



**UJI AKTIVITAS INHIBITOR α -GLUKOSIDASE
EKSTRAK ETANOL 70% DAUN KENITU (*Chrysophyllum cainito* L.)**

SKRIPSI

Oleh

**Fatimatuz Zuhro
NIM 112210101053**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS JEMBER
2015**



**UJI AKTIVITAS INHIBITOR α -GLUKOSIDASE
EKSTRAK ETANOL 70% DAUN KENITU (*Chrysophyllum cainito* L.)**

SKRIPSI

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

Oleh

Fatimatuz Zuhro
NIM 112210101053

FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS JEMBER
2015

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Ayahanda Umar Sholeh (Alm.) dan Ibunda Nurul Istiqomah tercinta;
2. Kakak-kakak penulis, Mas Munif, Mbak Dewi, Mas Dayat, Mbak Farida, adik penulis, Linda dan keponakan penulis Khidir, Raja, Kinar, Raihan, dan Rafa tersayang;
3. Guru-guru penulis sejak TK hingga Perguruan Tinggi terhormat;
4. Almamater Fakultas Farmasi Universitas Jember.

MOTTO

“Jadikanlah sabar dan sholat sebagai penolongmu. Dan sesungguhnya yang demikian itu sungguh berat, kecuali bagi orang-orang yang khusyu”

(Q.S. Al-Baqarah: 45)¹

“Tidak ada yang berputus asa dari rahmat Tuhan-nya, kecuali orang yang sesat”

(Q.S. Al-Hijr: 56)¹

“Bukan peluang yang menciptakan kemauan, tetapi kemauanlah yang menciptakan peluang”

(John C. Maxwell)²

¹ Kementerian Agama Republik Indonesia. 2010. *Syaamil Quran Terjemah Tafsir per Kata*. Bandung: Syaamil Quran.

² John C. Maxwell dalam Cahyo, N. 2009. *100% Kutipan Kata Motivasi Superdahsyat*. Yogyakarta: Pustaka Diantara.

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

nama : Fatimatuz Zuhro

NIM : 112210101053

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul: *Uji Aktivitas Inhibitor α -Glukosidase Ekstrak Etanol 70% Daun Kenitu (Chrysophyllum Cainito L.)* adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali jika dalam pengutipan substansi disebutkan sumbernya, dan belum pernah diajukan pada institusi manapun, serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa adanya tekanan dan paksaan dari pihak mana pun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 28 September 2015

Yang menyatakan,

(Fatimatuz Zuhro)

NIM 112210101053

SKRIPSI

**UJI AKTIVITAS INHIBITOR α -GLUKOSIDASE
EKSTRAK ETANOL 70% DAUN KENITU (*Chrysophyllum cainito* L.)**

Oleh

Fatimatuz Zuhro
NIM 112210101053

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Endah Puspitasari, S.Farm., M.Sc., Apt.
Dosen Pembimbing Anggota : Siti Muslichah, S.Si., M.Sc., Apt.

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Uji Aktivitas Inhibitor α -Glukosidase Ekstrak Etanol 70% Daun Kenitu (*Chrysophyllum cainito* L.)” telah diuji dan disahkan pada:

hari, tanggal : Senin, 28 September 2015

tempat : Fakultas Farmasi Universitas Jember

Tim Pembimbing

Pembimbing Utama,



Endah Puspitasari, S.Farm., M.Sc., Apt.
NIP 198107232006042002

Pembimbing Anggota,



Siti Muslichah, S.Si., M.Sc., Apt.
NIP 197305132005012001

Tim Penguji

Penguji I,



Ema Rachmawati, S.Farm., M.Sc., Apt.
NIP 198403082008012003

Penguji II,



Prof. Drs. Bambang K., M.Sc., Ph.D.
NIP 196902011994031062

Mengesahkan
Dekan,



Lesty Wulandari, S.Si., M.Farm., Apt.
NIP 197604142002122001

RINGKASAN

Uji Aktivitas Inhibitor α -Glukosidase Ekstrak Etanol 70% Daun Kenitu (*Chrysophyllum cainito* L.); Fatimatuz Zuhro, 112210101053; 2015: 80 halaman; Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Penderita Diabetes Melitus (DM) selalu meningkat seiring dengan meningkatnya tingkat kemakmuran dan perubahan gaya hidup. DM merupakan suatu kelompok penyakit metabolik dengan karakteristik hiperglikemia yang terjadi karena kelainan sekresi insulin, kerja insulin, atau keduanya. Salah satu golongan obat antidiabetes adalah inhibitor α -glukosidase. α -glukosidase merupakan enzim yang berperan dalam pemecahan oligosakarida menjadi monosakarida seperti glukosa. Inhibisi kerja enzim ini secara efektif dapat mengurangi peningkatan kadar glukosa.

Daun kenitu (*Chrysophyllum cainito* L.) dipercaya oleh suku Aboudé-Mandéké, Afrika dapat memberikan manfaat sebagai antidiabetes. Ekstrak air daun kenitu terbukti memberikan aktivitas hipoglikemik secara *in vivo*, namun mekanisme molekuler yang memberikan aktivitas tersebut belum jelas. Kenitu banyak terdapat di Pulau Jawa, salah satunya di Daerah Jember dengan beberapa macam varian yang dapat dibedakan dari daun dan buahnya, yaitu bulat kecil (BK), bulat besar (BB), hijau lonjong (HL), dan merah bulat (MB). Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas inhibitor α -glukosidase ekstrak etanol 70% daun kenitu varian BK, BB, HL, dan MB dan mengidentifikasi golongan senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak tersebut.

Jenis penelitian ini adalah *experimental laboratories* yang dilakukan melalui beberapa tahap, yaitu ekstraksi daun kenitu dengan pelarut etanol 70% secara ultrasonikasi, uji pendahuluan reaksi enzimatis, uji aktivitas inhibitor α -glukosidase (dari *Saccharomyces cerevisiae*) menggunakan *ELISA reader*, dan skrining fitokimia. Hasil uji aktivitas inhibitor α -glukosidase ditunjukkan dengan nilai IC_{50} yang dihitung melalui persamaan regresi linier antara konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$) vs inhibisi (%). Nilai

IC₅₀ ekstrak daun kenitu varian BK, BB, HL, dan MB berturut-turut adalah $5,476 \pm 0,039$; $4,869 \pm 0,018$; $9,465 \pm 0,012$; dan $11,836 \pm 0,048$ $\mu\text{g/mL}$. Sedangkan nilai IC₅₀ akarbose sebagai standar adalah $6,475 \pm 65$ $\mu\text{g/mL}$. Jika nilai IC₅₀ semakin kecil, maka aktivitas inhibitor α -glukosidase semakin besar. Jadi, dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol 70% daun kenitu varian BB memiliki aktivitas inhibitor α -glukosidase terbesar. Hasil penapisan fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak etanol 70% daun kenitu semua varian mengandung golongan senyawa saponin, triterpenoid, flavonoid dan fenolik, namun tidak mengandung alkaloid dan steroid.

PRAKATA

Puji syukur ke hadirat Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul *Uji Aktivitas Inhibitor α -Glukosidase Ekstrak Etanol 70% Daun Kenitu (*Chrysophyllum cainito* L.)*. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Program Studi Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak, oleh karena itu penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih kepada:

1. Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember, Ibu Lestyo Wulandari, S.Si., M.Farm., Apt., atas kesempatan yang diberikan kepada penulis untuk menyelesaikan skripsi ini;
2. Ibu Endah Puspitasari, S.Farm., M.Sc., Apt., selaku dosen pembimbing utama dan Ibu Siti Muslichah, S.Si., M.Sc., Apt., selaku dosen pembimbing anggota serta Bapak Moch. Amrun Hidayat, S.Si., M.Farm., Apt., yang telah meluangkan waktu, pikiran, tenaga dan perhatiannya dalam membimbing penulis hingga terselesaikannya skripsi ini;
3. Ibu Ema Rachmawati, S.Farm., M.Farm., Apt. dan Bapak Prof. Drs. Bambang Kuswandi, M.Sc., Ph.D., selaku dosen penguji yang banyak memberikan bantuan, kritik, dan saran yang membangun;
4. Ibu Yuni Retnaningtyas, S.Si., M.Si., Apt., selaku dosen pembimbing akademik, atas perhatian, saran dan semangat yang diberikan kepada penulis;
5. Bapak Umar Sholeh (Alm.) dan Ibu Nurul Istiqomah selaku kedua orang tua penulis atas doa, cinta, dan kasih sayang yang tiada henti diberikan kepada penulis dengan tulus;
6. Saudara penulis, Mas Munif, Mbak Dewi, Mas Dayat, Mbak Farida, Mbak Ima, Mas Nino, Mas Edwin serta adik Linda tersayang atas doa, kasih sayang, motivasi, kritik, dan saran kepada penulis;

7. Keponakan penulis tercinta, Khidir, Raja, Kinar, Raihan, dan Rafa yang selalu membuat hari-hari penulis lebih berwarna dan ceria disamping kejenuhan saat mengerjakan skripsi ini;
8. Geng ‘Star Apple’, Liza, Lyas, Iik, Mbak Siti, dan Mas Sofyan atas semangat dan kerjasamanya selama ini;
9. Bu Widi, Mbak Anggra, Mbak Hani, Bu Wayan, Bu Itus, Mbak Titin, Mbak Dini, dan Mbak Indri selaku teknisi laboratorium yang banyak membantu penulis dalam melakukan penelitian;
10. Sahabat penulis, Zuhro dan Rizky terimakasih atas nyanyian-nyanyian indahnnya yang membuat penulis untuk segera menyelesaikan tugas akhir ini;
11. Teman-teman maba, Sendi, Mely, Yun, Mamae, Ajeng, dan Tintine, atas kebersamaan, kritik, dan nasihat yang diberikan kepada penulis;
12. Teman-teman seperjuangan penelitian di Biologi, Estika, Elisa, Tiwi, Pipit, Risty, dan Lintang A., atas bantuan, dukungan dan kerjasamanya;
13. Teman-teman kos, Suwita, Enon, Husnul, Fath, Fiona, Yevie, Fia, dan Wati atas kebersamaan, canda tawa, dan motivasinya;
14. Keluarga ASMEF Fakultas Farmasi Universitas Jember yang telah memberikan ilmu, pengalaman, inspirasi, kerjasama, dan motivasinya;
15. Keluarga KKN Desa Sumpersalak, Kecamatan Ledokombo, Dini, Dicky, Ernik, Auliza, Silvy, Syofi, Mas Unggul, Rendy, dan Mas Novan, atas kebersamaan dan semangat yang diberikan kepada penulis;
16. Serta semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu, atas bantuan, dukungan, dan inspirasi baik langsung maupun tidak langsung hingga terselesaikannya skripsi ini.

Penulis juga menerima segala kritik dan saran dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini. Akhirnya penulis berharap, semoga skripsi ini bermanfaat.

Jember, 28 September 2015

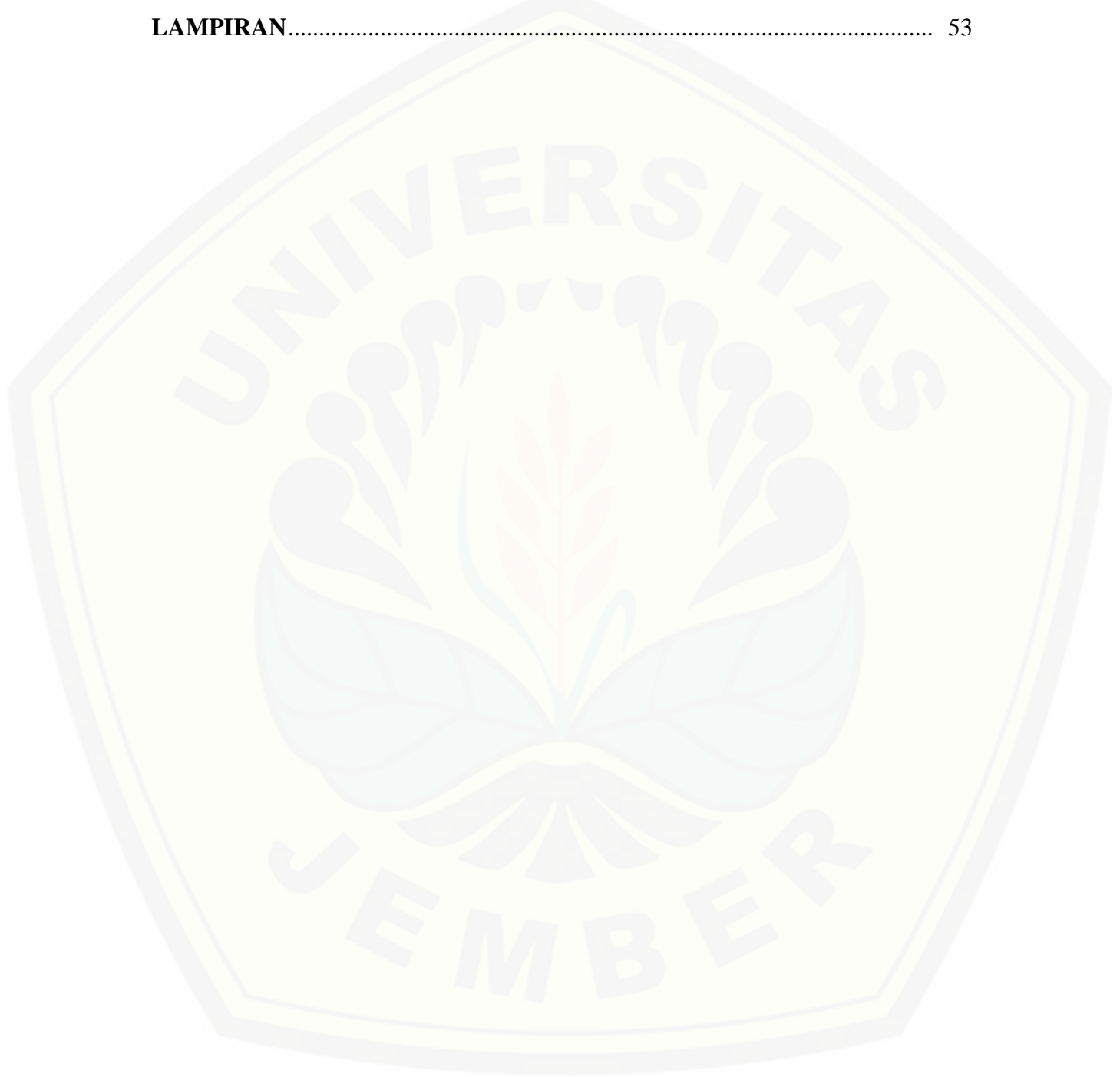
Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMBUTAN	i
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
HALAMAN MOTTO	iv
HALAMAN PERNYATAAN	v
HALAMAN PEMBIMBINGAN	vi
HALAMAN PENGESAHAN	vii
RINGKASAN	viii
PRAKATA	x
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
DAFTAR SINGKATAN	xviii
DAFTAR RUMUS	xix
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Perumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Manfaat Penelitian	4
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 <i>Cryosophyllum cainito</i> L.	5
2.1.1 Klasifikasi	5
2.1.2 Morfologi	6
2.1.3 Kandungan Kimia dan Manfaat	7
2.2 Diabetes Mellitus	8

2.2.1 Definisi.....	8
2.2.2 Klasifikasi	8
2.2.3 Penatalaksanaan	10
2.3 Enzim α-Glukosidase	12
2.4 Inhibitor α-Glukosidase	14
2.5 Uji Aktivitas Inhibitor α-Glukosidase.....	16
BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN	18
3.1 Jenis Penelitian.....	18
3.2 Lokasi dan Waktu Penelitian.....	19
3.3 Variabel Penelitian.....	20
3.4 Definisi Operasional.....	20
3.5 Bahan dan Alat Penelitian	20
3.5.1 Bahan-bahan Penelitian	20
3.5.2 Alat-alat Penelitian	21
3.6 Prosedur Penelitian.....	21
3.6.1 Penyiapan Simplisia.....	21
3.6.2 Ekstraksi.....	21
3.6.3 Uji Pendahuluan Reaksi Enzimatis.....	22
3.6.4 Uji Aktivitas Inhibitor α -Glukosidase	24
3.7 Skrining Fitokimia	27
3.8 Analisis Data.....	29
3.9 Skema Prosedur Penelitian	30
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	31
4.1 Ekstraksi	31
4.2 Uji Pendahuluan Reaksi Enzimatis.....	31
4.3 Uji Aktivitas Inhibitor α-Glukosidase.....	35
4.4 Skrining Fitokimia	38
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN	46
5.1 Kesimpulan.....	46

5.2 Saran	46
DAFTAR PUSTAKA	47
LAMPIRAN	53



DAFTAR TABEL

	Halaman
2.1 Penggolongan sediaan insulin.....	12
2.2 Penggolongan obat hiperglikemik oral	13
3.1 Prosedur uji aktivitas inhibitor α -glukosidase.....	26
4.1 Rendemen hasil ekstraksi daun kenitu	31
4.2 Hasil skrining golongan senyawa metabolit sekunder dalam ekstrak etanol 70% daun kenitu varian BK, BB, HL dan MB	42
4.3 Hasil IC ₅₀ inhibitor α -glukosidase ekstrak etanol 70% daun kenitu, fraksi etanol daun kenitu dan fraksi etil asetat daun kenitu	45

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Daun kenitu tampak depan dan belakang.....	6
2.2 Berbagai varian buah kenitu	7
2.3 Mekanisme reaksi pemecahan karbohidrat oleh enzim pencernaan	15
2.4 Mekanisme akardose dalam menghambat enzim α -glukosidase secara kompetitif.....	16
2.5 Reaksi enzimatis α -glukosidase dan p-nitrofenil- α -D-glukopiranosida	17
3.1 Rancangan penelitian	18
3.2 Skema Prosedur Penelitian.....	30
4.1 Kurva <i>scanning</i> panjang gelombang 200-600 nm	32
4.2 Kurva hasil optimasi waktu inkubasi	33
4.3 Kurva hasil optimasi konsentrasi enzim	34
4.4 Kurva hasil optimasi konsentrasi substrat.....	34
4.5 Kurva inhibisi α -glukosidase daun kenitu.....	36
4.6 Grafik IC ₅₀ aktivitas inhibitor α -glukosidase dari empat varian daun kenitu.....	37
4.7 Hasil skrining fitokimia senyawa alkaloid.....	39
4.8 Hasil skrining fitokimia senyawa alkaloid metode KLT	40
4.9 Hasil skrining fitokimia senyawa saponin	40
4.10 Hasil skrining fitokimia senyawa triterpenoid	41
4.11 Hasil skrining fitokimia senyawa flavonoid metode KLT	41
4.12 Hasil skrining fitokimia senyawa flavonoid	42
4.13 Hasil skrining fitokimia senyawa fenolik	42
4.14 Senyawa geraldone (golongan flavonoid) menempati sisi aktif enzim α -glukosidase	43
4.15 Struktur senyawa flavonoid	43
4.16 Polifenol menghambat enzim α -glukosidase, GLUT2, dan SGLT1	44

DAFTAR LAMPIRAN

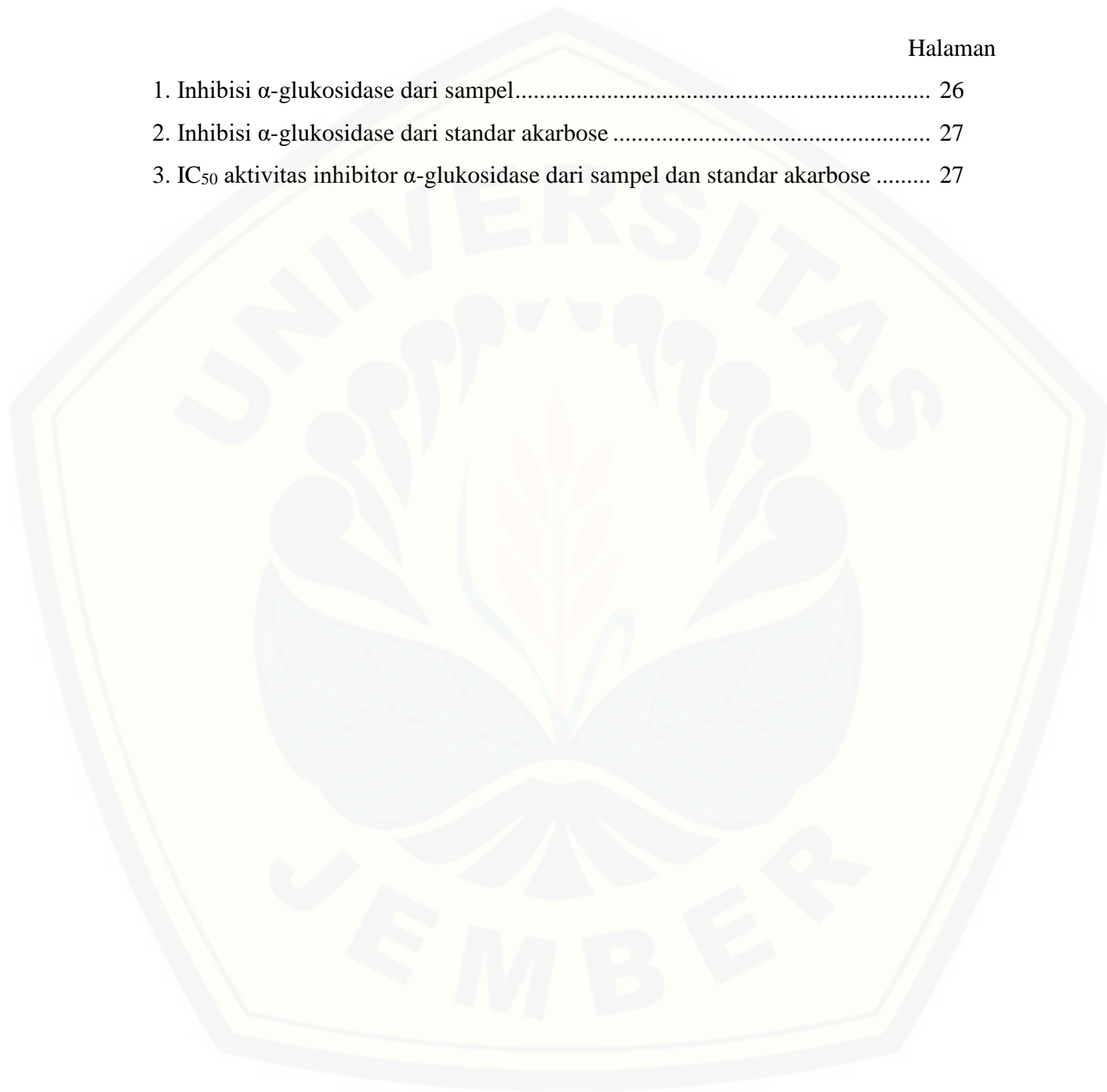
	Halaman
A. PERHITUNGAN PENYIAPAN BAHAN-BAHAN	53
A.1 Larutan Dapar	53
A.2 Larutan Substrat p-Nitrofenil-α-D-Glukopiranosida (PNPG)	53
A.3 Larutan Sampel	54
A.4 Pengenceran Larutan Enzim 0,5 U/mL	55
A.5 Larutan Akarbose	55
A.7 Massa Natrium Karbonat untuk 50 mL Larutan	56
A.8 Bobot Rendemen Ekstrak	56
B. DATA HASIL UJI PENDAHULUAN REAKSI ENZIMATIS	57
B.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum	57
B.2 Optimasi Waktu Inkubasi	61
B.3 Optimasi Konsentrasi Enzim	62
B.4 Optimasi Konsentrasi Substrat	63
C. DATA HASIL UJI AKTIVITAS INHIBITOR α-GLUKOSIDASE	64
C.1 Sampel Ekstrak Daun Kenitu Varian Bulat Kecil (BK)	64
C.2 Sampel Ekstrak Daun Kenitu Varian Bulat Besar (BB)	66
C.3 Sampel Ekstrak Daun Kenitu Varian Hijau Lonjong (HL)	68
C.4 Sampel Ekstrak Daun Kenitu Varian Merah Bulat (MB)	70
C.5 Kontrol Positif Standar Akarbose	72
D. DATA ANALISIS STATISTIK ONEWAY ANOVA-LSD EMPAT VARIAN DAUN KENITU	74
E. SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI TUMBUHAN KENITU	79

DAFTAR SINGKATAN

BK	Bulat Kecil
BB	Bulat Besar
DM	Diabetes Melitus
GLUT	<i>Glucose Transporter</i>
HL	Hijau Lonjong
MB	Merah Bulat
SGLT	<i>Sodium Glucose Transporter</i>
KLT	Kromatografi Lapis Tipis

DAFTAR RUMUS

	Halaman
1. Inhibisi α -glukosidase dari sampel.....	26
2. Inhibisi α -glukosidase dari standar akarbose	27
3. IC ₅₀ aktivitas inhibitor α -glukosidase dari sampel dan standar akarbose	27



BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penderita diabetes mellitus (DM) selalu meningkat seiring dengan meningkatnya tingkat kemakmuran dan perubahan gaya hidup. Data studi global menunjukkan bahwa jumlah penderita DM pada tahun 2014 telah mencapai 387 juta orang. Jumlah ini diperkirakan akan meningkat menjadi 592 juta pada tahun 2035. Indonesia merupakan negara urutan ke-5 dengan jumlah penderita DM tertinggi, yaitu 9,116 juta orang di bawah China, India, USA, dan Brazil (IDF, 2014).

