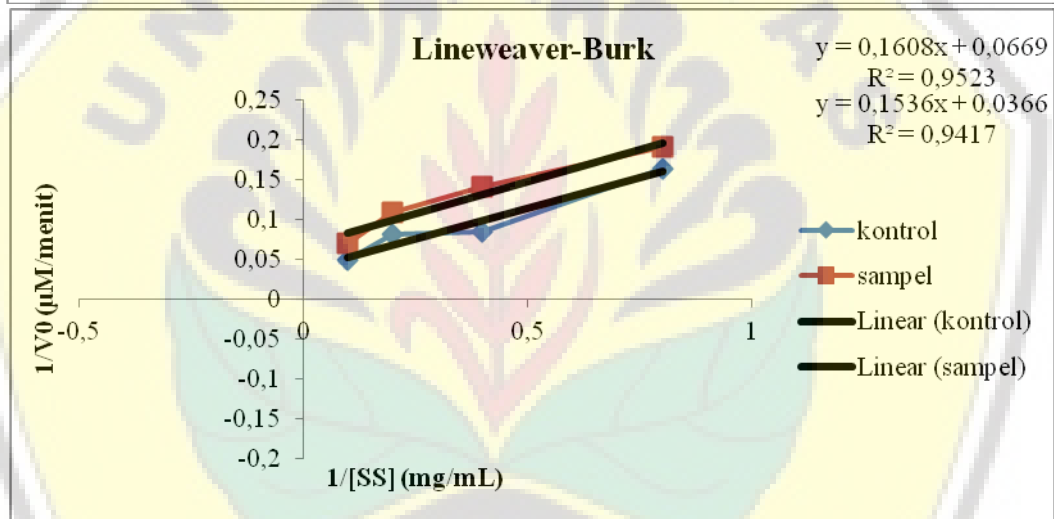
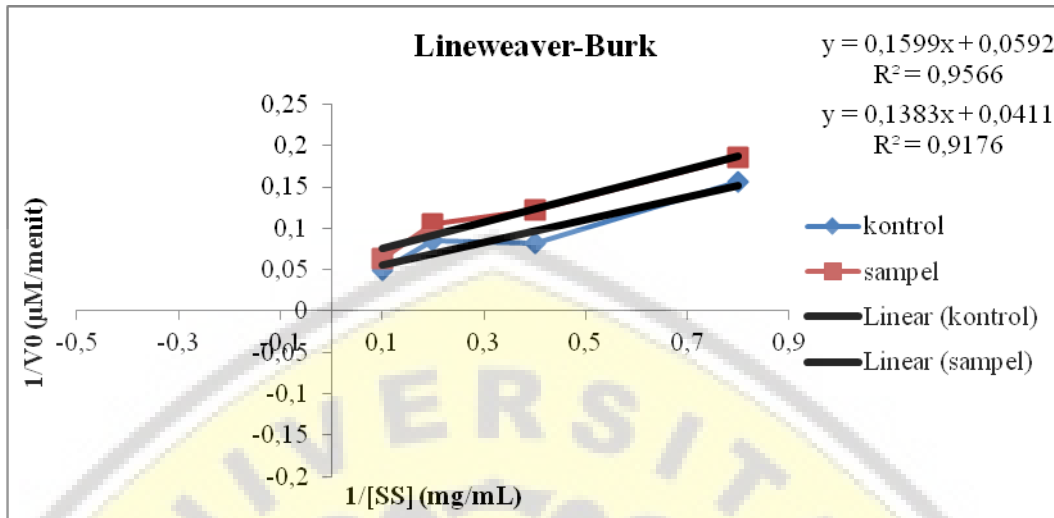


7. Penentuan K_M dan V_{maks} Menggunakan Parameter Kinetika Michaelis Menten

Nilai V₀ = slope dari persamaan linear

[SS]	Persamaan Linear				V ₀	
	%	mg/mL	C	S	C	S
1	10	y = 20,115x + 7,0833	y = 15,767x + 67,083	20,115	15,767	
		y = 20,55x + 7,0833	y = 14,321x + 63,125	20,55	14,321	
		y = 19,65 + 9,1667	y = 15,051x + 70,208	19,65	15,051	
0,5	5	y = 11,848x + 2,5	y = 9,522x + 17,917	11,848	9,522	
		y = 12,367x + 1,6667	y = 9,2452x + 7,0833	12,367	9,2452	
		y = 11,987x + 9,5833	y = 9,7373x + 9,375	11,987	9,7373	
0,25	2,5	y = 12,189x + 30,208	y = 8,1371x + 29,792	12,189	8,1371	
		y = 11,954x + 23,958	y = 7,1105x + 28,125	11,954	7,1105	
		y = 12,141x + 31,042	y = 6,9022x + 26,25	12,141	6,9022	
0,125	1,25	y = 6,4251x + 9,1667	y = 5,3986x + 5	6,4251	5,3986	
		y = 6,1051x + 11,25	y = 5,2566x + 6,0417	6,1051	5,2566	
		y = 6,5731x + 10,208	y = 5,4348x + 10	6,5731	5,4348	