DM adalah suatu kelompok penyakit metabolik dengan karakteristik hiperglikemia yang terjadi karena kelainan sekresi insulin, kerja insulin, atau keduanya. Karakteristik hiperglikemia ditandai dengan tingginya kadar glukosa dalam darah (ADA, 2014). Pada keadaan normal, karbohidrat yang masuk dalam tubuh dengan bentuk kompleks (polisakarida) dipecah oleh enzim-enzim pencernaan, yaitu enzim α -amilase menjadi bentuk yang lebih sederhana (gula-gula pereduksi seperti maltosa) (Guzman-Maldonado dan Paredes-Lopez, 1995). Hasil pemecahan oleh enzim α -amilase akan dipecah kembali oleh enzim α -glukosidase pada dinding usus halus menjadi bentuk yang lebih sederhana yaitu monosakarida seperti glukosa, fruktosa (Sim *et al.*, 2010). Bentuk monosakarida dapat diabsorpsi masuk dalam pembuluh darah dan diedarkan ke seluruh sel oleh transporter melalui rangsangan insulin untuk diubah menjadi energi (Scheepers *et al.*, 2004). Penderita DM mengalami kelainan sekresi insulin, kerja insulin atau keduanya, sehingga glukosa yang terbentuk tidak dapat masuk ke dalam sel dan sel akan kekurangan energi. Keadaan ini direspon oleh tubuh dengan adanya *feedback* berupa konsumsi karbohidrat dalam jumlah banyak. Akibatnya, kadar glukosa dalam darah semakin tinggi karena aktivitas enzim pemecah karbohidrat dan transporter pembawa glukosa ke dalam darah meningkat (Dyer *et al.*, 2002). Oleh karena itu, pengembangan obat

inhibitor enzim α -glukosidase menjadi target yang menarik sebagai terapi pengobatan DM.

Salah satu golongan obat antidiabetes oral adalah inhibitor katabolisme karbohidrat, yaitu inhibitor α -glukosidase. Inhibitor α -glukosidase bekerja menghambat enzim α -glukosidase yang terdapat pada dinding usus halus. Inhibisi kerja enzim ini secara efektif dapat mengurangi pencernaan karbohidrat kompleks sehingga memperlambat absorpsi glukosa ke dalam darah dan mengurangi peningkatan kadar glukosa setelah makan pada penderita DM. Kerja enzim ini tidak mempengaruhi sekresi insulin sehingga tidak menyebabkan efek samping hipoglikemik (Depkes RI, 2005).

Pengobatan DM merupakan pengobatan menahun dan seumur hidup. Pengobatan DM, seperti penggunaan obat antidiabetes oral dalam jangka waktu yang lama dapat menimbulkan efek samping yang tidak diinginkan, seperti perut kembung, diare, dan kram perut (Mycek *et al.*, 2001). Oleh karena itu, perlu dicari obat yang efektif dengan efek samping yang relatif rendah. Salah satu upaya dalam penanganan DM adalah dengan menggunakan tumbuhan sebagai obat alternatif (Pasaribu *et al.*, 2012).

Beberapa tumbuhan telah dilaporkan menunjukkan adanya aktivitas inhibitor α -glukosidase. Mataputun *et al.* (2013) melaporkan kulit batang tumbuhan matoa (*Pometia pinnata*. Spp) mampu menghambat aktivitas enzim α -glukosidase dari jaringan mukosa usus halus tikus jantan wistar. Berdasarkan hasil analisis fitokimia, diperkirakan komponen aktif utama yang menghambat enzim α -glukosidase adalah flavonoid. Selain itu, ekstrak buah *Cissus arnottiana* (Sama *et al.*, 2012), daun *Telfairia occidentalis* (Oboh *et al.*, 2012) dan rhizoma lengkuas (*Alpinia galanga*) (Heera *et al.*, 2014) juga dilaporkan sebagai antidiabetes dengan mekanisme inhibitor enzim α -glukosidase dan α -amilase. Golongan senyawa yang diduga memberikan aktivitas tersebut adalah polifenol.

Tanaman kenitu (*Star Apple*, *Chrysophyllum cainito* L.) famili Sapotaceae dipercaya dapat memberikan manfaat dalam pengobatan berbagai penyakit, salah

satunya sebagai antidiabetes oleh Suku Aboudé-Mandéké, Ivory Coast, Afrika (Koffi *et al.*, 2009^a). Ekstrak air daun kenitu dosis 2 g/kg BB terbukti memberikan aktivitas hipoglikemi pada kelinci yang diinduksi aloksan. Namun mekanisme molekuler yang memberikan aktivitas hipoglikemi belum jelas. Golongan senyawa metabolit sekunder dalam ekstrak air daun kenitu yang diduga memberikan aktivitas antidiabetes adalah alkaloid, sterol, dan triterpen (Koffi *et al.*, 2009^b).

Kenitu banyak terdapat di Pulau Jawa bagian hilir dan daerah pegunungan rendah (Heyne, 1987). Di Pulau Jawa, terdapat dua jenis kenitu (sawo durian) yang dapat dibedakan dari daun dan buahnya, yakni kenitu merah dan kenitu hijau. Berdasarkan hasil observasi tentang buah kenitu Jember, diketahui terdapat dua macam kenitu yaitu kenitu hijau (buah bentuk bulat kecil (BK), buah bentuk bulat besar (BB) dan buah bentuk lonjong (HL)) dan satu jenis kenitu merah (buah bentuk bulat (MB)) (Hidayat *et al.*, 2007).

Etanol merupakan pelarut universal yang dapat menarik hampir seluruh senyawa metabolit sekunder dalam tumbuhan, mudah menguap, tidak toksik, dan ekonomis (Depkes RI., 2000). Febrinda (2013) melaporkan bahwa aktivitas inhibitor α -glukosidase lebih besar pada ekstrak etanol umbi bawang dayak daripada ekstrak air umbi bawang dayak. Zulaikhah (2015) melaporkan bahwa ekstrak daun kenitu dengan pelarut etanol 70% memiliki total flavonoid paling tinggi daripada etanol 50% dan 96%. Total flavonoid merupakan salah satu golongan senyawa metabolit sekunder yang berperan penting dalam memberikan aktivitas inhibitor α -glukosidase (Tadera *et al.*, 2006). Berdasarkan latar belakang tersebut, peneliti ingin mengetahui aktivitas molekuler antidiabetes ekstrak etanol 70% daun kenitu beberapa varian di Jember sebagai inhibitor α -glukosidase.

1.2 Perumusan Masalah

Berdasarkan uraian sebelumnya, didapatkan rumusan masalah sebagai berikut:

1. Apakah ekstrak etanol 70% daun kenitu varian BK, BB, HL, dan MB mempunyai aktivitas inhibitor α -glukosidase?

2. Apakah terdapat perbedaan aktivitas inhibitor α -glukosidase pada ekstrak etanol 70% daun kenitu varian BK, BB, HL, dan MB?
3. Golongan senyawa apakah yang terdapat dalam ekstrak etanol 70% daun kenitu varian BK, BB, HL, dan MB?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Untuk mengetahui aktivitas inhibitor α -glukosidase dari ekstrak etanol 70% daun kenitu varian BK, BB, HL, dan MB.
2. Untuk mengetahui perbedaan aktivitas inhibitor α -glukosidase dari ekstrak etanol 70% daun kenitu varian BK, BB, HL, dan MB.
3. Untuk mengetahui kandungan golongan senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam ekstrak etanol 70% daun kenitu varian BK, BB, HL, dan MB.

1.4 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat bahwa:

1. Penelitian ini dapat memberikan informasi mengenai aktivitas molekuler antidiabetes daun kenitu.
2. Meningkatkan nilai ekonomis daun kenitu yang selama ini belum pernah dimanfaatkan.
3. Menginspirasi peneliti lain untuk lebih menggali dan memanfaatkan sumber-sumber obat dari bahan alam.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Chrysophyllum cainito* L.

2.1.1 Klasifikasi

C. cainito umum dikenal sebagai *Star Apple* sedangkan di Indonesia dikenal dengan nama kenitu atau sawo ijo. Kenitu merupakan tumbuhan yang berasal dari Amerika Tengah. Kenitu tumbuh baik hanya di daerah tropis Amerika Tengah yaitu Florida Selatan (Morton, 1987).

Tanaman kenitu dibiakkan sebagai tanaman hias atau tanaman buah-buahan untuk dikonsumsi. Buah kenitu merupakan buah yang lembut, berair, menyegarkan, dan memiliki rasa enak. Akan tetapi, buah tersebut tidak laku dijual di tempat asalnya, Amerika Tengah (Heyne, 1987). Namun, di tempat lain tanaman kenitu bermanfaat dalam pengobatan berbagai penyakit (Morton, 1987).

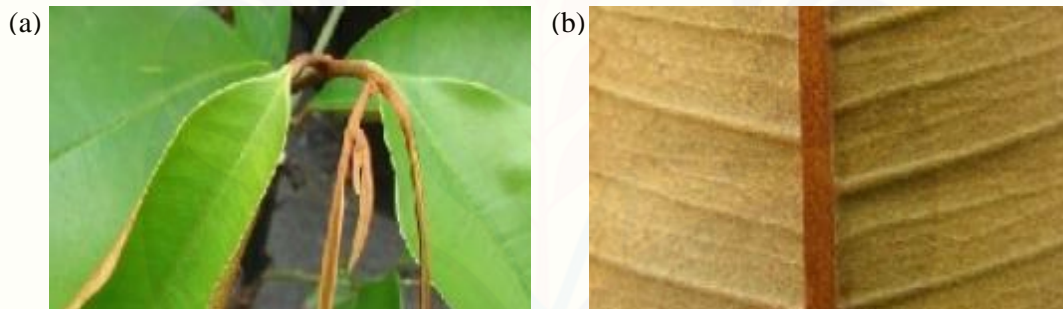
Klasifikasi dari kenitu adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Tracheobionta
Divisi	: Magnoliophyta
Subdivisi	: Spermatophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Subkelas	: Dilleniidae
Ordo	: Ebenales
Famili	: Sapotaceae
Genus	: <i>Chrysophyllum</i> L.
Spesies	: <i>Chrysophyllum cainito</i> L. (USDA, 2003).

2.1.2 Morfologi

Pohon kenitu tumbuh hingga ketinggian 15 m dengan diameter batang 60 cm. Umumnya batang lurus, silindris, permukaan kulit kasar, berwarna coklat, dan menghasilkan lateks putih bila dilukai. Ranting muda berwarna coklat kemerahan dan berbulu (Orwa *et al.*, 2009).

Daun kenitu oval atau lonjong dengan panjang 7,6-12,7 cm dan lebar 3,8-5,8 cm. Bagian depan daun mengkilap dan berwarna hijau tua sedangkan pada bagian belakang daun berwarna coklat keemasan dan berbulu (Gambar 2.1). Ujung daun runcing (*acutus*), pangkal meruncing (*acuminatus*), tepi rata, dan pertulangan menyirip (*pinnate*). Duduk daun berseling, bentuk lonjong hingga bundar telur terbalik dengan luas 3-6 x 5-16 cm. Tangkai daun memiliki panjang 0,6-1,7 cm, berwarna coklat kemerahan dan berbulu (Orwa *et al.*, 2009).

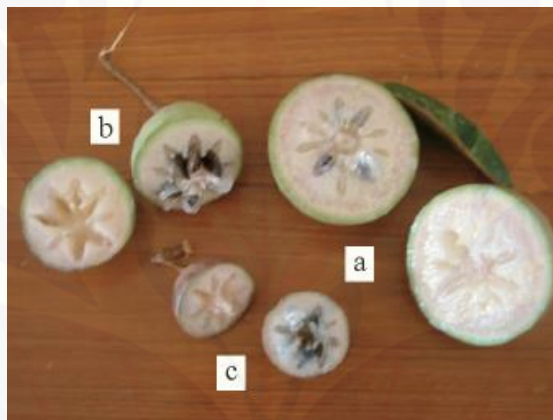


Gambar 2.1 Daun kenitu tampak depan (a) dan belakang (b) (Orwa *et al.*, 2009).

Buah kenitu berbentuk bulat dan lonjong dengan diameter 5-10 cm. Kulit buah tebal, sedikit mengkilap, licin, warna sesuai dengan varietas, hijau, merah atau ungu (Gambar 2.2). Daging buah putih, lembut seperti selai, manis, dan bergetah karena mengandung lateks (Morton, 1987; Luo *et al.*, 2002 dan Orwa *et al.*, 2009). Bentuk daging buah seperti bintang delapan segmen jika dipotong melintang bulat. Bijinya 3-8 butir dalam satu buah, berbentuk bulat telur pipih, dengan panjang sekitar 2 cm, berwarna coklat muda hingga hitam, keras dan mengkilap (Luo *et al.*, 2002 dan Orwa *et al.*, 2009).

2.1.3 Kandungan Kimia dan Manfaat

Senyawa metabolit sekunder dalam buah kenitu diisolasi dan diidentifikasi mengandung sembilan konstituen antioksidan, yaitu katekin, epikatekin, galokatekin, epigalokatekinin, kuersetin, kuersitrin, isokuersitrin, myrisitrin, dan asam galat (Luo *et al.*, 2002). Sebuah analisis gizi menunjukkan bahwa buah kenitu mengandung protein, karbohidrat, dan serat. Vitamin termasuk karoten, tiamin, riboflavin, niacin, dan asam askorbat juga terdapat dalam buah kenitu. Selain itu, asam amino triptofan, metionin, lisin, kalsium dan fosfor telah ditemukan (Morton, 1987). Senyawa α -amirin asetat, asam gentisat (Luo *et al.*, 2002), asam galat, β sitosterol, lupeol, dan asam ursolat (Shailajan, 2014) telah diidentifikasi dari daun spesies ini.



Gambar 2.2 Berbagai varian buah kenitu a) hijau bulat besar b) hijau lonjong c) merah bulat (Hidayat *et al.*, 2007).

Berdasarkan studi etnofarmasi yang dilakukan pada suku Aboudé-Mandéké, Ivory Coast, Afrika, kenitu digunakan sebagai obat tradisional untuk antidiabetes (Koffi *et al.*, 2009^a). Ekstrak air daun kenitu dosis 2 g/kg BB memberikan efek hipoglikemik pada kelinci yang diinduksi aloksan. Namun, mekanisme molekuler yang memberikan efek hipoglikemik belum diketahui. Senyawa yang dianggap memberikan efek tersebut adalah alkaloid, sterol dan triterpen yang terkandung dalam ekstrak air daun kenitu (Koffi *et al.*, 2009^b). Infus daun yang kaya akan tanin dipercaya oleh masyarakat Kuba di Miami sebagai obat kanker. Buah kenitu sedikit

mentah di Venezuela, dimakan untuk mengatasi gangguan usus sedangkan buah kenitu yang sudah masak digunakan sebagai antiinflamasi pada keadaan laringitis dan pneumonia serta pengobatan diabetes mellitus (Morton, 1987). Dekok buah kenitu di Nikaragua timur, Garifuna digunakan untuk mengobati diare, demam, dan penyakit kelamin (Coe dan Anderson, 1996).

2.2 Diabetes Mellitus

2.2.1 Definisi

Diabetes mellitus (DM) merupakan suatu penyakit atau gangguan metabolisme kronis dengan multi etiologi yang ditandai dengan tingginya kadar gula darah disertai dengan gangguan metabolisme karbohidrat, lipid dan protein sebagai akibat insufisiensi fungsi insulin. Insufisiensi fungsi insulin dapat disebabkan oleh gangguan atau defisiensi produksi insulin oleh sel-sel β -langerhans kelenjar pankreas atau kurang responsifnya sel-sel tubuh terhadap insulin (Depkes RI, 2005).

2.2.2 Klasifikasi

DM dapat diklasifikasikan berdasarkan etiologinya menjadi 4 macam, menurut ADA (*American Diabetes Association*) dan telah disahkan oleh WHO (*World Health Organization*), yaitu:

a. DM tipe 1

Diabetes tipe ini merupakan diabetes dengan populasi sedikit, diperkirakan kurang dari 5-10% dari keseluruhan populasi penderita diabetes. Gangguan produksi insulin pada DM tipe 1 umumnya terjadi karena kerusakan sel-sel β -langerhans akibat penyakit autoimun atau idiopatik (Depkes RI, 2005). Tipe ini sering disebut *insulin dependent diabetes mellitus* atau IDDM karena pasien mutlak membutuhkan insulin dari luar (Departemen Farmakologi dan Terapeutik FKUI, 2009). Individu yang peka secara genetik memberikan respon terhadap pemicu yang diduga berupa infeksi virus, dengan memproduksi autoantibodi dari sel-sel β , mengakibatkan berkurangnya sekresi insulin yang dirangsang oleh glukosa (Price *et al.*, 2012).

b. DM Tipe 2

Diabetes tipe 2 merupakan tipe diabetes yang lebih umum, penderitanya lebih banyak dibandingkan DM tipe 1. Penderita DM tipe 2 mencapai 90-95% dari keseluruhan populasi penderita diabetes, umumnya berusia di atas 45 tahun. Namun, akhir-akhir ini populasi penderita DM tipe 2 di kalangan remaja dan anak-anak populasinya meningkat (Depkes RI, 2005).

Sel-sel β -langerhans tidak terjadi kerusakan secara autoimun pada DM tipe 2, melainkan bersifat relatif. Oleh karena itu, dalam penanganannya tidak selalu dibutuhkan insulin dari luar, terkadang cukup dengan diet dan antidiabetik oral sehingga tipe ini disebut juga *noninsulin dependent diabetes mellitus* atau NIDDM (Departemen Farmakologi dan Terapeutik FKUI, 2009).

DM tipe 2 ditandai dengan kelainan sekresi insulin, serta kerja insulin. Pada awalnya tampak terdapat resistensi dari sel-sel sasaran terhadap kerja insulin. Resistensi insulin adalah keadaan dimana insulin tidak dapat bekerja optimal pada sel-sel targetnya seperti sel otot, sel lemak dan sel hepar. Kelainan dalam pengikatan insulin dengan reseptor terjadi yang disebabkan oleh berkurangnya jumlah tempat reseptor pada membran sel yang selnya responsif terhadap insulin atau ketidaknormalan reseptor insulin. Akibatnya terjadi penggabungan abnormal kompleks reseptor insulin, timbul kegagalan sel β dengan menurunnya jumlah insulin yang dihasilkan dan tidak memadai untuk mempertahankan euglikemia. Sekitar 80% pasien DM tipe 2 mengalami obesitas (Price *et al.*, 2012).

c. Diabetes Mellitus Gestasional

Diabetes Mellitus Gestasional (*GDM = Gestational Diabetes Mellitus*) adalah keadaan diabetes atau intoleransi glukosa yang timbul selama masa kehamilan dan biasanya berlangsung hanya sementara atau temporer. Kadar gula darah kembali normal setelah melahirkan. Sekitar 4-5% wanita hamil diketahui menderita GDM, dan umumnya terdeteksi pada atau setelah trimester kedua (Depkes RI, 2005).

Faktor resiko terjadinya GDM adalah usia tua, etnik, obesitas, riwayat keluarga dan riwayat GDM terdahulu. Kehamilan merupakan suatu keadaan

diabetogenik karena terjadi peningkatan sekresi berbagai hormon yang mempunyai efek metabolik terhadap toleransi glukosa. Penderita GDM beresiko tinggi terhadap morbiditas dan mortalitas perinatal serta mempunyai frekuensi kematian janin yang lebih tinggi (Price *et al.*, 2012). Disamping itu, wanita yang pernah menderita GDM akan lebih besar resikonya untuk menderita DM kembali di masa depan (Depkes RI, 2005).

d. DM Tipe lain

Beberapa tipe diabetes lain adalah diabetes yang disebabkan oleh kelainan genetik fungsi sel β , kelainan genetik kerja insulin, endokrinopati, penyakit eksokrin pankreas, karena obat-obatan yang bersifat toksik sel-sel β dan infeksi (Price *et al.*, 2012).

2.2.3 Penatalaksanaan

Penatalaksanaan DM mempunyai tujuan akhir untuk menurunkan morbiditas dan mortalitas DM yang secara spesifik ditujukan untuk mencapai dua target utama, yaitu menjaga agar kadar glukosa dalam plasma dalam kisaran normal dan mencegah atau meminimalkan kemungkinan terjadinya komplikasi diabetes (Depkes RI, 2005). Dalam penatalaksanaan DM, langkah pertama yang harus dilakukan adalah penatalaksanaan tanpa obat berupa pengaturan diet dan olahraga. Apabila dengan langkah pertama ini tujuan penatalaksanaan belum tercapai, dapat dikombinasikan dengan langkah farmakologis berupa terapi insulin atau terapi obat hipoglikemik oral, atau kombinasi keduanya (Depkes RI, 2005).

a. Terapi tanpa Obat

1) Diet

Rencana diet pada pasien diabetes dimaksudkan untuk mengatur jumlah kalori yang dikonsumsi setiap hari dengan komposisi karbohidrat, protein dan lemak yang seimbang. Pasien diabetes tidak boleh makan karbohidrat berlebihan untuk mencegah hiperglikemik. Karbohidrat yang diizinkan untuk penderita diabetes adalah 60-70%

dari jumlah total kalori per hari, terutama karbohidrat kompleks dan mengandung serat tinggi. Lemak yang dikonsumsi harus dibatasi hingga 20-25% dari total kalori per hari yang diizinkan (Depkes RI, 2005) dan tidak kurang dari setengah lemak tersebut memiliki jenis *polyunsaturated* (Price *et al.*, 2012) sedangkan protein dibatasi hingga 10-15% dari total kalori per hari. Jumlah kalori disesuaikan dengan pertumbuhan, status gizi, umur, stres akut dan kegiatan fisik, yang pada dasarnya ditujukan untuk mencapai dan mempertahankan berat badan ideal (Depkes RI, 2005).

Penurunan berat badan telah dibuktikan dapat mengurangi resistensi insulin dan memperbaiki respons sel-sel β terhadap stimulus glukosa. Salah satu penelitian melaporkan bahwa penurunan 5% berat badan dapat mengurangi kadar HbA1c 0,6% (HbA1c merupakan salah satu parameter status DM) dan setiap kilogram penurunan berat badan dihubungkan dengan 3-4 bulan tambahan waktu harapan hidup (Depkes RI, 2005).

2) Olahraga (*Exercise*)

Olahraga secara teratur dapat menurunkan dan menjaga kadar gula darah tetap normal. Olahraga akan memperbanyak jumlah dan meningkatkan aktivitas reseptor insulin dalam tubuh serta meningkatkan penggunaan glukosa (Depkes RI, 2005).

b. Terapi dengan Obat

1) Terapi Insulin

Terapi insulin merupakan pilihan utama untuk DM tipe 1. Sel-sel β -langerhans kelenjar pankreas rusak pada DM tipe 1, sehingga tidak dapat memproduksi insulin. Oleh karena itu, penderita DM tipe 1 harus mendapat insulin eksogen untuk membantu agar metabolisme karbohidrat di dalam tubuhnya dapat berjalan normal. Sedangkan DM tipe 2, umumnya tidak memerlukan terapi insulin (Tabel 2.1), namun hampir 30% ternyata membutuhkan terapi insulin disamping terapi hipoglikemik oral (Tabel 2.2) (Depkes RI, 2005).

Tabel 2.1 Penggolongan sediaan insulin (Dipiro, 2008).

Tipe Insulin	Onset (Jam)	Puncak (Jam)	Durasi (Jam)	Durasi Maksimum (Jam)
<i>Rapid-acting</i>				
Aspart	0,25-0,5	1-2	3-5	5-6
Lispro	0,25-0,5	1-2	3-4	4-6
Glulisine	0,25-0,5	1-2	3-4	5-6
Inhaled human insulin	0,25-0,5	1-2	6	8
<i>Short-acting</i>				
Regular	0,5-1	2-3	3-6	6-8
<i>Intermediate-acting</i>				
NPH (Neutral Protamine Hagedorn)	2-4	4-6	8-12	14-18
<i>Long-acting</i>				
Detemir	2	6-9	14-24	24
Glargine	4-5	-	22-24	24

2) Terapi Obat Hipoglikemik Oral

Berdasarkan mekanisme kerjanya, obat-obat hipoglikemik oral (Tabel 2.2) dapat dibagi menjadi tiga golongan, yaitu: (Depkes RI, 2005)

- a) Obat-obat yang meningkatkan sekresi insulin, meliputi obat hipoglikemik oral golongan sulfonilurea dan glinida (meglitinida dan turunan fenilalanin).
- b) Sensitizer insulin (obat-obat yang dapat meningkatkan sensitivitas sel terhadap insulin), meliputi obat-obat hipoglikemik oral golongan biguanida dan tiazolidone, yang dapat membantu tubuh untuk memanfaatkan insulin lebih efektif.
- c) Inhibitor katabolisme karbohidrat, antara lain inhibitor α -glukosidase yang bekerja menghambat absorpsi glukosa dan umum digunakan untuk mengendalikan hiperglikemik setelah makan (*post-meal hyperglycemia*).

2.3 Enzim α -Glukosidase

Menurut IUBMB (*International Union of Biochemistry and Molecular Biology*), enzim α -glukosidase merupakan enzim kelas hidrolase yang mengkatalisis reaksi hidrolisis suatu substrat atau pemecahan substrat dengan pertolongan molekul

air. Enzim kelas hidrolase memiliki reaksi pemecahan hidrolitik ikatan C-O, C-N, C-C, P-O (Boyce, 2001).

Tabel 2.2 Penggolongan obat hipoglikemik oral (Depkes RI, 2005)

Golongan	Contoh Senyawa	Mekanisme Kerja
Sulfonilurea	Gliburida Glipizida Glikazida Glimepirida Glikuidon	Merangsang sekresi insulin di kelenjar pankreas, sehingga hanya efektif pada penderita DM dengan sel-sel β -pankreas yang masih berfungsi baik.
Meglitinida	Repaglinide	Merangsang sekresi insulin di kelenjar pankreas.
Turunan fenilalanin	Nateglinide	Meningkatkan kecepatan sintesis insulin oleh pankreas.
Biguanida	Metformin	Bekerja langsung pada hati (hepar), menurunkan produksi glukosa hati. Tidak merangsang sekresi insulin oleh kelenjar pankreas.
Tiazolididone	Rosiglitazone Troglitazone Pioglitazone	Meningkatkan kepekaan tubuh terhadap insulin. Berikatan dengan PPAR γ (<i>Peroxisome Proliferator Activated Receptor-Gamma</i>) di otot, jaringan lemak, dan hati untuk menurunkan resistensi insulin.
Inhibitor α -Glukosidase	Acarbose Miglitol	Menghambat kerja enzim-enzim pencernaan yang mencerna karbohidrat sehingga memperlambat absorpsi glukosa ke dalam darah.

Enzim-enzim α -glukosidase (maltase, isomaltase, dan sukrase) merupakan enzim yang berfungsi untuk menghidrolisis oligosakarida dan disakarida pada dinding usus halus menjadi monosakarida sehingga dapat diabsorpsi dan masuk dalam pembuluh darah (Sim *et al.*, 2010). Gambar 2.3 (a) menunjukkan bahwa dalam keadaan normal, enzim α -amilase memecah ikatan α -1,4-glikosida dari karbohidrat, namun tidak dapat memecah ikatan α -1,6-glikosida (Guzman-Maldonado dan Paredes-Lopez, 1995). Produk dari pemecahan tersebut berupa oligosakarida yang

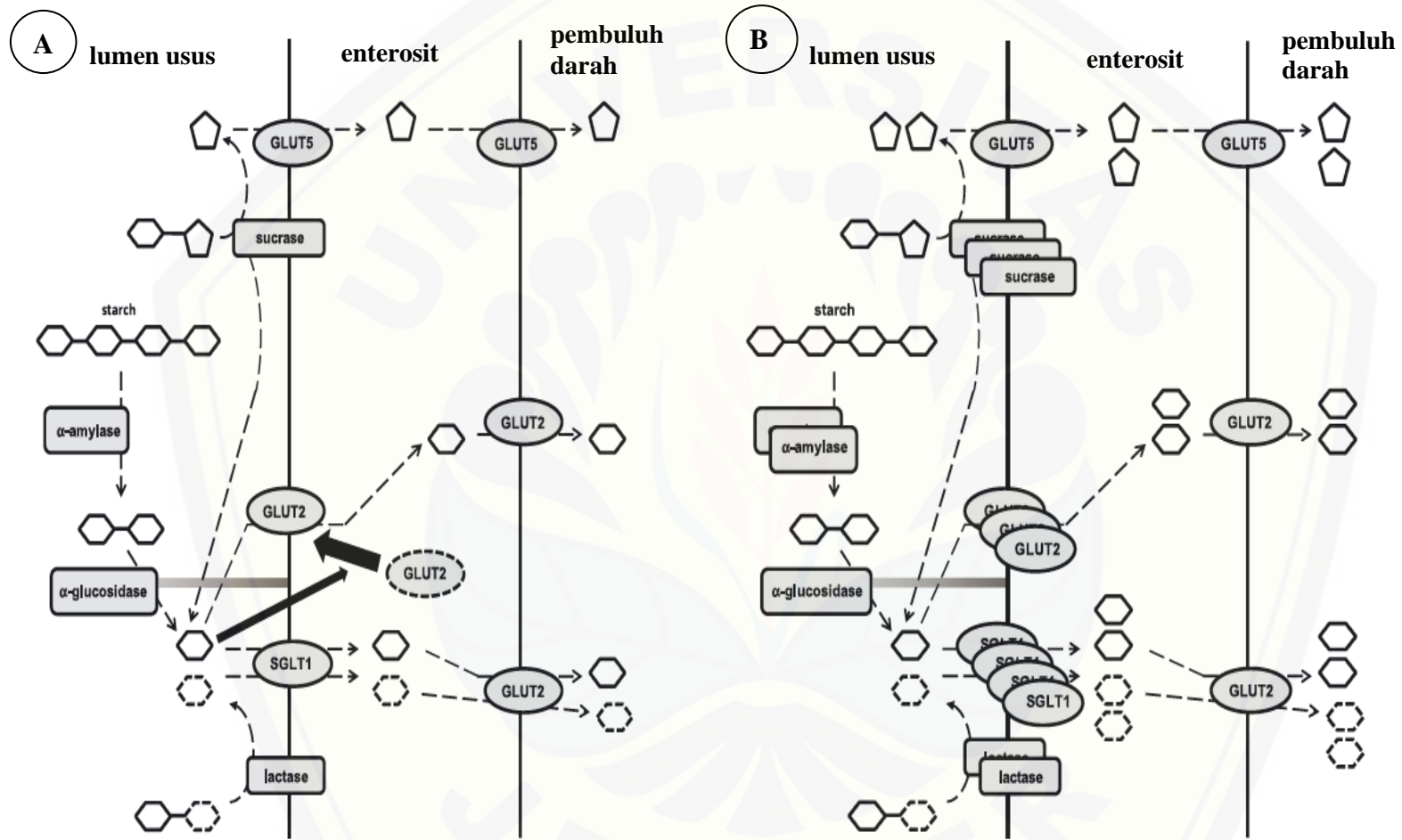
memiliki ikatan α -1,6-glikosida dan dua atau lebih ikatan α -1,4-glikosida. Enzim α -glukosidase memecah ikatan α -1,6-glikosida dan α -1,4-glikosida pada oligosakarida tersebut menjadi monosakarida dalam lumen usus (Sim *et al.*, 2010). Monosakarida hasil pemecahan enzim α -glukosidase akan dibawa oleh transporter menuju enterosit dan pembuluh darah sehingga dapat diabsorpsi oleh tubuh, masuk ke dalam sel dan diubah menjadi energi (Scheepers *et al.*, 2004). Gambar 2.3 (b) menunjukkan peningkatan aktivitas enzim pemecah karbohidrat dan transporter pembawa glukosa menuju pembuluh darah terjadi pada keadaan DM karena adanya *feedback* oleh tubuh berupa konsumsi karbohidrat lebih banyak akibat dari sel yang kekurangan energi sehingga kadar glukosa dalam darah semakin tinggi (Dyer *et al.*, 2002).

2.4 Inhibitor α -Glukosidase

Senyawa-senyawa inhibitor α -glukosidase bekerja menghambat enzim α -glukosidase yang terdapat pada dinding usus halus. Inhibisi kerja enzim ini secara efektif dapat mengurangi pencernaan karbohidrat kompleks dan absorpsinya, sehingga dapat mengurangi peningkatan kadar glukosa setelah makan pada penderita diabetes. Senyawa inhibitor α -glukosidase juga menghambat enzim α -amilase pankreas yang bekerja menghidrolisis polisakarida di dalam lumen usus halus (Depkes RI, 2005).

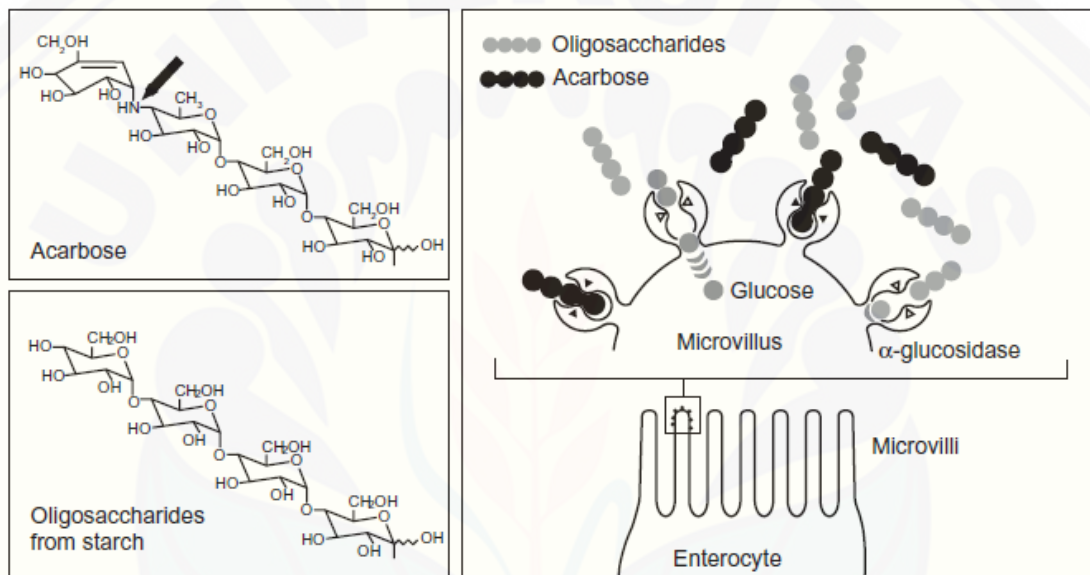
Salah satu agen inhibitor α -glukosidase adalah akarbose. Akarbose merupakan suatu oligosakarida yang diperoleh dari proses fermentasi mikroorganisme *Actinoplanes utahensis*. Akarbose berupa serbuk putih dengan berat molekul 645,6 dan pKa 5,1 yang larut dalam air. Akarbose memiliki rumus empiris $C_{25}H_{43}NO_{18}$ (Bayer HealthCare Pharmaceutical, 2010).

Akarbose menghambat α -glukosidase pada vili-vili usus (*intestinal brush border*) secara kompetitif. Akarbose akan berkompetisi dengan oligosakarida untuk menempati sisi aktif enzim α -glukosidase (Gambar 2.4). Enzim α -glukosidase tidak dapat memecah gugus amina pada akarbose. Semakin banyak akarbose yang menempati sisi aktif enzim maka semakin sedikit oligosakarida yang dipecah menjadi



Gambar 2.3 Mekanisme reaksi pemecahan karbohidrat oleh enzim pencernaan dalam usus pada keadaan normal (A) dan keadaan DM (B) (Williamson, 2013).

monosakarida, seperti glukosa (Rosak dan Mertes, 2012). Akibatnya glukosa dalam darah setelah makan tidak meningkat signifikan. Keuntungan akarbose dibandingkan dengan obat hipoglikemik oral lainnya adalah akarbose tidak merangsang pelepasan insulin dari pankreas ataupun meningkatkan kerja insulin di jaringan perifer sehingga akarbose tidak menyebabkan hipoglikemik. Efek samping utama dari akarbose adalah perut kembung, diare, dan kram perut (Mycek *et al.*, 2001).



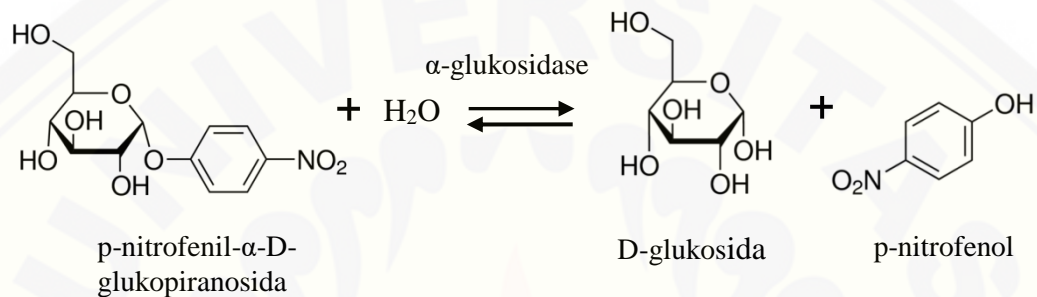
Gambar 2.4 Mekanisme akarbose dalam menghambat enzim α -glukosidase secara kompetitif (Rosak dan Mertes, 2012).

Senyawa metabolit sekunder dalam tumbuhan juga dilaporkan dapat memberikan aktivitas antidiabetes sebagai inhibitor α -glukosidase yaitu senyawa golongan polifenol seperti flavonoid (antosianin, katekin, flavanon, flavonol, flavon, dan isoflavon), asam fenolat, dan tanin (proantosianidin dan ellagitanin) (Hanhineva *et al.*, 2010).

2.5 Uji Aktivitas Inhibitor α -Glukosidase

Pengujian terhadap aktivitas inhibitor α -glukosidase didasarkan pada reaksi enzimatik. Enzim α -glukosidase akan menghidrolisis PNPG (p-nitrofenil- α -D-

glukopiranosida) menghasilkan p-nitrofenol dan glukosa (Gambar 2.5). Aktivitas enzim diukur dari serapan yang diberikan oleh p-nitrofenol. p-nitrofenol memberikan warna kuning sehingga bisa diukur absorbansinya pada panjang gelombang 400 nm menggunakan *microplate reader*. Jika ekstrak tanaman memiliki aktivitas menghambat enzim α -glukosidase, maka p-nitrofenol yang dihasilkan akan berkurang (Kikkoman, 2001).

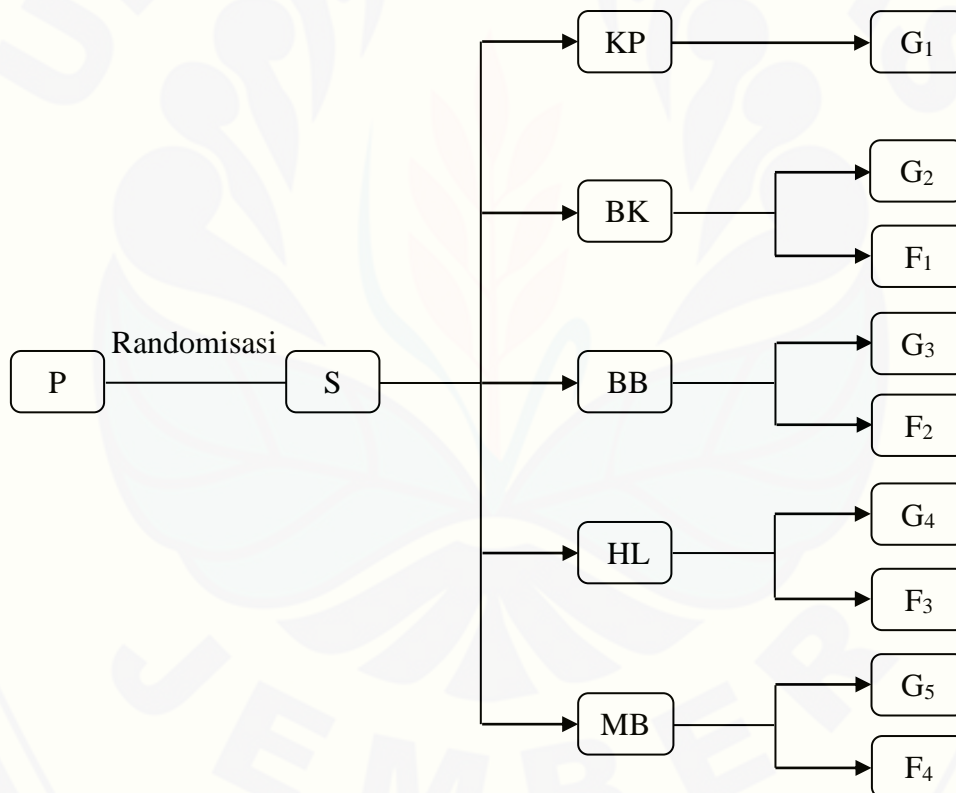


Gambar 2.5 Reaksi enzimatik α -glukosidase dan p-nitrofenil- α -D-glukopiranosida (Kikkoman, 2001 dengan modifikasi).

BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan adalah penelitian *experimental laboratories* untuk mengetahui perbedaan aktivitas antidiabetes dengan mekanisme inhibitor α -glukosidase dari beberapa varian ekstrak etanol 70% daun kenitu. Rancangan penelitian yang digunakan adalah *The Post Test Only Control Group Design*. Secara skematis, rancangan penelitian digambarkan sebagai berikut:



Gambar 3.1 Rancangan penelitian

Keterangan:

- P = Populasi tumbuhan kenitu
- S = Sampel tumbuhan kenitu Daerah Jember
- KP = Kelompok kontrol positif akarbose
- BK = Kelompok ekstrak etanol 70% daun kenitu varian bulat kecil
- BB = Kelompok ekstrak etanol 70% daun kenitu varian bulat besar
- HL = Kelompok ekstrak etanol 70% daun kenitu varian hijau lonjong
- MB = Kelompok ekstrak etanol 70% daun kenitu varian merah bulat
- G₁ = Data aktivitas inhibitor α -glukosidase kelompok kontrol positif
- G₂ = Data aktivitas inhibitor α -glukosidase kelompok ekstrak etanol 70% daun kenitu varian bulat kecil
- G₃ = Data aktivitas inhibitor α -glukosidase kelompok ekstrak etanol 70% daun kenitu varian bulat besar
- G₄ = Data aktivitas inhibitor α -glukosidase kelompok ekstrak etanol 70% daun kenitu varian hijau lonjong
- G₅ = Data aktivitas inhibitor α -glukosidase kelompok ekstrak etanol 70% daun kenitu varian merah bulat
- F₁ = Data skrining fitokimia kelompok ekstrak etanol 70% daun kenitu varian bulat kecil
- F₂ = Data skrining fitokimia kelompok ekstrak etanol 70% daun kenitu varian bulat besar
- F₃ = Data skrining fitokimia kelompok ekstrak etanol 70% daun kenitu varian hijau lonjong
- F₄ = Data skrining fitokimia kelompok ekstrak etanol 70% daun kenitu varian merah bulat

3.2 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Fitokimia Fakultas Farmasi Universitas Jember pada bulan Maret 2015 sampai Juni 2015.