1/[SS] mg/mL	1/V ₀ C (μM/menit)			1/V ₀ S (μM/menit)		
	Pengulangan I	Pengulangan II	Pengulangan III	Pengulangan I	Pengulangan II	Pengulangan III
0,1	0,049714	0,048662	0,050891	0,063424	0,069828	0,066441
0,2	0,084402	0,08086	0,083424	0,10501	0,108164	0,102698
0,4	0,082041	0,083654	0,082366	0,122894	0,140637	0,144881
0,8	0,15564	0,163797	0,152135	0,185233	0,190237	0,183999



Persamaan Lineweaver-Burk

$$y = mx + C$$

$$V_{\text{maks}} = \frac{1}{C} (\mu\text{M}/\text{menit})$$

$$K_M = m \times V_{\text{maks}} (\text{mg}/\text{mL})$$

	V_{maks} ($\mu\text{M}/\text{menit}$)	rata rata	SD	K_M (mg/mL)	rata rata	SD
Kontrol	24,3309			3,3650		
	27,3224	25,0609	1,9990	4,1967	3,5606	0,5644
	23,52941			3,12		
Sampel	16,89189			2,7010		
	14,94768	15,7335	1,0242	2,4036	2,5131	0,1635
	15,36098			2,4347		

8. Pembuatan Larutan Enzim

8.1 Konsentrasi Enzim

Satuan 1 U pada padatan enzim α -amilase yang digunakan dalam penelitian ini didefinisikan sebagai 1,0 mg maltosa yang dihasilkan dari pemecahan amilum dalam waktu 3 menit pada pH 6,9 dan suhu 20°C.

$$\begin{aligned}
 [\text{enzim}] &= 21,6 \text{ U}/\text{mg padatan} \\
 &= \frac{21,6 \text{ mg maltosa} / 3 \text{ menit}}{\text{mg padatan}} \\
 &= \frac{7,2 \text{ mg maltosa} / \text{menit}}{\text{mg padatan}}
 \end{aligned}$$

Konversi satuan mg ke μmol

$$\begin{aligned}
 &= \frac{7,2 \cdot 10^{-3} \text{ g maltosa} / \text{menit}}{342,3 \text{ g/mol} \cdot \text{mg padatan}} \\
 &= \frac{0,021 \cdot 10^{-3} \text{ mol maltosa} / \text{menit}}{\text{mg padatan}} \times 10^6 \mu\text{mol} / \text{mol} \\
 &= \frac{21,0 \mu\text{mol} / \text{menit}}{\text{mg padatan}} \\
 &= 21,0 \text{ U}/\text{mg padatan}
 \end{aligned}$$

8.2 Pembuatan enzim α -amilase 0,7 U/mL

$$\begin{aligned} [0,5 \text{ mg padatan enzim}] &= \frac{0,5 \text{ mg} \times 21,0 \text{ U}}{1 \text{ mg}} \\ &= 10,5 \text{ U} \end{aligned}$$

0,5 mg padatan enzim dilarutkan dalam 2 mL buffer fosfat 0,02 M pH 6,9

$$\frac{10,5 \text{ U}}{2 \text{ mL}} = 5,25 \text{ U/mL}$$

Pengenceran:

$$\begin{aligned} M_1 \cdot V_1 &= M_2 \cdot V_2 \\ 5,25 \text{ U/mL} \cdot V_1 &= 0,7 \text{ U/mL} \cdot 2000 \mu\text{L} \\ V_1 &= 266,7 \mu\text{L} \end{aligned}$$

9. Perhitungan Aktivitas Enzim pada Penentuan % inhibisi per-Fraksi

$$\begin{aligned} \text{Konsentrasi produk} &= \text{rata rata } [C^+ - C^-] \\ &= 990,83 \mu\text{M} \end{aligned}$$