3.3 Variabel Penelitian

Variabel yang digunakan dalam penelitian ini adalah:

- a. Variabel bebas pada penelitian ini adalah ekstrak etanol 70% daun kenitu varian BK, BB, HL dan MB.
- b. Variabel terikat pada penelitian ini adalah aktivitas inhibitor α -glukosidase.
- c. Variabel terkontrol pada penelitian ini adalah metode ekstraksi, pelarut dan prosedur pengujian aktivitas inhibitor α -glukosidase.

3.4 Definisi Operasional

Definisi operasional pada penelitian ini adalah:

- a. Lokasi pengambilan sampel daun kenitu varian BK di daerah Antirogo, Kecamatan Sumbersari, Jember; daun kenitu varian BB dan MB di daerah Kalisat, Kecamatan Kalisat, Jember; sedangkan daun kenitu varian HL di daerah Karimata, Kecamatan Sumbersari, Jember. Daun kenitu yang digunakan adalah 5 helai dari pangkal cabang pohon berbunga penuh.
- b. Ekstrak daun kenitu diperoleh dengan mengekstraksi simplisia daun kenitu dengan pelarut etanol 70% menggunakan metode ultrasonikasi selama 1 jam.
- c. IC_{50} merupakan konsentrasi efektif ekstrak etanol 70% daun kenitu untuk menghambat 50% enzim α -glukosidase. Aktivitas sangat kuat jika memiliki nilai IC_{50} kurang dari 50 $\mu\text{g/mL}$, kuat untuk IC_{50} 50-100 $\mu\text{g/mL}$, sedang untuk IC_{50} 101-150 $\mu\text{g/mL}$, dan lemah jika IC_{50} 151-200 $\mu\text{g/mL}$ (Zuhra *et al.*, 2008).

3.5 Bahan dan Alat Penelitian

3.5.1 Bahan-bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun kenitu segar varian buah bentuk bulat kecil (BK), bulat besar (BB), hijau lonjong (HL) dan merah bulat (MB) dari Kabupaten Jember yang dikumpulkan pada bulan Maret hingga April, pelarut etanol 70% (teknis), akarbiose (Sigma-Aldrich), enzim α -glukosidase (dari *Saccharomyces cerevisiae*, Sigma-Aldrich), dimetil sulfoksida (DMSO) (Sigma-

Aldrich), p-nitrofenil- α -D-glukopiranosida (PNPG) (Sigma-Aldrich), natrium karbonat (Na_2CO_3) (Brataco-Ermika), akuades, kalium dihidrogenfosfat (KH_2PO_4) (Merck), natrium hidroksida (NaOH) (Merck), NH_4OH (Brataco-Ermika), metanol (Sigma-Aldrich), etil asetat (Sigma-Aldrich), butanol (Sigma-Aldrich), kiesel gel GF 254 (Sigma-Aldrich), n-heksan (Sigma-Aldrich), kloroform bebas air, FeCl_3 (Merck), pereaksi wagner, pereaksi mayer, pereaksi dragendorf, pereaksi sitroborat, asam klorida pekat (HCl) (Merck), NaCl (Merck), asam asetat glasial (CH_3COOH) (Sigma-Aldrich), lempeng Mg (Merck), dan asam sulfat pekat (H_2SO_4) (Sigma-Aldrich), tip, *microwell* 96.

3.5.2 Alat-alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *micropipet* (Socorex), alat-alat gelas, *rotary evaporator* (Heidolph Laborata 4000), *hotplate* (Cimarec Thermo Sientific), neraca analitik (Pioneer), chamber (Camag), *microplate reader* (*Elx800*), vortex mixer (Barnstead Termolyne), pH meter (Elmetron CP-502), ultrasonikator (Elmasonic S180H), inkubator (Clifton).

3.6 Prosedur Penelitian

3.6.1 Penyiapan Simplisia berdasarkan Jenis Varietas

Bagian tanaman kenitu yang digunakan adalah daunnya. Daun diambil pada bulan Maret-April 2014. Daun kenitu berbagai varian yang telah dikumpulkan dengan teknik pelabelan kemudian disortasi, dibersihkan dari pengotor, diangin-anginkan di tempat yang tidak terkena cahaya matahari langsung hingga diperoleh simplisia kering. Selanjutnya simplisia tersebut diserbuk dengan menggunakan mesin penggiling yang dilengkapi dengan ayakan 80 mesh. Serbuk simplisia kemudian disimpan di tempat yang terlindung dari cahaya untuk mencegah kerusakan dan kemunduran mutu.

3.6.2 Ekstraksi

Serbuk daun kenitu masing-masing varian sebanyak 100 g diultrasonikasi menggunakan pelarut etanol 70% sebanyak 1 liter selama 1 jam dengan suhu 50°C .

Ampas dan filtrat dipisahkan dengan cara disaring. Filtrat yang dihasilkan dari masing-masing varian diuapkan pelarutnya menggunakan *rotary evaporator* hingga didapatkan ekstrak cair. Ekstrak cair diuapkan pelarutnya di atas *waterbath* hingga diperoleh ekstrak kental. Selanjutnya, ekstrak kental ditimbang untuk mengetahui rendemennya dan disimpan pada suhu rendah, terlindung dari cahaya matahari.

3.6.3 Uji Pendahuluan Reaksi Enzimatis

Optimasi kondisi enzim dilakukan terlebih dahulu sebelum melaksanakan uji inhibitor α -glukosidase untuk mendapatkan kondisi yang optimal dari kerja enzim α -glukosidase. Optimasi yang dilakukan adalah optimasi panjang gelombang maksimum, waktu inkubasi, konsentrasi enzim dan konsentrasi substrat.

a. Penyiapan Larutan Pereaksi

1) Larutan dapar fosfat pH 6,8

Dibuat dengan cara mencampurkan 125 mL larutan kalium dihidrogenfosfat (KH_2PO_4) 0,2 M (4,0827 gram dalam 150 mL akuades) dengan 56 mL larutan natrium hidroksida (NaOH) 0,2 M (0,8 gram dalam 100 mL akuades) kemudian diencerkan dengan akuades hingga 500 mL (Depkes RI, 1995). Perhitungan dapat dilihat pada Lampiran A.1.

2) Larutan Substrat p-nitrofenil- α -D-glukopiranosida (PNPG)

Larutan substrat 20 mM dibuat dengan menimbang 60,25 mg PNPG dan dilarutkan dalam dapar fosfat pH 6,8 hingga 10 mL. Kemudian dari larutan induk tersebut, dilakukan pengenceran hingga diperoleh konsentrasi substrat PNPG 10; 5; 2,5; 1,25 dan 0,625 mM. Perhitungan dapat dilihat pada Lampiran A.2.

3) Larutan enzim α -glukosidase

Larutan enzim dibuat dengan melarutkan 100 U enzim α -glukosidase dalam 2 mL dapar fosfat pH 6,8 kemudian membagi larutan tersebut dalam dua vial sehingga didapatkan larutan enzim α -glukosidase 50 U/mL dalam masing-masing vial. Satu vial disimpan sedangkan satu vial yang lain diencerkan dengan menambahkan 9 mL dapar fosfat pH 6,8 sehingga didapatkan enzim α -glukosidase 5 U/mL. Larutan enzim tersebut kemudian dibagi dalam sepuluh vial dimana, masing-masing vial

ditambahkan 9 mL dapar fosfat pH 6,8 untuk mendapatkan larutan enzim α -glukosidase 0,5 U/mL. Larutan enzim α -glukosidase 0,5 U/mL diencerkan menggunakan dapar fosfat pH 6,8 hingga diperoleh konsentrasi larutan enzim 0,3; 0,25; 0,2; 0,15; 0,1 dan 0,05 U/mL. Larutan enzim disimpan dalam freezer suhu -20°C. Perhitungan dapat dilihat pada Lampiran A.4.

4) Larutan natrium karbonat 0,2 M

Larutan natrium karbonat 0,2 M dibuat dengan menimbang 1,06 g serbuk natrium karbonat dan dilarutkan dalam akuades hingga 50 mL. Perhitungan dapat dilihat pada Lampiran A.6.

b. Prosedur Optimasi

Prosedur optimasi dilakukan berdasarkan metode uji penghambatan enzim α -glukosidase yang dikemukakan oleh Moradi-Afrapoli *et al.* (2012) dengan beberapa modifikasi.

1) Penentuan optimasi panjang gelombang maksimum

Campuran reaksi terdiri dari 10 μ L dimetil sulfoksida (DMSO) ditambah 120 μ L dapar fosfat pH 6,8 dan 20 μ L larutan enzim α -glukosidase 0,5 U/mL dalam *microwell*. Selanjutnya diinkubasi selama 15 menit suhu 37°C. Setelah itu, ditambahkan 20 μ L substrat PNPG 5 Mm lalu diinkubasi selama 15 menit suhu 37°C. Reaksi dihentikan dengan penambahan 80 μ L natrium karbonat 0,2 M. P-nitrofenol yang dihasilkan dibaca absorbansinya pada panjang gelombang 200-600 nm. Pada blanko, dilakukan tanpa penambahan enzim.

2) Penentuan optimasi waktu inkubasi

Campuran reaksi terdiri dari 10 μ L dimetil sulfoksida (DMSO) ditambah 120 μ L dapar fosfat pH 6,8 dan 20 μ L larutan enzim α -glukosidase 0,05 U/mL dalam *microwell*. Selanjutnya diinkubasi selama 15 menit suhu 37°C. Setelah itu, ditambahkan 20 μ L substrat PNPG 5 mM, lalu diinkubasi selama 15, 30, 45, 60, 75, dan 90 menit suhu 37°C. Reaksi dihentikan dengan penambahan 80 μ L natrium karbonat 0,2 M. P-nitrofenol yang dihasilkan dibaca absorbansinya pada 415 nm.

Pada blanko, dilakukan tanpa penambahan enzim. Semua pengujian dilakukan tiga kali replikasi.

3) Penentuan optimasi konsentrasi enzim

Campuran reaksi terdiri dari 10 μL dimetil sulfoksida (DMSO) ditambah 120 μL dapar fosfat pH 6,8 dan 20 μL larutan enzim α -glukosidase dengan konsentrasi masing-masing 0,3; 0,25; 0,2; 0,15; 0,1 dan 0,05 U/mL dalam *microwell*. Selanjutnya diinkubasi selama 15 menit suhu 37°C. Setelah itu, ditambahkan 20 μL substrat PNPG konsentrasi 5 mM, lalu diinkubasi selama 60 menit suhu 37°C. Reaksi dihentikan dengan penambahan 80 μL natrium karbonat 0,2 M. P-nitrofenol yang dihasilkan dibaca absorbansinya pada 415 nm. Pada blanko, dilakukan tanpa penambahan enzim. Semua pengujian dilakukan tiga kali replikasi.

4) Penentuan optimasi konsentrasi substrat

Campuran reaksi terdiri dari 10 μL dimetil sulfoksida (DMSO) ditambah 120 μL dapar fosfat pH 6,8 dan 20 μL larutan enzim α -glukosidase 0,1 U/mL dalam *microwell*. Selanjutnya diinkubasi selama 15 menit suhu 37°C. Setelah itu, ditambahkan 20 μL substrat PNPG dengan konsentrasi masing-masing 20; 10; 5; 2,5; 1,25 dan 0,625 mM, lalu diinkubasi selama 60 menit suhu 37°C. Reaksi dihentikan dengan penambahan 80 μL natrium karbonat 0,2 M. P-nitrofenol yang dihasilkan dibaca absorbansinya pada 415 nm. Pada blanko, dilakukan tanpa penambahan enzim. Semua pengujian dilakukan tiga kali replikasi.

3.6.4 Uji Aktivitas Inhibitor α -Glukosidase

Uji aktivitas inhibitor α -glukosidase yang dikemukakan oleh Moradi-Afrapoli *et al.* (2012) dengan beberapa modifikasi dilakukan pada penelitian ini. Uji aktivitas inhibitor α -glukosidase dilakukan terhadap larutan kontrol negatif (larutan tanpa sampel / standar), larutan akarbose sebagai kontrol positif dan larutan sampel (ekstrak). Setiap larutan uji dibuat larutan blanko masing-masing sebagai faktor koreksi.

a. Penyiapan larutan akarbose

Larutan akarbose 20.000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ dibuat dengan menimbang 500 mg serbuk standar akarbose, kemudian dimasukkan dalam labu ukur 25 mL dan dilarutkan dalam dapar fosfat pH 6,8 hingga 25 mL. Selanjutnya dilakukan pengenceran dari larutan induk tersebut hingga diperoleh larutan akarbose konsentrasi 15.000, 10.000, 7.500, 5.000, dan 2.500 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Perhitungan dapat dilihat pada Lampiran A.5.

b. Penyiapan larutan sampel

Larutan sampel 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ dibuat dengan menimbang 5 mg sampel (ekstrak), kemudian dimasukkan dalam labu ukur 5 mL dan dilarutkan dalam 1 mL DMSO (dimetil sulfoksida). Selanjutnya dilakukan pengenceran dari larutan sampel tersebut menggunakan dapar fosfat pH 6,8 hingga diperoleh konsentrasi larutan sampel 20, 15, 10, 5, 1, dan 0,1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ untuk ekstrak daun kenitu varian HL dan MB. Sedangkan ekstrak daun kenitu varian BK dan BB dilakukan pengenceran hingga konsentrasi 2, 3, 4, 5, 6, dan 7 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Perhitungan dapat dilihat pada Lampiran A.3.

c. Pengujian kontrol negatif

Campuran reaksi terdiri dari 130 μL dapar fosfat pH 6,8 ditambah 20 μL larutan enzim α -glukosidase 0,1 U/mL dalam *microwell*. Selanjutnya diinkubasi selama 15 menit suhu 37°C. Setelah itu, ditambahkan 20 μL substrat PNPG 10 mM, lalu diinkubasi selama 60 menit suhu 37°C. Reaksi dihentikan dengan penambahan 80 μL natrium karbonat 0,2 M. P-nitrofenol yang dihasilkan dibaca absorbansinya pada 415 nm. Pada uji kontrol negatif, blanko dilakukan tanpa penambahan enzim. Semua pengujian dilakukan tiga kali replikasi.

d. Pengujian kontrol positif

Campuran reaksi terdiri dari 10 μL larutan akarbose ditambah 120 μL dapar fosfat pH 6,8 dan 20 μL larutan enzim α -glukosidase 0,1 U/mL dalam *microwell*. Selanjutnya diinkubasi selama 15 menit suhu 37°C. Setelah itu, ditambahkan 20 μL substrat PNPG 10 mM, lalu diinkubasi selama 60 menit suhu 37°C. Reaksi dihentikan dengan penambahan 80 μL natrium karbonat 0,2 M. P-nitrofenol yang dihasilkan

dibaca absorbansinya pada 415 nm. Pada uji kontrol positif, blanko dilakukan tanpa penambahan enzim. Semua pengujian dilakukan tiga kali replikasi.

e. Pengujian sampel

Campuran reaksi terdiri dari 10 μL larutan sampel ditambah 120 μL dapar fosfat pH 6,8 dan 20 μL larutan enzim α -glukosidase 0,1 U/mL dalam *microwell*. Selanjutnya diinkubasi selama 15 menit suhu 37°C. Setelah itu, ditambahkan 20 μL substrat PNPG 10 mM, lalu diinkubasi selama 60 menit suhu 37°C. Reaksi dihentikan dengan penambahan 80 μL natrium karbonat 0,2 M. P-nitrofenol yang dihasilkan dibaca absorbansinya pada 415 nm. Pada uji sampel (ekstrak), blanko dilakukan tanpa penambahan enzim. Semua pengujian dilakukan tiga kali replikasi.

Tabel 3.1 Prosedur uji aktivitas inhibitor α -glukosidase

Reagen	Volume (μL)					
	K ₁	K ₀	S ₁	S ₀	A ₁	A ₀
Sampel / ekstrak	-	-	10	10	-	-
Standart / akarbose	-	-	-	-	10	10
Dapar fosfat pH 6,8	130	150	120	140	120	140
Enzim α -glukosidase 0,1 U/mL	20	-	20	-	20	-
Inkubasi 37°C, 15 menit						
Substrat PNPG 10 mM	20	20	20	20	20	20
Inkubasi 37°C, 60 menit						
Natrium karbonat 0,2 M	80	80	80	80	80	80
Mengukur absorbansi pada 415 nm						

K₁=Kontrol negatif, K₀= Blanko kontrol negatif, S₁= Sampel (ekstrak), S₀= Blanko sampel (ekstrak), A₁= kontrol positif (akarbose), A₀= Blanko kontrol positif (akarbose).

Aktivitas inhibitor α -glukosidase dari sampel dapat dihitung dengan rumus:

$$\text{Inhibisi (\%)} = \frac{K-S}{K} \times 100\% \dots\dots\dots(1)$$

Keterangan: K= Absorbansi kontrol negatif (K₁-K₀)

S= Absorbansi sampel (S₁-S₀)

Sedangkan aktivitas inhibitor α -glukosidase dari kontrol positif akarbose dapat dihitung dengan rumus:

$$\text{Inhibisi (\%)} = \frac{K-A}{K} \times 100\% \dots\dots\dots(2)$$

Keterangan: K= Absorbansi kontrol negatif (K_1-K_0)

A= Absorbansi kontrol positif akarbose (A_1-A_0)

IC₅₀ dihitung dengan menggunakan persamaan regresi linier, konsentrasi sampel sebagai sumbu x dan % inhibisi sebagai sumbu y. Persamaan regresi $y=bx+a$ yang diperoleh, digunakan untuk menentukan IC₅₀ dengan rumus:

$$\text{IC}_{50} = \frac{50-a}{b} \dots\dots\dots(3)$$

3.7 Skrining Fitokimia

Metode skrining fitokimia yang digunakan adalah sebagai berikut:

a. Alkaloid (Uji Wagner, Mayer dan KLT)

Ekstrak sebanyak 300 mg ditambah dengan 5 mL HCL 2N kemudian dipanaskan di atas penangas air 2-3 menit, sambil diaduk. Setelah dingin ditambahkan NaCl 0,3 gram, diaduk kemudian disaring. Filtrat ditambah 5 mL HCL 2N dan dibagi menjadi tiga bagian yang disebut larutan A, B dan C. Larutan A digunakan sebagai blanko, larutan B ditambah dengan pereaksi wagner dan larutan C ditambah dengan pereaksi mayer. Ekstrak mengandung alkaloid apabila menimbulkan kekeruhan atau endapan. Selanjutnya, larutan C ditambah NH₄OH 28% sampai larutan menjadi basa, kemudian diekstraksi dengan 5 mL kloroform bebas air, lalu disaring. Filtrat diuapkan sampai kering, kemudian dilarutkan dalam metanol dan siap untuk pemeriksaan dengan KLT (Kromatografi Lapis Tipis). Fase diam berupa kiesel gel GF 254 sedangkan fase gerak berupa etil asetat: metanol: air (9:2:2) dengan menggunakan penampak noda berupa pereaksi dragendorf. Jika timbul noda warna jingga menunjukkan adanya alkaloid dalam ekstrak (Depkes RI, 1989).

b. Saponin (Uji Forth)

Ekstrak 300 mg dimasukkan tabung reaksi, kemudian ditambah 10 mL air, dikocok kuat-kuat selama \pm 30 detik. Ekstrak mengandung saponin jika terbentuk busa yang stabil dengan ketinggian 1-10 cm dan tidak hilang setelah ditetesi HCl 2N (Depkes RI, 1989).

c. Steroid dan Triterpenoid (Uji Liebermann-Burchard)

Ekstrak sebanyak 30 mg pada plat tetes ditambahkan dengan CH_3COOH glasial sebanyak 5 tetes dan H_2SO_4 pekat sebanyak 2 tetes. Ekstrak mengandung steroid jika terbentuk warna biru atau hijau sedangkan ekstrak mengandung triterpenoid jika memberikan warna merah atau ungu (Harborne, 1996).

d. Flavonoid (Uji Wilstater dan KLT)

Ekstrak sebanyak 100 mg dikocok dengan 1 mL n-heksana berkali-kali hingga ekstrak n-heksana tidak berwarna. Residu dilarutkan dalam etanol kemudian ditotolkan pada fase diam lempeng KLT berupa kiesel gel GF 254. Selanjutnya, dieluasi pada fase gerak butanol : asam asetat : air (4 : 1 : 5) yang dibuat dengan cara mencampur ketiga komponen tersebut, maka akan terjadi dua lapisan. Lapisan atas diambil dan dipakai sebagai fase gerak untuk mengevaluasi senyawa flavonoid. Penampak noda yang digunakan adalah pereaksi sitroborat. Adanya flavonoid ditunjukkan dengan timbulnya noda berwarna kuning intensif (Depkes RI, 1989).

Uji Wilstater dilakukan dengan cara 30 mg ekstrak ditambahkan dengan 10 mL air panas, dididihkan selama 5 menit, kemudian disaring. Filtrat sebanyak 5 mL ditambahkan 0,05 mg serbuk Mg dan HCl pekat, kemudian dikocok kuat-kuat sedangkan sisa filtrat digunakan sebagai blanko. Uji positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah, kuning atau jingga (Harborne, 1996).

e. Fenolik (Uji ferriklorida)

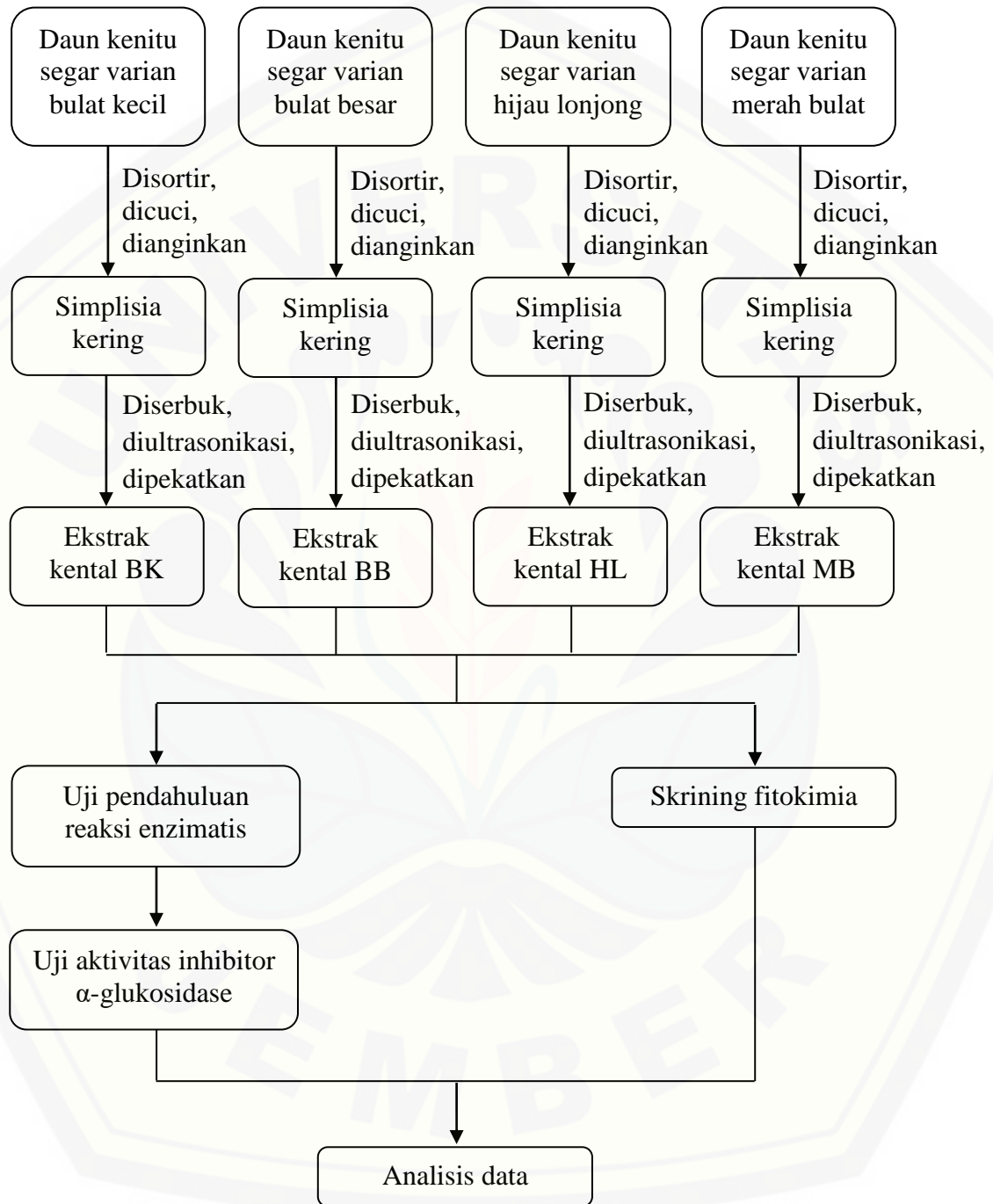
Ekstrak sebanyak 200 mg ditambahkan 7 mL akuades panas, diaduk dan dibiarkan hingga suhu kamar, lalu ditambahkan 3-4 tetes 10% NaCl, diaduk, dan disaring. Filtrat dibagi menjadi dua bagian yaitu larutan A dan larutan B. Larutan A digunakan sebagai blanko sedangkan larutan B ditambah 5 tetes FeCl_3 . Ekstrak

positif mengandung fenol apabila menghasilkan warna hijau, merah, ungu, biru atau hitam pekat (Harborne, 1996).

3.8 Analisis Data

Data yang diperoleh kemudian dianalisis normalitas (Shapiro-Wilk) dan homogenitas. Jika dihasilkan data yang normal dan homogen dengan harga $p > 0,05$, dilakukan uji *one way* ANOVA dengan tingkat kepercayaan 95% untuk melihat perbedaan IC_{50} beberapa varian daun kenitu. Selanjutnya, bila diperoleh hasil yang berbeda signifikan dengan harga $p < 0,05$ maka dilanjutkan dengan uji LSD (*Least Significant Difference*) (Dahlan, 2004).

3.9 Skema Prosedur Penelitian



Gambar 3.2 Skema prosedur penelitian

BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Ekstraksi

Hasil ekstraksi daun kenitu yang dilakukan dengan metode ultrasonikasi ditunjukkan dengan bobot rendemen. Rendemen adalah perbandingan antara ekstrak yang diperoleh dengan simplisia awal (Depkes RI, 2000). Tabel 4.1 menunjukkan adanya perbedaan rendemen yang dihasilkan antar varian daun kenitu karena jumlah senyawa yang terekstraksi dalam pelarut etanol 70% berbeda-beda antar varian. Besarnya rendemen menunjukkan golongan senyawa seperti total polifenol dan total flavonoid yang terekstraksi berbeda (Fatemeh *et al.*, 2012). Daun kenitu varian HL memiliki rendemen paling tinggi yaitu 14,61% sedangkan rendemen paling rendah dimiliki oleh varian MB sebesar 7,05% (Lampiran A.6).

Tabel 4.1 Rendemen hasil ekstraksi daun kenitu

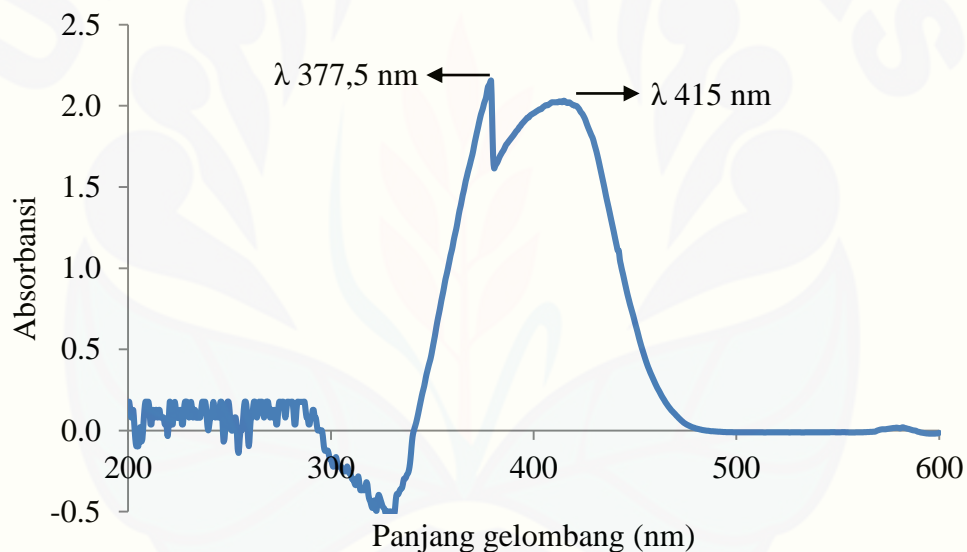
Varian Daun Kenitu	Bobot Serbuk Simplisia (g)	Bobot Ekstrak Kental (g)	Rendemen (%)
BK	100	11,05	11,05
BB	100	12,68	12,68
HL	100	14,61	14,61
MB	100	7,05	7,05

4.2 Uji Pendahuluan Reaksi Enzimatis

Uji pendahuluan reaksi enzimatis dilakukan terlebih dahulu sebelum pengujian aktivitas inhibitor α -glukosidase terhadap sampel ekstrak daun kenitu. Uji pendahuluan reaksi enzimatis bertujuan untuk mengetahui kondisi optimum dari reaksi enzimatis. Uji pendahuluan pada penelitian ini meliputi penentuan panjang gelombang maksimum, optimasi waktu inkubasi, konsentrasi enzim dan konsentrasi substrat. Selain itu, suhu inkubasi dan pH dapar yang digunakan perlu untuk dilakukan optimasi, namun pada penelitian ini tidak dilakukan karena sudah tertera

dalam informasi produk enzim yang spesifik dalam kemasan yaitu suhu inkubasi 37°C sesuai dengan suhu tubuh dan pH dapar 6,8.

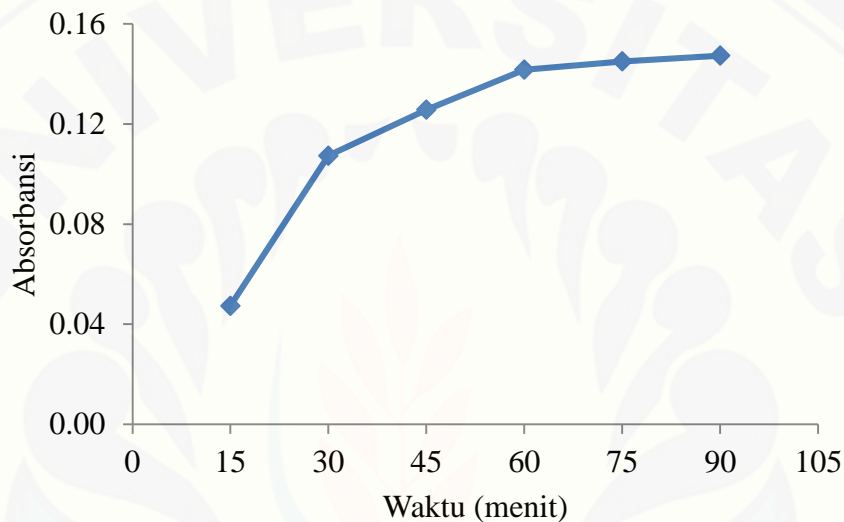
Optimasi yang pertama kali dilakukan adalah penentuan panjang gelombang maksimum pada rentang 200-600 nm (Lampiran B.1). Gambar 4.1 menunjukkan puncak spektra berada pada panjang gelombang 377,5 nm dan 415 nm dengan absorbansi masing-masing 2,119 dan 2,032. Pada penelitian ini dipilih panjang gelombang 415 nm karena mendekati panjang gelombang yang digunakan untuk uji aktivitas inhibitor α -glukosidase pada penelitian sebelumnya yaitu, 405 nm (Moradi *et al.*, 2012).



Gambar 4.1 Kurva *scanning* panjang gelombang 200-600 nm

Pada prosedur uji aktivitas inhibitor α -glukosidase terdapat dua kali waktu inkubasi. Tujuan waktu inkubasi yang pertama adalah memberikan waktu larutan untuk mencapai suhu inkubasi sedangkan inkubasi yang kedua merupakan waktu yang dibutuhkan untuk berlangsungnya reaksi enzimatik secara sempurna. Penambahan waktu inkubasi yang lebih lama, memberikan nilai absorbansi yang relatif tetap. Optimasi waktu inkubasi dilakukan pada menit ke-15 hingga ke-90

dengan selisih 15 menit (Lampiran B.2). Gambar 4.2 menunjukkan bahwa terjadi peningkatan absorbansi hingga menit ke-60. Sedangkan setelah 60 menit, absorbansi tidak berubah secara signifikan dan memberikan kurva *steady state*, artinya reaksi enzimatis berlangsung hampir sempurna pada waktu 60 menit. Oleh karena itu, dipilih waktu inkubasi 60 menit untuk pengujian aktivitas inhibitor α -glukosidase selanjutnya.

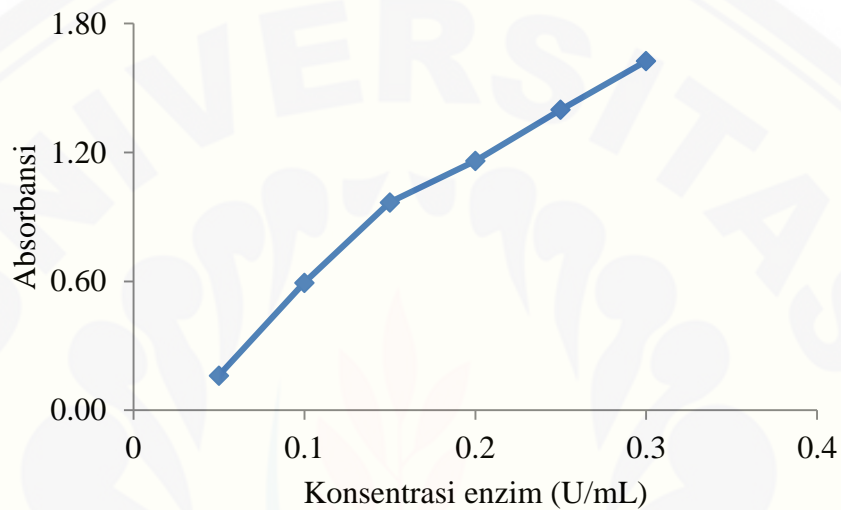


Gambar 4.2 Kurva hasil optimasi waktu inkubasi

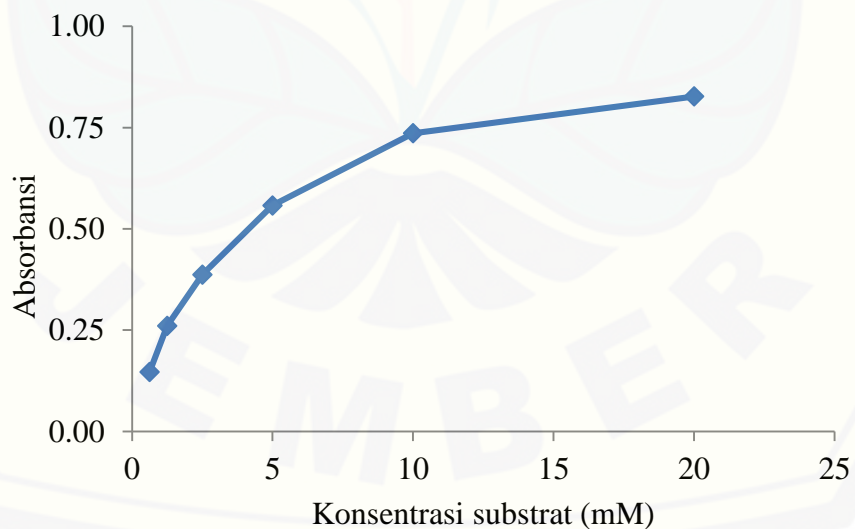
Berikutnya dilakukan optimasi konsentrasi enzim dengan variasi konsentrasi 0,05; 0,1; 0,15; 0,2; 0,25 dan 0,3 U/mL (Lampiran B.3). Penentuan konsentrasi enzim bertujuan untuk mencari nilai absorbansi dengan rentang 0,2-0,8. Rentang tersebut dipilih karena kesalahan pembacaan alat *microplate reader* hanya 0,5% (Gandjar dan Rohman, 2007). Gambar 4.3 menunjukkan bahwa konsentrasi enzim 0,1 U/mL memberikan nilai absorbansi antara 0,2-0,8 yaitu 0,594 sehingga pada uji aktivitas inhibitor α -glukosidase selanjutnya digunakan konsentrasi enzim 0,1 U/mL.

Optimasi terakhir adalah penentuan konsentrasi substrat pada variasi konsentrasi 0,625; 1,25; 2,5; 5; 10 dan 20 mM (Lampiran B.4). Gambar 4.4 menunjukkan bahwa pada konsentrasi substrat 10 mM hingga 20 mM memberikan absorbansi yang tidak berubah secara signifikan karena kurva mulai *steady state*

artinya hampir seluruh sisi aktif enzim ditempati oleh substrat dan hampir tidak ada produk yang dihasilkan walaupun konsentrasi substrat ditingkatkan. Dengan demikian, dipilih konsentrasi substrat 10 mM untuk enzim 0,1 U/mL pada uji aktivitas inhibitor α -glukosidase selanjutnya.



Gambar 4.3 Kurva hasil optimasi konsentrasi enzim



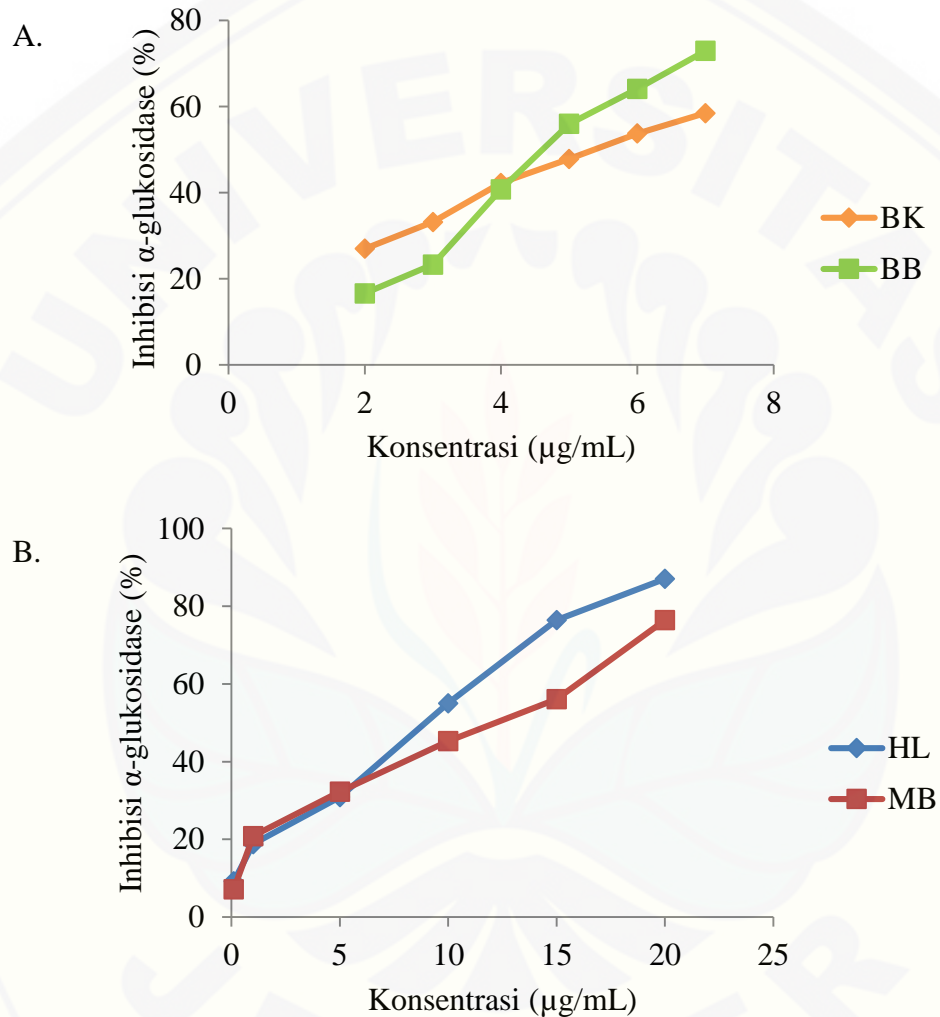
Gambar 4.4 Kurva hasil optimasi konsentrasi substrat

4.3 Uji Aktivitas Inhibitor α -Glukosidase

Uji aktivitas inhibitor α -glukosidase dilakukan pada panjang gelombang maksimum 415 nm dengan waktu inkubasi 60 menit dan konsentrasi enzim 0,1 U/mL serta konsentrasi substrat 10 mM, sesuai dengan hasil uji pendahuluan reaksi enzimatis sebelumnya. Uji aktivitas inhibitor α -glukosidase pada ekstrak daun kenitu berbagai varian dilakukan terlebih dahulu pada rentang konsentrasi besar yaitu 1.000, 100, 50, 25, 10, 1, dan 0,1 $\mu\text{g/mL}$ dalam larutan dapar pH 6,8 untuk mengetahui rentang konsentrasi yang akan digunakan dalam menghitung IC_{50} . Hasil uji tersebut menunjukkan varian BK dan BB dari ekstrak daun kenitu memiliki inhibisi 100% hingga konsentrasi 25 $\mu\text{g/mL}$ sedangkan varian HL dan MB memberikan inhibisi 100% hingga konsentrasi 50 $\mu\text{g/mL}$. Oleh karena itu, dilakukan pengenceran larutan uji dengan konsentrasi 7, 6, 5, 4, 3, dan 2 $\mu\text{g/mL}$ untuk varian BK dan BB, sedangkan varian HL dan MB dilakukan pengenceran larutan uji 20, 15, 10, 5, 1, dan 0,1 $\mu\text{g/mL}$. Pengenceran larutan uji masing-masing varian daun kenitu berbeda karena pada konsentrasi 25 $\mu\text{g/mL}$ varian BK dan BB memberikan inhibisi 100% sehingga konsentrasi pengenceran lebih besar daripada varian HL dan MB. Sedangkan uji aktivitas inhibitor α -glukosidase standar akarbose sebagai kontrol positif pada konsentrasi 1.000 $\mu\text{g/mL}$ menunjukkan tidak adanya hambatan sehingga dilakukan pembuatan larutan uji standar akarbose dengan konsentrasi lebih besar yaitu 2.500, 5.000, 7.500, 10.000, 15.000, dan 20.000 $\mu\text{g/mL}$.

Hasil uji aktivitas inhibitor α -glukosidase ditunjukkan dengan nilai IC_{50} (*inhibition concentration 50*). IC_{50} adalah konsentrasi sampel atau standar yang dibutuhkan untuk menghambat 50% enzim α -glukosidase. Jadi, semakin kecil nilai IC_{50} , semakin besar aktivitas inhibitor α -glukosidase. Gambar 4.5 menunjukkan profil inhibitor α -glukosidase ekstrak etanol 70% antar varian daun kenitu. Kurva memberikan bentuk yang linier sehingga digunakan persamaan regresi linier untuk menghitung nilai IC_{50} aktivitas inhibitor α -glukosidase. Gambar 4.6 menunjukkan perbedaan nilai IC_{50} yang signifikan antar varian daun kenitu ($p < 0,05$) (Lampiran C.1-C.4 dan D). Artinya, varian daun kenitu mempengaruhi aktivitas inhibitor α -

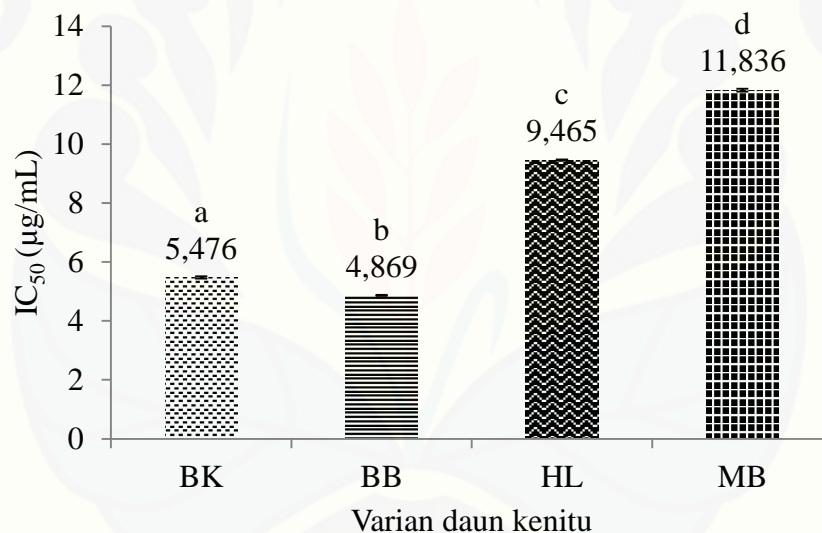
glukosidase. Aktivitas inhibitor α -glukosidase terbesar hingga terkecil berturut turut adalah ekstrak daun kenitu varian BB, BK, HL, dan MB. Akarbose juga memberikan nilai IC_{50} yang berbeda signifikan dibandingkan semua sampel namun, tidak diikutsertakan dalam uji statistik karena perbedaan nilainya yang sangat jauh.