Konversi satuan μM ke mg/mL

$$990,83 \mu\text{M} = 990,83 \times 10^{-6} \text{ mol/L}$$

$$\begin{aligned} \text{Molar produk} \times \text{Mr maltosa} &= 990,83 \times 10^{-6} \text{ mol/L} \times 342,3 \text{ gram/mol} \\ &= 0,339 \text{ gram/L} = 0,339 \text{ mg/mL} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Aktivitas enzim} &= \frac{\text{konsentrasi produk} \times \text{FP} \times \frac{V_{\text{total}}}{V_{\text{enzim}}}}{\text{Mr maltosa} \times \text{waktu inkubasi}} \\ &= \frac{0,339 \text{ mg/mL} \times \frac{960 \mu\text{L}}{240 \mu\text{L}} \times \frac{160 \mu\text{L}}{54 \mu\text{L}}}{342,3 \text{ g/mol} \times 15 \text{ menit}} \\ &= \frac{0,339 \text{ mg/mL} \times \frac{960 \mu\text{L}}{240 \mu\text{L}} \times \frac{160 \mu\text{L}}{54 \mu\text{L}} \times 10^{-3} \text{ g/mg}}{342,3 \text{ g/mol} \times 15 \text{ menit}} \\ &= 7,825 \times 10^{-7} \text{ mol/mL.menit} \\ &= 7,825 \times 10^{-7} \text{ mol/mL.menit} \times 10^6 \mu\text{mol/mol} \\ &= 0,783 \mu\text{mol/ menit.mL} = 0,783 \text{ U/mL} \end{aligned}$$

10. Lembar Determinasi dan Validasi Tanaman

Kode Dokumen : FR-AUK-064 Revisi : 0

KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
POLITEKNIK NEGERI JEMBER
LABORATORIUM TANAMAN
Jalan Mastrip Kotak Pos 164 Jember - 68101 Telp. (0331) 333532 - 333534 Fax. (0331) 333531
E-mail : Polije@polije.ac.id Web Site : <http://www.Polije.ac.id>

SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI TANAMAN

No: 28/PL17.3.1.02/LL/2019

Menindaklanjuti surat dari Wakil Dekan I Fakultas MIPA (Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam) Universitas Jember No: 4161/UN.25.1.9/PI/2019 perihal Permohonan Identifikasi Tanaman dan berdasarkan hasil pengamatan pada spesimen tumbuhan yang dikirimkan ke Laboratorium Tanaman, Jurusan Produksi Pertanian, Politeknik Negeri Jember oleh:

Nama : Ratna Kusuma Dewi
NIM : 151810301051
Jur/Fak/PT : Fakultas MIPA/ Universitas Jember

maka dapat disampaikan hasilnya bahwa spesimen tersebut di bawah ini (terlampir) adalah:
Kingdom/Regnum: Plantae; Devisio: Spermatophyta; Sub Devisio: Magnoliophyta; Kelas: Magnoliopsida; Ordo: Solanales; Famili: Solanaceae; Genus: Solanum; Spesies: Solanum betaceum Cav

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk digunakan sebagaimana mestinya.

Jember, 14 Oktober 2019

Lili Mastuti, MP
NIDN: 195808201987032001



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
POLITEKNIK NEGERI JEMBER
LABORATORIUM TANAMAN
 Jalan Mastrip Kotak Pos 164 Jember - 68101 Telp. (0331) 333532 - 333534 Fax.(0331) 333531
 E-mail : Polije@polije.ac.id Web Site : <http://www.Polije.ac.id>

Kode Dokumen : FR-AUK-064
 Revisi : 0

Lampiran : 1 Berkas
 Perihal : Identifikasi Kalsifikasi dan Morfologi Tanaman Terong Belanda sebagai Kajian Skripsi
 Nama Peneliti : Ratna Kusuma Dewi (Mahasiswa MIPA Univ. Negeri Jember)
 Judul Skripsi: Uji Aktivitas Buah Terong Belanda (*Solanum betaceum* Cav) sebagai Indikator Alfa Amilase.
 PLP yang Mengidentifikasi : Ujang Tri Cahyono, SP.MM

Hasil Identifikasi Klasifikasi dan Morfologi Terong Belanda

Klasifikasi Tanaman Terong Belanda :

Kingdom/Regnum : Plantae
 Divisio : Spermatophyta
 Sub Divisio : Magnoliophyta
 Kelas : Magnoliopsida (Dicotyledoneae)
 Ordo : Solanales
 Famili : Solanaceae
 Genus : Solanum
 Spesies : *Solanum betaceum* Cav