Gambar 4.5 Kurva inhibisi α -glukosidase daun kenitu (A) varian BK dan BB (B) Varian HL dan MB

Standar akarbose digunakan sebagai kontrol positif dalam uji aktivitas inhibitor α -glukosidase karena akarbose merupakan salah satu obat antidiabetes golongan inhibitor α -glukosidase yang digunakan di Indonesia. Nilai IC_{50} akarbose

pada penelitian ini adalah $6.475 \pm 65 \mu\text{g/mL}$ (Lampiran C.5). Nilai tersebut jauh berbeda dengan IC_{50} sampel sesuai dengan hasil penelitian sebelumnya yang melaporkan bahwa akarbose memiliki $\text{IC}_{50} > 1000 \mu\text{g/mL}$ (Shinde *et al.*, 2008; Schäfer dan Högger, 2007). Shinde *et al.* (2008) dan Kim *et al.* (2008) melaporkan bahwa akarbose tidak dapat menghambat enzim α -glukosidase yang berasal dari *yeast Saccharomyces cerevisiae* seperti yang digunakan pada penelitian ini. Akarbose lebih efektif menghambat enzim yang berasal dari mamalia seperti usus tikus. Oleh karena itu, nilai IC_{50} akarbose pada penelitian ini sangat besar. Dengan demikian, disarankan untuk penelitian inhibitor α -glukosidase selanjutnya dilakukan dengan menggunakan sumber enzim α -glukosidase yang berasal dari mamalia, seperti usus tikus.



Gambar 4.6 Grafik IC_{50} aktivitas inhibitor α -glukosidase dari empat varian daun kenit. Data berupa rata-rata $\text{IC}_{50} \pm \text{SD}$. Nilai a, b, c, dan d berbeda signifikan ($p < 0,05$) berdasarkan uji annova-LSD. *Data akarbose tidak ditampilkan karena memiliki nilai IC_{50} yang jauh lebih tinggi dibandingkan sampel yaitu $6.475 \pm 65 \mu\text{g/mL}$.

Enzim α -glukosidase dibagi dalam dua tipe, yaitu I dan II. Enzim α -glukosidase I berasal dari bakteri, *yeast*, dan serangga, sedangkan enzim α -glukosidase II berasal dari *mold*, tumbuhan, dan mamalia. Perbedaan tersebut berdasarkan spesifisitas dari substrat yang digunakan. Enzim α -glukosidase I

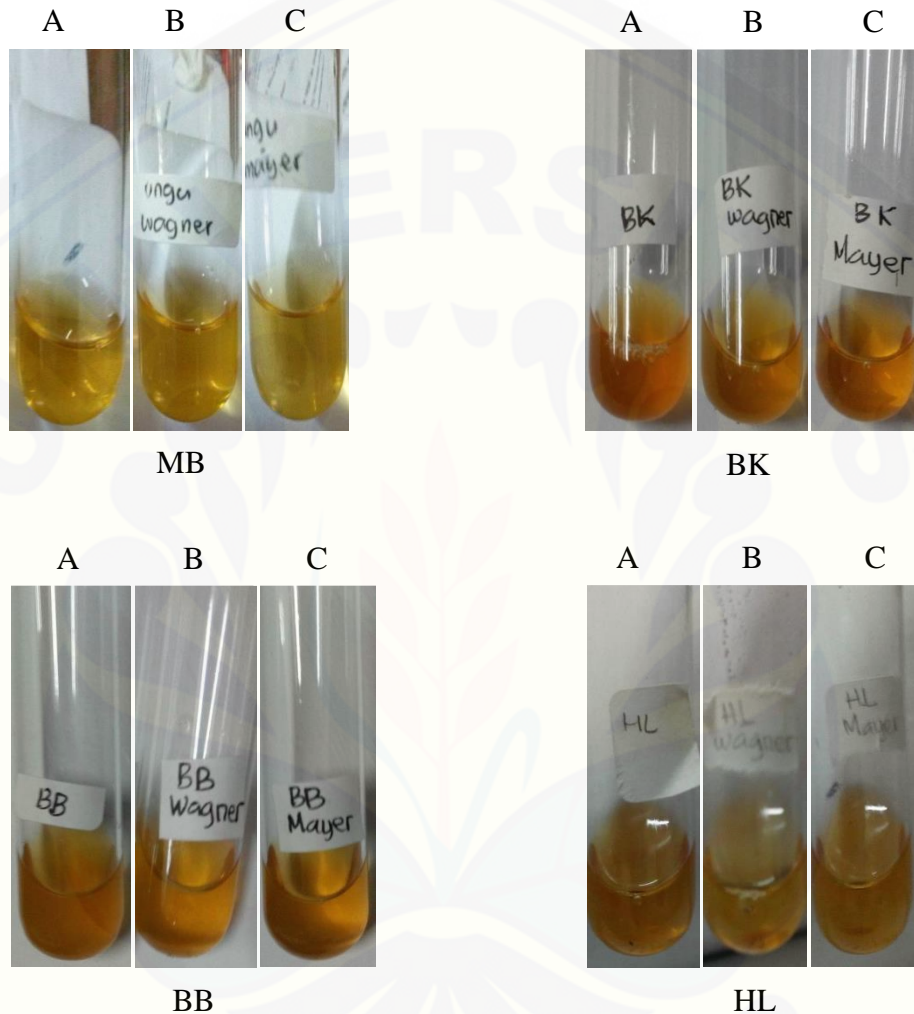
memiliki aktivitas lebih tinggi terhadap pemecahan substrat heterogen, seperti PNPG dan sukrosa daripada substrat homogen, seperti maltooligosakarida, sedangkan enzim α -glukosidase II memiliki aktivitas lebih tinggi terhadap pemecahan substrat homogen daripada substrat heterogen (Kimura, 2000). Enzim α -glukosidase I mengenali struktur glikosil sedangkan enzim α -glukosidase II mengenali struktur maltosil. Akarbose memiliki struktur maltosil sehingga lebih dikenali enzim α -glukosidase II daripada enzim α -glukosidase I (Kimura *et al.*, 2004). Pada penelitian ini digunakan enzim α -glukosidase I yang berasal dari *yeast Saccharomyces cerevisiae* sehingga akarbose tidak dapat menghambat enzim tersebut.

4.4 Skrining Fitokimia

Penapisan fitokimia dilakukan pada golongan senyawa alkaloid, saponin, steroid, triterpenoid, flavonoid, dan fenolik. Hasil penapisan fitokimia sampel ekstrak etanol 70% daun kenitu berbagai varian dapat dilihat pada Gambar 4.7- 4.13 dan Tabel 4.2. Semua varian daun kenitu mengandung golongan senyawa saponin, triterpenoid, flavonoid, fenolik dan tidak mengandung golongan senyawa steroid dan alkaloid. Hal ini sama dengan yang dilaporkan Shailajan dan Gurjar (2014) bahwa tidak ditemukan senyawa alkaloid pada ekstrak metanol daun kenitu. Namun tidak sesuai dengan hasil penelitian Koffi *et al.* (2009^b) yang melaporkan bahwa terdapat golongan senyawa alkaloid pada ekstrak air daun kenitu. Faktor yang dapat menyebabkan perbedaan tersebut adalah lingkungan tempat tumbuh yang berbeda. Sahputra (2008) melaporkan bahwa ekstrak kulit buah salak yang berasal dari Yogyakarta mengandung senyawa golongan tanin sedangkan ekstrak kulit buah salak yang berasal dari Balikpapan tidak mengandung golongan senyawa tanin.

Beberapa penelitian telah melaporkan bahwa golongan senyawa metabolit sekunder dalam tumbuhan memiliki peran penting dalam memberikan aktivitas inhibitor α -glukosidase. Golongan senyawa tersebut adalah alkaloid dari batang *Tinospora cordifolia* (Patel dan Mishra, 2012), triterpenoid dari daun dan ranting *Fagus hayatae* (Lai *et al.*, 2012), polifenol seperti flavonoid (Tadera *et al.*, 2006;

Phan *et al.*, 2013; Matsui *et al.*, 2007; Cheng *et al.*, 2014), proantosianidin (Lee *et al.*, 2006), asam fenolat, dan ellagitanin (Hanhineva *et al.*, 2010).



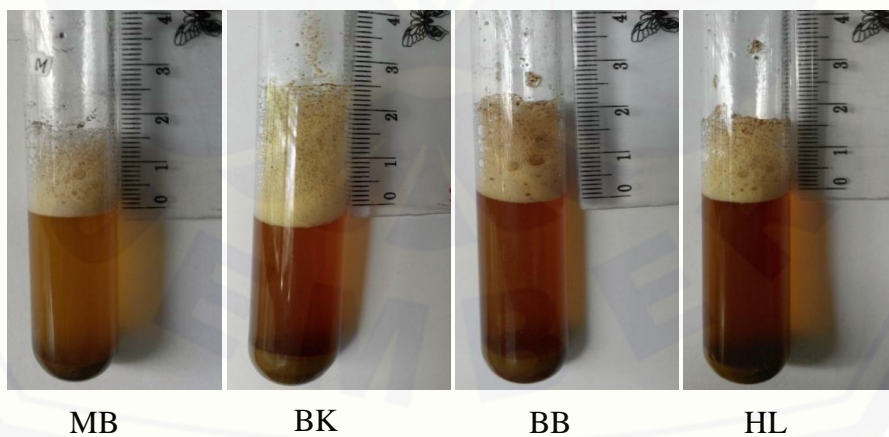
Gambar 4.7 Hasil skrining fitokimia senyawa alkaloid. (A) Blanko/tanpa penambahan pereaksi (B) Pada penambahan pereaksi Wagner tidak terbentuk endapan (C) Pada penambahan pereaksi Mayer tidak terbentuk endapan. Hal tersebut menunjukkan bahwa ekstrak tidak mengandung alkaloid.

Gugus hidroksil dari senyawa geraldon (flavonoid) menempati sisi aktif enzim α -glukosidase. Interaksi yang terjadi diperantarai oleh ikatan hidrogen dari gugus hidroksil senyawa geraldon dengan residu asam amino Asp 329 dan Arg 415 enzim α -glukosidase (Gambar 4.14). Interaksi tersebut menyebabkan aktivitas enzim α -

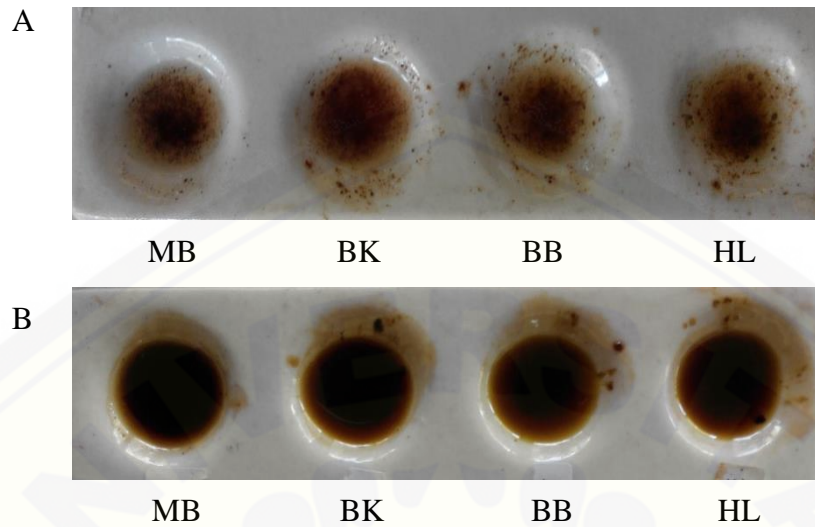
glukosidase terhambat sehingga tidak terjadi pemecahan oligosakarida menjadi monosakarida (Ahmed *et al.*, 2014). Gugus hidroksil dari senyawa flavonoid berperan



Gambar 4.8 Hasil skrining fitokimia senyawa alkaloid metode KLT. Pada lempeng setelah diberi penampak noda larutan dragendorf tidak terdapat noda jingga. Hal tersebut menunjukkan bahwa ekstrak tidak mengandung alkaloid.



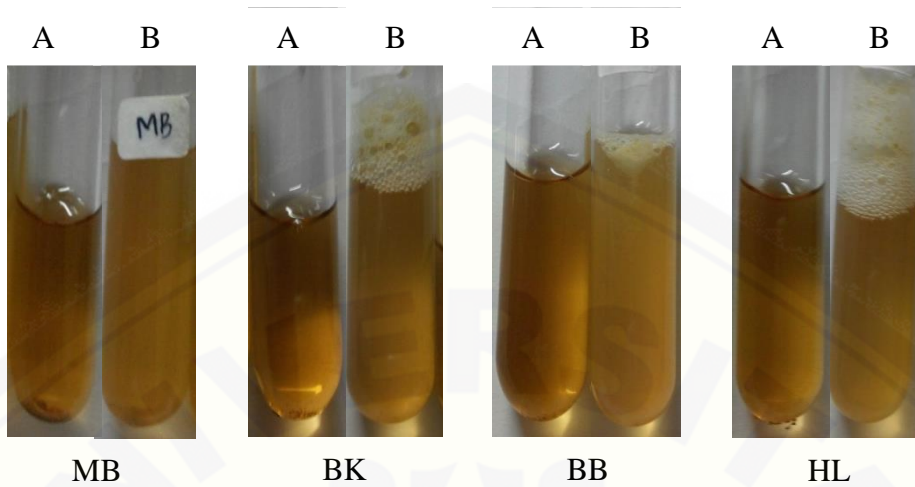
Gambar 4.9 Hasil skrining fitokimia senyawa saponin. Setelah dikocok ± 30 detik, terbentuk busa yang stabil dengan ketinggian lebih dari 1 cm dan tidak hilang setelah ditetesi HCl 2N menunjukkan ekstrak mengandung senyawa saponin.



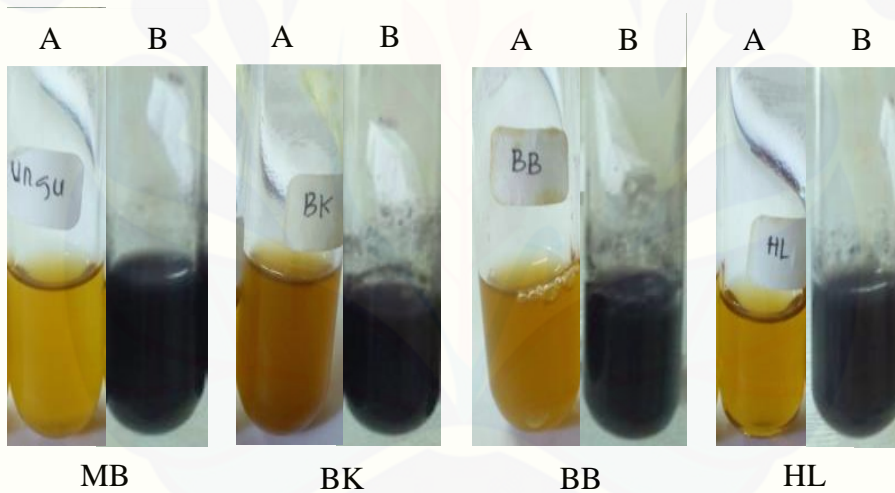
Gambar 4.10 Hasil skrining fitokimia senyawa triterpenoid. (A) Blanko/tanpa penambahan pereaksi (B) Setelah penambahan CH_3COOH dan H_2SO_4 pekat, terjadi perubahan warna merah menunjukkan ekstrak mengandung senyawa triterpenoid.



Gambar 4.11 Hasil skrining fitokimia senyawa flavonoid metode KLT. Pada lempeng setelah diberi penampak noda sitroborat terdapat noda kuning. Hal tersebut menunjukkan bahwa ekstrak mengandung flavonoid.



Gambar 4.12 Hasil skrining fitokimia senyawa flavonoid. (A) Blanko/tanpa penambahan pereaksi (B) Setelah penambahan serbuk Mg dan HCl pekat terjadi perubahan warna kuning menunjukkan ekstrak mengandung senyawa flavonoid.

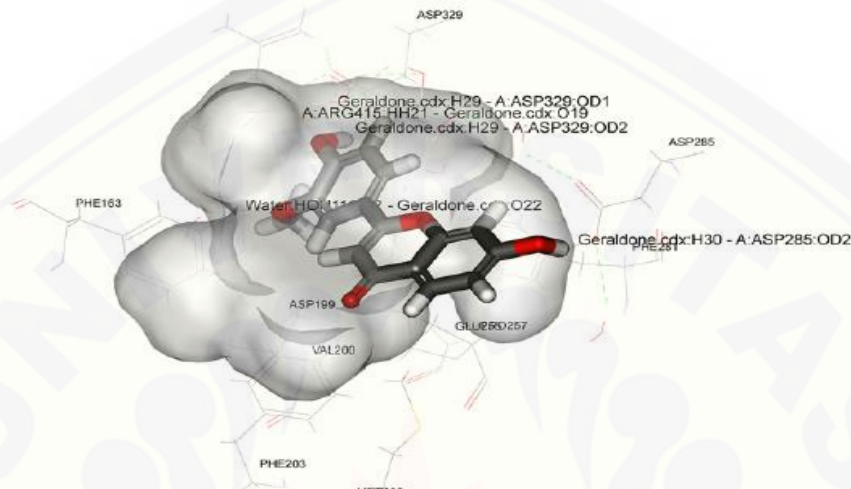


Gambar 4.13 Hasil skrining fitokimia senyawa fenolik. (A) Blanko/tanpa penambahan pereaksi (B) Setelah penambahan $FeCl_3$ terjadi perubahan warna hitam menunjukkan ekstrak mengandung senyawa fenolik.

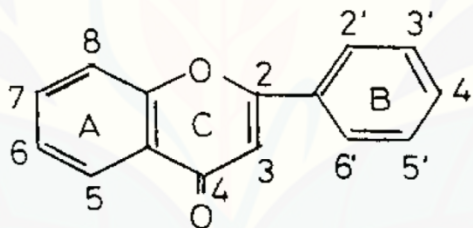
Tabel 4.2 Hasil skrining golongan senyawa metabolit sekunder dalam ekstrak daun kenitu varian BK, BB, HL dan MB.

Metabolit Sekunder	Varian Daun Kenitu			
	BK	BB	HL	MB
Alkaloid	-	-	-	-
Saponin	+	+	+	+
Triterpenoid	+	+	+	+
Flavonoid	+	+	+	+
Fenolik	+	+	+	+

penting dalam menghambat aktivitas enzim α -glukosidase. Substitusi gugus hidroksil pada cincin B dari senyawa flavonoid (Gambar 4.15) dapat meningkatkan aktivitas inhibitor enzim α -glukosidase (Tadera *et al.*, 2006).

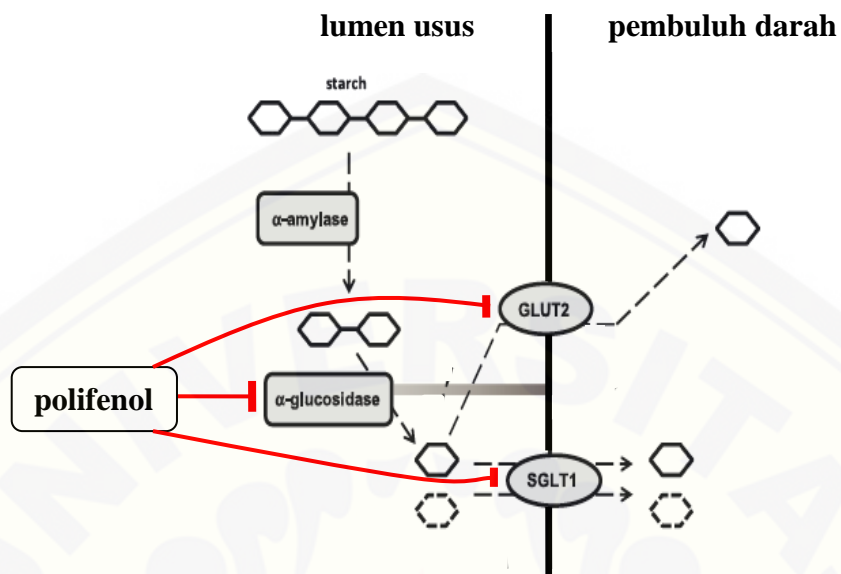


Gambar 4.14 Senyawa geraldone (golongan flavonoid) menempati sisi aktif enzim α -glukosidase (Ahmed *et al.*, 2014).



Gambar 4.15 Struktur senyawa flavonoid (Tadera *et al.*, 2006)

Oligosakarida dipecah oleh enzim α -glukosidase dalam lumen usus menjadi monosakarida seperti glukosa (Sim *et al.*, 2010). Hasil pemecahan tersebut dibawa oleh transporter dari lumen usus menuju pembuluh darah (Scheepers *et al.*, 2004). Senyawa polifenol juga berperan dalam menghambat transporter glukosa seperti GLUT2 dan SGLT1 (Gambar 4.16) (Hanhineva *et al.*, 2010). Jadi, jika ekstrak mengandung polifenol, terdapat dua keuntungan, yaitu tidak hanya menghambat enzim α -glukosidase tetapi, juga menghambat transporter glukosa sehingga dapat menurunkan kadar glukosa darah.



Gambar 4.16 Polifenol menghambat enzim α -glukosidase, GLUT2, dan SGLT1 (Williamson, 2013 dengan modifikasi).

Perbedaan nilai IC_{50} yang signifikan antar varian daun kenitu dikarenakan perbedaan kandungan senyawa. Walaupun dari hasil kualitatif skrining fitokimia memiliki persamaan antar varian yaitu tidak mengandung alkaloid, steroid dan mengandung saponin, triterpenoid, flavonoid, serta fenolik, namun jenis dan kadar senyawa yang menyumbang aktivitas inhibitor α -glukosidase dapat berbeda-beda. Varian tumbuhan yang berbeda berpengaruh terhadap jenis dan jumlah zat berkhasiat sebagai inhibitor α -glukosidase yang dihasilkan (Babu *et al.*, 2012).

Hikmah (2015) melaporkan fraksi etanol daun kenitu varian BK, BB, HL, dan MB memberikan rata-rata IC_{50} dari 3 kali pengujian berturut-turut adalah $0,285 \pm 0,005 \mu\text{g/mL}$; $0,287 \pm 0,005$; $0,280 \pm 0,003$; dan $0,932 \pm 0,015 \mu\text{g/mL}$. IC_{50} terkecil hingga terbesar berturut-turut adalah $HL \leq BB \leq BK < MB$. Sedangkan Putri (2015) melaporkan fraksi etil asetat daun kenitu varian BK, BB, HL, dan MB memberikan IC_{50} berturut-turut adalah $0,372 \pm 0,003 \mu\text{g/mL}$; $0,352 \pm 0,001$; $0,327 \pm 0,002$; dan $0,185 \pm 0,002 \mu\text{g/mL}$. IC_{50} terkecil hingga terbesar berturut-turut adalah $MB < HL < BB < BK$. Berdasarkan hasil tersebut, ekstrak etanol dan fraksinya memiliki nilai IC_{50} yang berbeda-beda (Tabel 4.3). IC_{50} fraksi etanol dan fraksi etil asetat daun

kenitu lebih kecil daripada ekstrak etanol daun kenitu, artinya aktivitas inhibitor α -glukosidase fraksi etanol dan fraksi etil asetat daun kenitu lebih besar daripada ekstrak etanol daun kenitu. Perbedaan tersebut dikarenakan dalam konsentrasi yang sama antara ekstrak etanol dan fraksinya, senyawa yang diduga memberikan aktivitas inhibitor α -glukosidase lebih pekat pada fraksinya, sehingga aktivitas inhibitor α -glukosidase pada fraksi lebih besar. Hal tersebut sesuai dengan penelitian yang dilakukan Siana (2015) bahwa fraksi etanol dan etil asetat dari kulit buah maja (*Aegle marmelos* (L.) Correa) memiliki aktivitas inhibitor α -glukosidase yang lebih besar daripada ekstrak etanol. Pada Tabel 4.3 dapat dilihat bahwa varian MB pada ekstrak etanol dan fraksi etanol memiliki IC_{50} terbesar daripada varian yang lain.

Tabel 4.3 Hasil IC_{50} inhibitor α -glukosidase ekstrak etanol daun kenitu, fraksi etanol daun kenitu, dan fraksi etil asetat daun kenitu.

Varian Daun Kenitu	IC_{50} rata-rata \pm SD ($\mu\text{g/mL}$)		
	Ekstrak etanol	Fraksi etanol (Hikmah, 2015)	Fraksi etil asetat (Putri, 2015)
BK	5,476 \pm 0,039	0,285 \pm 0,005	0,372 \pm 0,003
BB	4,869 \pm 0,018	0,287 \pm 0,005	0,352 \pm 0,001
HL	9,465 \pm 0,012	0,280 \pm 0,003	0,327 \pm 0,002
MB	11,836 \pm 0,048	0,932 \pm 0,015	0,185 \pm 0,002

*pengukuran IC_{50} dilakukan tiga kali replikasi

Hasil tersebut berkebalikan dengan fraksi etil asetat bahwa varian MB memiliki IC_{50} terkecil daripada varian yang lain. Perbedaan tersebut dimungkinkan karena perbedaan kandungan senyawa pada ekstrak etanol, fraksi etanol, dan fraksi etil asetat daun kenitu. Ekstrak etanol dan fraksi etanol daun kenitu tidak mengandung senyawa steroid sedangkan fraksi etil asetat mengandung senyawa steroid. Senyawa yang diduga lebih berperan dalam memberikan aktivitas inhibitor α -glukosidase pada fraksi etil asetat adalah senyawa steroid. Oleh karena itu, disarankan untuk melakukan penelitian lebih lanjut dengan mengisolasi senyawa aktif yang diduga memberikan aktivitas inhibitor α -glukosidase.

BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa:

1. Sampel ekstrak etanol 70% daun kenitu semua varian mempunyai aktivitas inhibitor α -glukosidase dengan nilai IC_{50} terkecil hingga terbesar berturut-turut adalah BB ($4,869 \pm 0,018 \mu\text{g/mL}$), BK ($5,476 \pm 0,039 \mu\text{g/mL}$), HL ($9,465 \pm 0,012 \mu\text{g/mL}$), dan MB ($11,836 \pm 0,048 \mu\text{g/mL}$).
2. Semua varian ekstrak etanol 70% daun kenitu memiliki perbedaan aktivitas inhibitor α -glukosidase yang signifikan satu sama lain melalui uji LSD ($p < 0,05$).
3. Golongan senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak etanol 70% daun kenitu semua varian adalah saponin, terpenoid, flavonoid dan fenolik, namun tidak mengandung alkaloid.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian ini, perlu dilakukan uji lebih lanjut dengan menggunakan enzim α -glukosidase yang berasal dari mamalia, mengingat perbedaan kemampuan penghambatan masing-masing obat terhadap sumber enzim yang digunakan. Selain itu, perlu dilakukan isolasi senyawa aktif yang diduga memberikan kemampuan sebagai inhibitor α -glukosidase, seperti polifenol, flavonoid, steroid.

DAFTAR PUSTAKA

- ADA. *Diabetes Basics* [on line]. <http://www.diabetes.org/diabetes-basics/>. [diakses tanggal 14 Januari 2015].
- Ahmed, D., Kumar, V., Sharma, M., & Verma, A. 2014. Target Guided Isolation, In Vitro Antidiabetic, Antioxidant Activity and Molecular Docking Studies of Some Flavonoids from *Albizia Lebbeck Benth.* Bark. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 14 (55): 1-12.
- Babu, M.A., Suriyakala, M. A., & Gothandam, K. M. 2012. Varietal Impact on Phytochemical Contents and Antioxidant Properties of *Musa acuminata* (Banana). *Journal of Pharmaceutical Science and Research*. 4 (10): 1950-1955.
- Bayer HealthCare Pharmaceutical. 2010. *Precose (Tablet Acarbose)*. Germany: Bayer HealthCare Pharmaceutical Inc.
- Boyce, S. & Tipton, K. F. 2001. Enzyme Classification and Nomenclature. *Encyclopedia of Life Sciences*. 2001: 1-11.
- Cheng, N., Yi, W. B., Wang, Q. Q., Peng, S. M., & Zou, X. Q. 2014. Synthesis and α -Glucosidase Inhibitory Activity of Chrysin, Diosmetin, Apigenin, and Luteolin Derivatives. *Chinese Chemical Letters*. 25: 1094–1098.
- Coe, F. G. & Anderson, G. J. 1996. Ethnobotany of the Garifuna of Eastern Nicaragua. *Economic Botany*. 50: 71-107.
- Dahlan, M. S. 2004. *Statistika untuk Kedokteran dan Kesehatan: Uji Hipotesis dengan menggunakan SPSS Seri 1: Evidence Based Medicine*. Jakarta: Arkans Entertainment and Education in Harmony.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1989. *Materia Medika Indonesia* Edisi V. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1995. *Farmakope Indonesia* Edisi IV. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta: Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan.

- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2005. *Pharmaceutical Care untuk Penyakit Diabetes Melitus*. Jakarta: Direktorat Jendral Bina Farmasi Republik Indonesia.
- Departemen Farmakologi dan Terapeutik FKUI. 2009. *Farmakologi dan Terapi Edisi 5*. Jakarta: Balai Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Dipiro, J. T., Talbert, R. L., Yee, G. C., Matzke, G. R., Wells, B. G., & Posey, L. M. 2008. *Pharmacotherapy: A Pathophysiologic Approach Seventh Edition*. New York: The McGraw-Hill Companies. Inc.
- Dyer, J., Wood, I. S., Palejwala, A., Ellis, A., & Shirazi-Beechey, S. P. 2002. Expression of Monosaccharide Transporters in Intestine of Diabetic Humans. *American Journal of Physiology Gastrointestinal and Liver Physiology*. 282: G241-G248.
- Fatemeh, S. R., Saifullah, R., Abbas, F. M. A., & Azhar, M. E. 2012. Total Phenolics, Flavonoids and Antioxidant Activity of Banana Pulp and Peel Flours: Influence of Variety and Stage of Ripeness. *International Food Research Journal*. 19 (3): 1041-1046.
- Febrinda, A. E., Astawan, M., Wresdiyati, T., & Yuliana, N. D. 2013. Kapasitas Antioksidan dan Inhibitor Alfa Glukosidase Ekstrak Umbi Bawang Dayak. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*. 24 (2): 161-167.
- Gandjar, I.G. & Rohman, A. 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar Yogyakarta.
- Guzman-Maldonado, H. & Paredes-Lopez, O. 1995. Amylolytic Enzymes and Products Derived from Starch: a Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 35 (5): 373-403.
- Hanhineva, K., Törrönen, R., Bondia-Pons, I., Pekkinen, J., Kolehmainen, M., Mykkänen, H., & Poutanen, K. 2010. Impact of Dietary Polyphenols on Carbohydrate Metabolism. *International Journal of Molecular Sciences*. 11: 1365-1402.
- Harborne, J. 1996. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Bandung: Penerbit Institut Teknologi Bandung.

- Heera, P., Inbathamizh, L., & Ramachandran, J. 2014. An *Invitro* Study on Antidiabetic Activity of Different Solvent Extract from *Alpinia galanga*. *International Journal of Ethnomedicine and Pharmacological Research*. 2 (1): 1-10.
- Heyne, K. 1987. *Tumbuhan Berguna Indonesia* Jilid III. Jakarta: Badan Litbang Kehutanan Jakarta.
- Hidayat, M. A., Umiyah & Ulfa, E. U. 2007. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Air dan Ekstrak Metanol Beberapa Varian Buah Kenitu (*Chrysophyllum cainito* L.) dari Daerah Jember. *Berkala Penelitian Hayati*. 13: 45–50.
- Hikmah, Z. 2015. Uji Aktivitas Inhibitor Alfa-Glukosidase Fraksi Etanol Daun Kenitu (*Chrysophyllum cainito* L.) Berbagai Varian dari Daerah Jember. *Fakultas Farmasi Universitas Jember*.
- IDF (International Diabetes Federation). 2014. *IDF Diabetes Atlas 6th Edition* [on line]. http://www.idf.org/sites/default/files/Atlas-poster-2014_EN.pdf. [diakses tanggal 16 April 2015].
- Kikkoman. 2001. *α -Glucosidase (α GLS-SE) from Recombinant E.coli* [on line]. <http://202.239.155.79/bio/j/rinsyou/images/pdf/27alphaglsse.pdf>. [diakses tanggal 8 Februari 2015].
- Kim, K. Y., Nama, K. A., Kurihara, H., & Kim, S. M. 2008. Potent α -Glucosidase Inhibitors Purified from The Red Alga *Grateloupia elliptica*. *Phytochemistry*. 69: 2820-2825.
- Kimura, A. 2000. Molecular Anatomy of α -Glucosidase. *Trends in Glycoscience and Glycotechnology*. 12 (68): 373-380.
- Kimura, A., Lee, J. H., Lee, I. S., Lee, H. S., Park, K. H., Chiba, S., & Kim, D. 2004. Two Potent Competitive Inhibitors Discriminating α -Glucosidase Family I from Family II. *Carbohydrate Research*. 339 (6): 1035-1040.
- Koffi, N., Édouard, K. K., & Kouassi, K. 2009^a. Ethnobotanical Study of Plants Used to Treat Diabetes, in Traditional Medicine, by Abbey and Krobou People of Agboville (Côte-d'Ivoire). *American Journal of Scientific Research*. 4: 45-58.

- Koffi, N., Ernest, A. K., Marie-Solange, T., Beugre, K., & Noel, Z. G. 2009^b. Effect of Aqueous Extract of *Chrysophyllum cainito* Leaves on The Glycaemia of Diabetic Rabbits. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 3 (10): 501-506.
- Lai, Y. C., Chen, C. K., Tsai, S. F., & Lee, S. S. 2012. Triterpenes as α -Glucosidase Inhibitors from *Fagus hayatae*. *Phytochemistry*. 74: 206-211.
- Luo, X. D., Basile, M. J., & Kennelly, E. J. 2002. Polyphenolic Antioxidant from The Fruits of *Chrysophyllum cainito* L. (Star Apple). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 50 (6): 1379-1382.
- Lee, Y. A., Cho, E. J., Tanaka, T., & Yokozawa, T. 2006. Inhibitory Activities of Proanthocyanidins from Persimmon against Oxidative Stress and Digestive Enzymes Related to Diabetes. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*. 53: 287-292.
- Mataputun, S.P., Rorong, J. A., & Pontoh, J. 2013. Aktivitas Inhibitor α -Glukosidase Ekstrak Kulit Batang Matoa (*Pometia pinnata*. Spp.) sebagai Agen Antihiperlikemik. *Jurnal mipa Unsrat Online*. 2 (2): 119-123.
- Matsui, T., Tanaka, T., Tamura, S., Toshima, A., Tamaya, K., Miyata, Y., Tanaka, K., & Matsumoto, K. 2007. α -Glucosidase Inhibitory Profile of Catechins and Theaflavins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 55 (1): 99-105.
- Moradi-Afrapoli, F., Asghari, B., Saeidnia, S., Ajani, Y., Mirjani, M., Malmir, M., Bazaz, R.D., Hadjiakhoondi, A., Salehi, P., Hamburger, M., & Yassa, N. 2012. *In Vitro* α -Glukosidase Inhibitory Activity of Phenolic Constituent from Aerial Parts of *Polygonum hyrcanicum*. *DARU Journal of Pharmaceutical Sciences*. 20 (37): 1-6.
- Morton J. 1987. Star Apple, in: Morton, J., *Fruits of Warm Climates*, Miami Florida. 408-410 [on line]. <http://www.hort.purdue.edu/newcrop/morton/starapple.html>. [diakses tanggal 14 Januari 2015].
- Mycek, M. J., Harvey, R. A., & Champe, P. C. 2001. *Farmakologi Ulasan Bergambar Edisi 2*. Alih bahasa oleh Azwar Agoes dan Huriawati Hartanto. Jakarta: Widya Medika.

- Oboh, G., Akinyemi, A.J., & Ademiluyi, A.O. 2012. Inhibition of α -Amylase and α -Glucosidase Activities by Ethanolic Extract of *Telfairia occidentalis* (Fluted Pumpkin) Leaf. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. 2 (9): 733-738.
- Orwa, C., Mutua, A., Kindt, R., Jamnadass, R., & Simons, A. 2009. Agroforestry Database: A Tree Reference and Selection Guide Version 4.0. 1-6 [on line]. <http://www.worldagroforestry.org/af/treedb/>. [diakses tanggal 14 Januari 2015].
- Pasaribu, F., Sitorus, P., & Bahri, S. 2012. The Test of Ethanol Extract of Mangosteen Rind (*Garcinia mangostana* L.) to Decrease Blood Glucose Level. *Journal of Pharmaceutics and Pharmacology*. 1 (1): 1-8.
- Patel, M. B. & Mishra, S. M. 2012. Magnoflorine from *Tinospora cordifolia* Stem Inhibits α -Glucosidase and is Antiglycemic in Rats. *Journal of Functional Food*. 4 (1): 79-86.
- Phan, M. A. T., Wang, J., Tang, J., Lee, Y. Z., & Ng, K. 2013. Evaluation of α -Glucosidase Inhibition Potential of Some Flavonoids from *Epimedium brevicornum*. *LWT - Food Science and Technology*. 53: 492-498.
- Price, S. A. & Wilson, L. M. 2012. *Patofisiologi: Konsep Klinis Proses-Proses Penyakit* Edisi 6. Alih bahasa oleh Brahm U. Pendi, Huriawati Hartanto, Pita Wulansari, dan Dewi Asih Mahanani. Jakarta: EGC.
- Putri, L. A. 2015. Uji Inhibitor Enzim Alfa-Glukosidase Fraksi Etil Asetat Beberapa Varian Daun Kenitu (*Chrysophyllum cainito* L.) Daerah Jember sebagai Antidiabetes. *Fakultas Farmasi Universitas Jember* [belum dipublikasikan].
- Rosak, C. & Mertes, G. 2012. Critical Evaluation of The Role of Acarbose in The Treatment of Diabetes: Patient Considerations. *Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy*. 5: 357-367.
- Sahputra, F. M. 2008. Potensi Ekstrak Kulit dan Daging Buah Salak sebagai Antidiabetes. *Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Pertanian Bogor*.
- Sama, K., Murugesan, K., & Sivaraj, R. 2012. *Invitro* Alpha Amylase and Alpha Glucosidase Inhibition Activity of Crude Ethanol Extract of *Cissampelos arnottiana*. *Asian Journal of Plant Science and Research*. 2 (4): 550-553.

- Schäfer, A. & Högger, P. 2007. Oligomeric Procyanidins of French Maritime Pine Bark Extract (Pycnogenol®) Effectively Inhibit α -Glucosidase. *Diabetes Research and Clinical Practice*. 77 (1): 41-46.
- Scheepers, A., Joost, H. G., & Schurmann, A. 2004. The Glucose Transporter Families SGLT and GLUT: Molecular Basis of Normal and Aberrant Function. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition*. 28 (5): 364-371.
- Shailajan, S. & Gurjar, D. 2014. Pharmacognostic and Phytochemical Evaluation of *Chrysophyllum cainito* Linn. Leaves. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*. 26 (1): 106-111.
- Shinde, J., Taldone, T., Barletta, M., Kunaparaju, N., Hu, B., Kumar, S., Placido, J., & Zito, S. W. 2008. α -Glucosidase Inhibitory Activity of *Syzygium cumini* (Linn.) Skeels Seed Kernel In Vitro and In Goto–Kakizaki (GK) rats. *Carbohydrate Research*. 343: 1278–1281.
- Siama, Y. 2015. Uji Aktivitas Hipoglikemik Fraksi Kulit Buah Maja (*Aegle marmelos* (L.) Correa sebagai Inhibitor Alfa Glukosidase secara In Vitro dan In Vivo pada Mencit Jantan (*Mus musculus*). *Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin*.
- Sim, L., Willemsma, C., Mohan, S., Naim, H. Y., Pinto, B. M., & Rose, D. R. 2010. Structural Basis for Substrate Selectivity in Human Maltase-Glucoamylase and Sucrase-Isomaltase N-terminal Domains. *The Journal of Biological Chemistry*. 285 (23): 17763-17770.
- Tadera, K., Minami, Y., Takamatsu, K., & Matsuoka, T. 2006. Inhibition of α -Glucosidase and α -Amylase by Flavonoids. *Journal of Nutrition Science and Vitaminology*. 52: 149-153.
- USDA. 2003. Classification for Kingdom Plantae Down to Species *Chrysophyllum cainito* L [on line]. <http://www.plants.usda.gov/java/ClassificationServlet?source=display&classid=CHCA10>. [diakses tanggal 2 Februari 2015].
- Williamson, G. 2013. Possible Effects of Dietary Polyphenols on Sugar Absorption and Digestion. *Molecular Nutrition & Food Research Journal*. 57: 48–57.
- Zuhra, C. F., Tarigan, J. Br., & Sihotang, H. 2008. Aktivitas Antioksidan Senyawa Flavonoid dari Daun Katuk (*Sauropus androgynus* (L) Merr.). *Jurnal Biologi Sumatera*. 3 (1): 7-10.

Zulaikhah, S. 2015. Uji Aktivitas Antioksidan, Polifenol, dan Flavonoid Ekstrak Air, Aseton, Etanol Beberapa Varian Daun Kenitu (*Chrysophyllum cainito* L.) dari Daerah Jember. *Fakultas Farmasi Universitas Jember*.



LAMPIRAN A. PERHITUNGAN PENYIAPAN BAHAN-BAHAN**A.1 Larutan Dapar**

a. Massa kalium dihidrogenfosfat (KH_2PO_4) 0,2 M

$$\begin{aligned} \text{Rumus : } M &= \frac{\text{g}}{\text{BM}} \times \frac{1000}{\text{mL}} \\ g &= \frac{M \times \text{BM} \times \text{mL}}{1000} \\ g &= \frac{0,2 \times 136,09 \times 150}{1000} = 4,0827 \text{ g dalam 150 mL akuades} \end{aligned}$$

b. Massa natrium hidroksida (NaOH) 0,2 M

$$\begin{aligned} \text{Rumus : } M &= \frac{\text{g}}{\text{BM}} \times \frac{1000}{\text{mL}} \\ g &= \frac{M \times \text{BM} \times \text{mL}}{1000} \\ g &= \frac{0,2 \times 40 \times 100}{1000} = 0,8 \text{ g dalam 100 mL akuades} \end{aligned}$$

A.2 Larutan Substrat p-Nitrofenil- α -D-Glukopiranosida (PNPG)

a. Massa PNPG untuk larutan induk PNPG 20 mM, 25 mL

$$\begin{aligned} \text{Rumus : } \text{mM} &= \frac{\text{mg}}{\text{BM}} \times \frac{1000}{\text{mL}} \\ \text{mg} &= \frac{\text{mM} \times \text{BM} \times \text{mL}}{1000} \\ \text{mg} &= \frac{20 \times 301,25 \times 25}{1000} = 150,625 \text{ mg} \end{aligned}$$

b. Pengenceran larutan induk PNPG 20 mM

1. $\frac{5 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 20 \text{ mM} = 10 \text{ mM} \rightarrow$ dipipet 5 mL dari larutan PNPG 20 mM, dimasukkan dalam labu ukur 10 mL, ditambahkan dapar hingga tepat tanda.
2. $\frac{5 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 10 \text{ mM} = 5 \text{ mM}$
3. $\frac{5 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 5 \text{ mM} = 2,5 \text{ mM}$
4. $\frac{5 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 2,5 \text{ mM} = 1,25 \text{ mM}$
5. $\frac{5 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 1,25 \text{ mM} = 0,625 \text{ mM}$

A.3 Larutan Sampel

a. Sampel ekstrak daun kenitu varian BK dan BB

1. $\frac{5 \text{ mg}}{5 \text{ mL}} \times 1000 = 1000 \text{ } \mu\text{g/mL}$ → ditimbang 5 mg ekstrak, dilarutkan dalam 5 mL dapar menggunakan labu ukur.
2. $\frac{0,5 \text{ mL}}{5 \text{ mL}} \times 1000 \text{ } \mu\text{g/mL} = 100 \text{ } \mu\text{g/mL}$ → dipipet 0,5 mL dari larutan sampel 1000 $\mu\text{g/mL}$, dimasukkan labu ukur 5 mL, ditambahkan dapar hingga tepat tanda.
3. $\frac{2,5 \text{ mL}}{25 \text{ mL}} \times 100 \text{ } \mu\text{g/mL} = 10 \text{ } \mu\text{g/mL}$
4. $\frac{3,5 \text{ mL}}{5 \text{ mL}} \times 10 \text{ } \mu\text{g/mL} = 7 \text{ } \mu\text{g/mL}$
5. $\frac{3 \text{ mL}}{5 \text{ mL}} \times 10 \text{ } \mu\text{g/mL} = 6 \text{ } \mu\text{g/mL}$
6. $\frac{2,5 \text{ mL}}{5 \text{ mL}} \times 10 \text{ } \mu\text{g/mL} = 5 \text{ } \mu\text{g/mL}$
7. $\frac{2 \text{ mL}}{5 \text{ mL}} \times 10 \text{ } \mu\text{g/mL} = 4 \text{ } \mu\text{g/mL}$
8. $\frac{1,5 \text{ mL}}{5 \text{ mL}} \times 10 \text{ } \mu\text{g/mL} = 3 \text{ } \mu\text{g/mL}$
9. $\frac{1 \text{ mL}}{5 \text{ mL}} \times 10 \text{ } \mu\text{g/mL} = 2 \text{ } \mu\text{g/mL}$

b. Sampel ekstrak daun kenitu varian HL dan MB

1. $\frac{5 \text{ mg}}{5 \text{ mL}} \times 1000 = 1000 \text{ } \mu\text{g/mL}$ → ditimbang 5 mg ekstrak, dilarutkan dalam 5 mL dapar menggunakan labu ukur.
2. $\frac{0,5 \text{ mL}}{5 \text{ mL}} \times 1000 \text{ } \mu\text{g/mL} = 100 \text{ } \mu\text{g/mL}$ → dipipet 0,5 mL dari larutan sampel 1000 $\mu\text{g/mL}$, dimasukkan labu ukur 5 mL, ditambahkan dapar hingga tepat tanda.
3. $\frac{0,5 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \text{ } \mu\text{g/mL} = 50 \text{ } \mu\text{g/mL}$
4. $\frac{1 \text{ mL}}{5 \text{ mL}} \times 100 \text{ } \mu\text{g/mL} = 20 \text{ } \mu\text{g/mL}$
5. $\frac{0,75 \text{ mL}}{5 \text{ mL}} \times 100 \text{ } \mu\text{g/mL} = 15 \text{ } \mu\text{g/mL}$
6. $\frac{0,5 \text{ mL}}{5 \text{ mL}} \times 100 \text{ } \mu\text{g/mL} = 10 \text{ } \mu\text{g/mL}$