Kunci Determinasi Tanaman Terong Belanda

Kunci Determinasi	Keterangan
1b, 2b, 3b, 4b, 6b, 7b, 9b, 10b, 11b, 12b, 13b, 14a, 15a, 109b, 119b, 120b, 128b, 129b, 135b, 136b, 139b, 140b, 142b, 143b, 146b, 154b, 155b, 156b, 162b, 163b, 167b, 169b, 171b, 177b, 179b, 187b, 189b, 190b, 191a	1b Tumbuh-tumbuhan dengan bunga sejati. Sedikit-dikitnya dengan benang sari dan atau putik. Tumbuh-tumbuhan berbunga.....2
(111) Family Solanaceae , 1b, 3b, 5b, 6a (6) genus: <i>Solanum</i> , spesies: <i>Solanum betaceum</i> Cav	2b Tidak ada alat pembelit. Tumbuh-tumbuhan dapat juga memanjat atau membelit (dengan batang,poros daun atau tangkai daun).....3
	3b Daun tidak berbentuk jarum atau tidak terdapat dalam berkas tersebut diatas.....4
	4b Tumbuh-tumbuhan tidak menyerupai bangsa rumput. Daun dan atau bunga berlainan dengan yang diterangkan diatas.....6
	6b Dengan daun yang jelas.....7
	7b Bukan tumbuh-tumbuhan bangsa palem atau yang

	menyerupainya.....9
9b	Tumbuh-tumbuhan tidak memanjat dan tidak membelit.....10
10b	Daun tidak tersusun demikian rapat menjadi roset.....11
11b	Tidak demikian. Ibu tulang daun dapat dibedakan jelas dari jaring urat daun dan dari anak cabang tulang daun yang kesamping dan serong keatas.....12
12b	Tidak semua daun dalam karangan. Atau tidak ada daun sama sekali.....13
13b	Tumbuh-tumbuhan berbentuk lain.....14
14a	Daun tersebar, kadang-kadang sebagian berhadapan ...15
15a	Daun tunggal, tetapi tidak berbagi menyirip rangkap sampai bercangap menyirip rangkap (golongan 8)109
109b	Tanaman daratan (atau tumbuh) di antara tanaman bakau.....119
119b	Tanaman lain.....120
120b	Tanaman tanpa getah.....128
128b	Daun lain. Bukan rumput-rumputan yang merayap, dan mudah berakar.....129
129b	Tidak ada upih daun yang jelas, paling-paling pangkal daun sedikit atau banyak mengelilingi batang.....135
135b	Daun tidak berbentuk kupu-kupu berlekuk dua.....136
136b	Susunan tulang daun menjari atau menyirip.....139
139b	Tidak ada bekas berbentuk cincin yang melingkar pada cabang.....140
140b	Kelopak tanpa kelenjar demikian.....142
142b	Cabang tidak demikian.....143
143b	Sisik demikian tidak ada.....146
146b	Tanaman tidak berduri atau tidak berduri tempel (buah diabaikan).....154
154b	Bunga tidak dalam bongkol dengan daun pembalut sedemikian.....155
155b	Bunga tidak tertanam pada tangkai daun.....156
156b	Bakal buah menumpang.....162

162b	Ujung tangkai daun tanpa kelenjar.....163
163b	Rumput-rumputan, atau sedikit-tidaknya bukan bunga yang berbilangan 3.....167
167b	Bunga tidak demikian.....169
169b	Bunga tidak bertaji.....171
171b	Tangkai sari lepas, kepala sari kadang-kadang berlekatan.....177
177b	Bunga berkelamin dua.....179
179b	Benang sari 1, 2 atau 3 kali sebanyak daun mahkota atau taju mahkota.....187
187b	Daun mahkota berlekatan, bagian bawah berbentuk tabung atau cincin.....189
189b	Bunga lebih besar atau tidak dalam bulir seperti itu.....190
190b	Bunga lebih kecil.....191
191a	Mahkota berbentuk bintang (berbentuk roda atau piring dengan tabung yang pendek111. Solanaceae
Fam. 111. Solanaceae	
Herba atau perdu, jarang pohon. Daun tersebar atau berpasangan (tetapi tidak berhadapan), tunggal atau menyirip. Bunga beraturan, kadang-kadang zygomorph, berkelamin 2, kadang-kadang berkelamin 1, kebanyakan berbilangan 5, dengan kelopak dan mahkota yang berdaun lekat; mahkota berbentuk corong bentuk terompet, bentuk piring atau bentuk roda; benang sari 5, jarang 4; kepala sari sering menggantung atau saling menutup, beruang 2; bakal buah menumpang, kebanyakan beruang 2; bakal biji banyak tiap ruangnya; tangkai putik 1, bentuk benang. Buah buni atau buah kotak.	
1b	Bunga lain, jelas panjang kurang dari 10 cm.....3
3b	Tabung mahkota pendek, tidak lebih panjang atau kurang panjang dari pada taju mahkota atau tepian, kebanyakan kurang dari 1,5 cm panjangnya.....5
5b	Kelopak buah tidak menggelembung, buah tidak menutup.....6
6a	Kepala sari berhubungan membentuk tabung, hanya pada bagian terujung lepas. Mahkota kuning.....6. <i>Solanum</i>
Spesies: <i>Solanum betaceum</i> Cav	