7. $\frac{0,5 \text{ mL}}{5 \text{ mL}} \times 50 \text{ } \mu\text{g/mL} = 5 \text{ } \mu\text{g/mL}$
8. $\frac{0,5 \text{ mL}}{5 \text{ mL}} \times 10 \text{ } \mu\text{g/mL} = 1 \text{ } \mu\text{g/mL}$
9. $\frac{0,5 \text{ mL}}{5 \text{ mL}} \times 1 \text{ } \mu\text{g/mL} = 0,1 \text{ } \mu\text{g/mL}$

A.4 Pengenceran Larutan Enzim 0,5 U/mL

- a. $\frac{3 \text{ mL}}{5 \text{ mL}} \times 0,5 \text{ U/mL} = 0,3 \text{ U/mL} \rightarrow$ dipipet 3 mL dari larutan enzim 0,5 U/mL, dimasukkan dalam vial, ditambahkan dapar 2 mL.
- b. $\frac{3 \text{ mL}}{6 \text{ mL}} \times 0,5 \text{ U/mL} = 0,25 \text{ U/mL}$
- c. $\frac{2 \text{ mL}}{5 \text{ mL}} \times 0,5 \text{ U/mL} = 0,2 \text{ U/mL}$
- d. $\frac{3 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 0,5 \text{ U/mL} = 0,15 \text{ U/mL}$
- e. $\frac{1 \text{ mL}}{5 \text{ mL}} \times 0,5 \text{ U/mL} = 0,1 \text{ U/mL}$
- f. $\frac{1 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 0,5 \text{ U/mL} = 0,05 \text{ U/mL}$

A.5 Larutan Akarbose

- a. $\frac{200 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times 1.000 = 20.000 \text{ } \mu\text{g/mL} \rightarrow$ ditimbang 200 mg serbuk standar akarbose, dilarutkan dalam 10 mL dapar menggunakan labu ukur.
- b. $\frac{3,75 \text{ mL}}{5 \text{ mL}} \times 20.000 \text{ } \mu\text{g/mL} = 15.000 \text{ } \mu\text{g/mL} \rightarrow$ dipipet 3,75 mL dari larutan akarbose 20.000 $\mu\text{g/mL}$, dimasukkan labu ukur 5 mL, ditambahkan dapar hingga tepat tanda.
- c. $\frac{5 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 20.000 \text{ } \mu\text{g/mL} = 10.000 \text{ } \mu\text{g/mL}$
- d. $\frac{3,75 \text{ mL}}{5 \text{ mL}} \times 10.000 \text{ } \mu\text{g/mL} = 7.500 \text{ } \mu\text{g/mL}$
- e. $\frac{2,5 \text{ mL}}{5 \text{ mL}} \times 10.000 \text{ } \mu\text{g/mL} = 5.000 \text{ } \mu\text{g/mL}$
- f. $\frac{1,25 \text{ mL}}{5 \text{ mL}} \times 10.000 \text{ } \mu\text{g/mL} = 2.500 \text{ } \mu\text{g/mL}$

A.6 Massa Natrium Karbonat untuk 50 mL Larutan

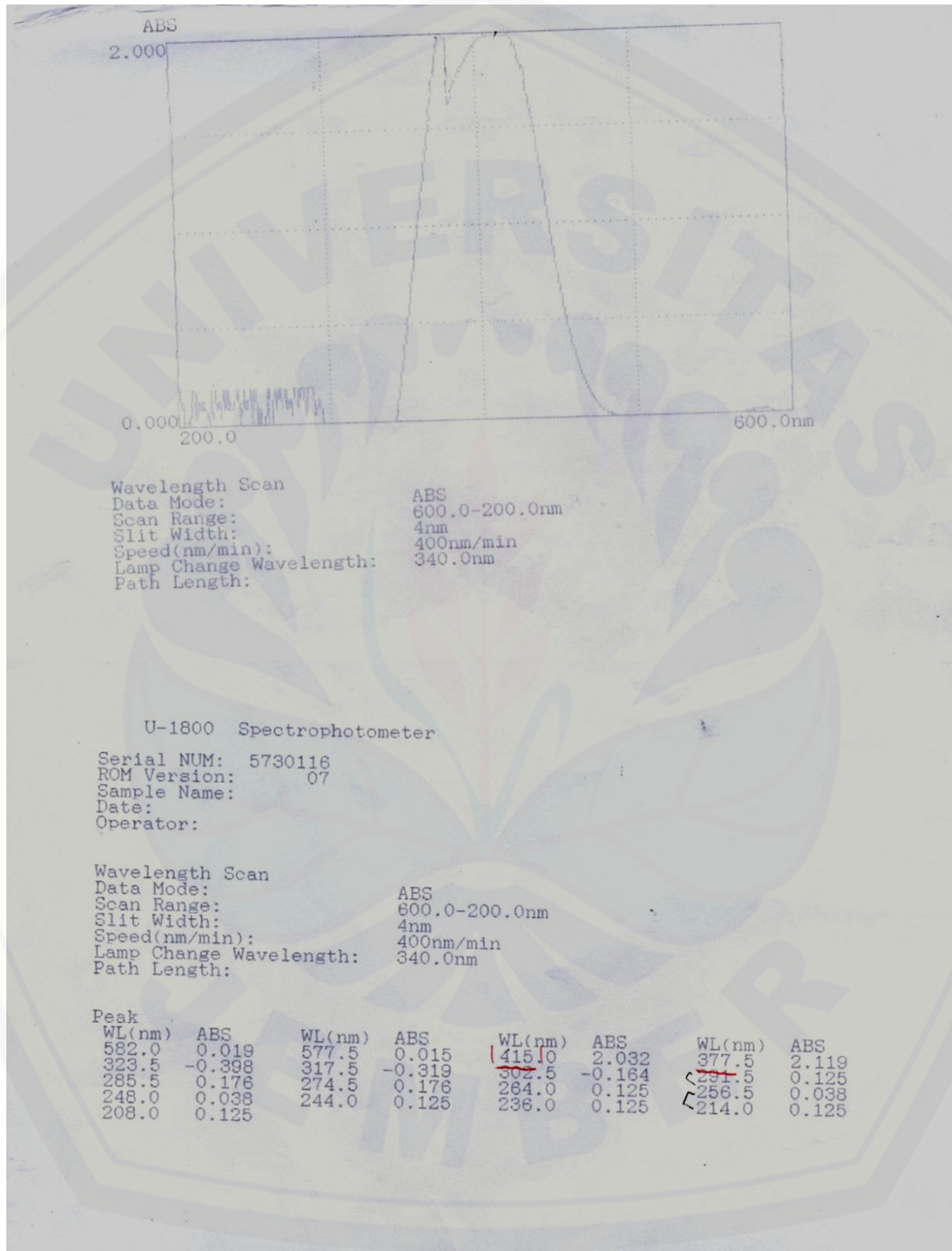
Rumus:
$$M = \frac{g}{BM} \times \frac{1000}{mL}$$
$$g = \frac{M \times BM \times mL}{1000}$$
$$g = \frac{0,2 \times 106 \times 50}{1000} = 1,06 \text{ g}$$

A.7 Bobot Rendemen Ekstrak Daun Kenitu

- a. Ekstrak BK = $\frac{11,05 \text{ g}}{100 \text{ g}} \times 100 \% = 11,05 \%$
- b. Ekstrak BB = $\frac{12,68 \text{ g}}{100 \text{ g}} \times 100 \% = 12,68 \%$
- c. Ekstrak HL = $\frac{14,61 \text{ g}}{100 \text{ g}} \times 100 \% = 14,61 \%$
- d. Ekstrak MB = $\frac{7,05 \text{ g}}{100 \text{ g}} \times 100 \% = 7,05 \%$

LAMPIRAN B. DATA HASIL UJI PENDAHULUAN REAKSI ENZIMATIS

B.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum



U-1800 Spectrophotometer

Serial NUM: 5730116
 ROM Version: 07
 Sample Name:
 Date:
 Operator:

Wavelength Scan
 Data Mode: ABS
 Scan Range: 600.0-200.0nm
 Slit Width: 4nm
 Speed(nm/min): 400nm/min
 Lamp Change Wavelength: 340.0nm
 Path Length:

ALL Data

WL(nm)	ABS	WL(nm)	ABS	WL(nm)	ABS	WL(nm)	ABS
600.0	-0.015	599.5	-0.018	599.0	-0.019	598.5	-0.019
598.0	-0.020	597.5	-0.020	597.0	-0.020	596.5	-0.020
596.0	-0.020	595.5	-0.020	595.0	-0.020	594.5	-0.019
594.0	-0.019	593.5	-0.018	593.0	-0.017	592.5	-0.016
592.0	-0.015	591.5	-0.014	591.0	-0.013	590.5	-0.011
590.0	-0.009	589.5	-0.008	589.0	-0.006	588.5	-0.002
588.0	-0.001	587.5	0.000	587.0	0.001	586.5	0.003
586.0	0.005	585.5	0.007	585.0	0.009	584.5	0.010
584.0	0.012	583.5	0.014	583.0	0.015	582.5	0.018
582.0	0.019	581.5	0.017	581.0	0.013	580.5	0.013
580.0	0.015	579.5	0.016	579.0	0.017	578.5	0.016
578.0	0.015	577.5	0.015	577.0	0.014	576.5	0.013
576.0	0.012	575.5	0.011	575.0	0.010	574.5	0.009
574.0	0.008	573.5	0.007	573.0	0.007	572.5	0.007
572.0	0.007	571.5	0.006	571.0	0.005	570.5	0.003
570.0	0.001	569.5	-0.001	569.0	-0.004	568.5	-0.007
568.0	-0.008	567.5	-0.008	567.0	-0.009	566.5	-0.009
566.0	-0.009	565.5	-0.010	565.0	-0.010	564.5	-0.010
564.0	-0.011	563.5	-0.011	563.0	-0.011	562.5	-0.012
562.0	-0.012	561.5	-0.012	561.0	-0.012	560.5	-0.012
560.0	-0.012	559.5	-0.012	559.0	-0.012	558.5	-0.013
558.0	-0.013	557.5	-0.013	557.0	-0.013	556.5	-0.013
556.0	-0.013	555.5	-0.013	555.0	-0.012	554.5	-0.012
554.0	-0.012	553.5	-0.011	553.0	-0.011	552.5	-0.011
552.0	-0.011	551.5	-0.012	551.0	-0.012	550.5	-0.012
550.0	-0.012	549.5	-0.012	549.0	-0.012	548.5	-0.011
548.0	-0.011	547.5	-0.011	547.0	-0.011	546.5	-0.011
546.0	-0.012	545.5	-0.012	545.0	-0.012	544.5	-0.012
544.0	-0.012	543.5	-0.012	543.0	-0.012	542.5	-0.012
542.0	-0.012	541.5	-0.012	541.0	-0.012	540.5	-0.012
540.0	-0.012	539.5	-0.012	539.0	-0.012	538.5	-0.012
538.0	-0.012	537.5	-0.012	537.0	-0.012	536.5	-0.012
536.0	-0.012	535.5	-0.012	535.0	-0.012	534.5	-0.012
534.0	-0.012	533.5	-0.013	533.0	-0.013	532.5	-0.013
532.0	-0.013	531.5	-0.012	531.0	-0.012	530.5	-0.012
530.0	-0.012	529.5	-0.012	529.0	-0.012	528.5	-0.012
528.0	-0.012	527.5	-0.012	527.0	-0.012	526.5	-0.013
526.0	-0.013	525.5	-0.012	525.0	-0.012	524.5	-0.012
524.0	-0.012	523.5	-0.012	523.0	-0.012	522.5	-0.012
522.0	-0.012	521.5	-0.012	521.0	-0.012	520.5	-0.012
520.0	-0.012	519.5	-0.012	519.0	-0.012	518.5	-0.012
518.0	-0.012	517.5	-0.013	517.0	-0.012	516.5	-0.012
516.0	-0.012	515.5	-0.012	515.0	-0.012	514.5	-0.013
514.0	-0.013	513.5	-0.013	513.0	-0.012	512.5	-0.012
512.0	-0.012	511.5	-0.012	511.0	-0.012	510.5	-0.012
510.0	-0.012	509.5	-0.012	509.0	-0.012	508.5	-0.012
508.0	-0.012	507.5	-0.012	507.0	-0.012	506.5	-0.012
506.0	-0.012	505.5	-0.012	505.0	-0.012	504.5	-0.012
504.0	-0.012	503.5	-0.012	503.0	-0.012	502.5	-0.012
502.0	-0.012	501.5	-0.012	501.0	-0.012	500.5	-0.012
500.0	-0.012	499.5	-0.012	499.0	-0.012	498.5	-0.012
498.0	-0.011	497.5	-0.011	497.0	-0.011	496.5	-0.011
496.0	-0.011	495.5	-0.011	495.0	-0.011	494.5	-0.010
494.0	-0.010	493.5	-0.010	493.0	-0.009	492.5	-0.009
492.0	-0.008	491.5	-0.008	491.0	-0.008	490.5	-0.007
490.0	-0.007	489.5	-0.006	489.0	-0.006	488.5	-0.005
488.0	-0.005	487.5	-0.005	487.0	-0.004	486.5	-0.003
486.0	-0.002	485.5	-0.002	485.0	-0.001	484.5	0.000

484.0	0.001	483.5	0.002	483.0	0.003	482.5	0.005
482.0	0.006	481.5	0.008	481.0	0.009	480.5	0.011
480.0	0.012	479.5	0.015	479.0	0.017	478.5	0.019
478.0	0.021	477.5	0.024	477.0	0.027	476.5	0.030
476.0	0.033	475.5	0.036	475.0	0.040	474.5	0.044
474.0	0.048	473.5	0.054	473.0	0.059	472.5	0.065
472.0	0.071	471.5	0.077	471.0	0.084	470.5	0.090
470.0	0.097	469.5	0.104	469.0	0.110	468.5	0.117
468.0	0.123	467.5	0.131	467.0	0.139	466.5	0.147
466.0	0.156	465.5	0.165	465.0	0.174	464.5	0.185
464.0	0.195	463.5	0.205	463.0	0.216	462.5	0.228
462.0	0.240	461.5	0.251	461.0	0.262	460.5	0.275
460.0	0.288	459.5	0.302	459.0	0.316	458.5	0.330
458.0	0.344	457.5	0.358	457.0	0.374	456.5	0.389
456.0	0.406	455.5	0.424	455.0	0.443	454.5	0.463
454.0	0.483	453.5	0.503	453.0	0.524	452.5	0.546
452.0	0.569	451.5	0.594	451.0	0.618	450.5	0.641
450.0	0.664	449.5	0.688	449.0	0.712	448.5	0.734
448.0	0.756	447.5	0.778	447.0	0.803	446.5	0.827
446.0	0.853	445.5	0.881	445.0	0.909	444.5	0.938
444.0	0.966	443.5	0.992	443.0	1.022	442.5	1.053
442.0	1.081	441.5	1.108	441.0	1.135	440.5	1.164
440.0	1.194	439.5	1.225	439.0	1.254	438.5	1.283
438.0	1.312	437.5	1.342	437.0	1.371	436.5	1.399
436.0	1.427	435.5	1.457	435.0	1.489	434.5	1.519
434.0	1.548	433.5	1.577	433.0	1.606	432.5	1.635
432.0	1.664	431.5	1.691	431.0	1.717	430.5	1.740
430.0	1.762	429.5	1.786	429.0	1.805	428.5	1.818
428.0	1.833	427.5	1.848	427.0	1.863	426.5	1.879
426.0	1.896	425.5	1.914	425.0	1.928	424.5	1.940
424.0	1.951	423.5	1.958	423.0	1.967	422.5	1.979
422.0	1.987	421.5	1.995	421.0	2.000	420.5	2.000
420.0	2.004	419.5	2.004	419.0	2.009	418.5	2.013
418.0	2.018	417.5	2.022	417.0	2.018	416.5	2.018
416.0	2.022	415.5	2.027	415.0	2.032	414.5	2.027
414.0	2.022	413.5	2.027	413.0	2.027	412.5	2.027
412.0	2.022	411.5	2.022	411.0	2.022	410.5	2.022
410.0	2.022	409.5	2.022	409.0	2.022	408.5	2.018
408.0	2.013	407.5	2.009	407.0	2.004	406.5	2.004
406.0	2.004	405.5	2.000	405.0	1.995	404.5	1.991
404.0	1.983	403.5	1.979	403.0	1.979	402.5	1.975
402.0	1.971	401.5	1.967	401.0	1.963	400.5	1.958
400.0	1.955	399.5	1.951	399.0	1.947	398.5	1.943
398.0	1.936	397.5	1.928	397.0	1.928	396.5	1.921
396.0	1.914	395.5	1.907	395.0	1.900	394.5	1.893
394.0	1.886	393.5	1.876	393.0	1.870	392.5	1.860
392.0	1.851	391.5	1.845	391.0	1.836	390.5	1.827
390.0	1.818	389.5	1.810	389.0	1.802	388.5	1.794
388.0	1.786	387.5	1.778	387.0	1.769	386.5	1.762
386.0	1.750	385.5	1.736	385.0	1.724	384.5	1.715
384.0	1.704	383.5	1.693	383.0	1.680	382.5	1.664
382.0	1.650	381.5	1.640	381.0	1.629	380.5	1.616
380.0	1.691	379.5	1.640	379.0	2.155	378.5	2.143
378.0	2.125	377.5	2.119	377.0	2.086	376.5	2.051
376.0	2.032	375.5	2.013	375.0	1.987	374.5	1.967
374.0	1.947	373.5	1.921	373.0	1.893	372.5	1.863
372.0	1.836	371.5	1.807	371.0	1.778	370.5	1.745
370.0	1.712	369.5	1.686	369.0	1.662	368.5	1.636
368.0	1.613	367.5	1.589	367.0	1.562	366.5	1.537
366.0	1.506	365.5	1.475	365.0	1.449	364.5	1.416
364.0	1.384	363.5	1.358	363.0	1.325	362.5	1.288
362.0	1.253	361.5	1.224	361.0	1.197	360.5	1.167
360.0	1.131	359.5	1.103	359.0	1.078	358.5	1.046
358.0	1.015	357.5	0.985	357.0	0.957	356.5	0.931
356.0	0.897	355.5	0.862	355.0	0.831	354.5	0.801
354.0	0.786	353.5	0.733	353.0	0.703	352.5	0.671
352.0	0.638	351.5	0.598	351.0	0.563	350.5	0.530
350.0	0.496	349.5	0.463	349.0	0.435	348.5	0.413
348.0	0.329	347.5	0.363	347.0	0.337	346.5	0.306
346.0	0.273	345.5	0.248	345.0	0.223	344.5	0.193
344.0	0.163	343.5	0.132	343.0	0.101	342.5	0.072
342.0	0.046	341.5	0.024	341.0	0.003	340.5	-0.021
340.0	-0.067	339.5	-0.140	339.0	-0.203	338.5	-0.243
338.0	-0.264	337.5	-0.273	337.0	-0.290	336.5	-0.298
336.0	-0.299	335.5	-0.331	335.0	-0.357	334.5	-0.360
334.0	-0.369	333.5	-0.385	333.0	-0.396	332.5	-0.392
332.0	-0.427	331.5	-0.500	331.0	-0.525	330.5	-0.512
330.0	-0.605	329.5	-0.499	329.0	-0.502	328.5	-0.505
328.0	-0.499	327.5	-0.514	327.0	-0.512	326.5	-0.487
326.0	-0.477	325.5	-0.468	325.0	-0.449	324.5	-0.429
324.0	-0.409	323.5	-0.398	323.0	-0.433	322.5	-0.495

322.0	-0.487	321.5	-0.433	321.0	-0.449	320.5	-0.477
320.0	-0.465	319.5	-0.440	319.0	-0.426	318.5	-0.398
318.0	-0.336	317.5	-0.319	317.0	-0.352	316.5	-0.368
316.0	-0.368	315.5	-0.368	315.0	-0.369	314.5	-0.368
314.0	-0.327	313.5	-0.283	313.0	-0.310	312.5	-0.336
312.0	-0.336	311.5	-0.319	311.0	-0.301	310.5	-0.301
310.0	-0.283	309.5	-0.263	309.0	-0.263	308.5	-0.243
308.0	-0.222	307.5	-0.243	307.0	-0.253	306.5	-0.243
306.0	-0.253	305.5	-0.243	305.0	-0.222	304.5	-0.222
304.0	-0.222	303.5	-0.222	303.0	-0.194	302.5	-0.164
302.0	-0.194	301.5	-0.222	301.0	-0.222	300.5	-0.200
300.0	-0.176	299.5	-0.176	299.0	-0.151	298.5	-0.125
298.0	-0.125	297.5	-0.125	297.0	-0.125	296.5	-0.097
296.0	-0.035	295.5	-0.000	295.0	-0.000	294.5	-0.000
294.0	-0.000	293.5	-0.000	293.0	0.038	292.5	0.079
292.0	0.079	291.5	0.125	291.0	0.125	290.5	0.079
290.0	0.079	289.5	0.038	289.0	0.038	288.5	0.079
288.0	0.079	287.5	0.125	287.0	0.176	286.5	0.176
286.0	0.176	285.5	0.176	285.0	0.176	284.5	0.176
284.0	0.176	283.5	0.176	283.0	0.125	282.5	0.038
282.0	0.038	281.5	0.125	281.0	0.176	280.5	0.176
280.0	0.176	279.5	0.176	279.0	0.176	278.5	0.176
278.0	0.125	277.5	0.079	277.0	0.125	276.5	0.176
276.0	0.176	275.5	0.176	275.0	0.176	274.5	0.176
274.0	0.125	273.5	0.038	273.0	0.038	272.5	0.125
272.0	0.125	271.5	0.079	271.0	0.125	270.5	0.125
270.0	0.079	269.5	0.125	269.0	0.176	268.5	0.176
268.0	0.176	267.5	0.125	267.0	0.079	266.5	0.125
266.0	0.176	265.5	0.176	265.0	0.176	264.5	0.176
264.0	0.125	263.5	0.079	263.0	0.125	262.5	0.176
262.0	0.176	261.5	0.125	261.0	0.079	260.5	0.079
260.0	-0.018	259.5	-0.097	259.0	-0.018	258.5	0.125
258.0	0.176	257.5	0.176	257.0	0.125	256.5	0.038
256.0	-0.000	255.5	-0.000	255.0	-0.051	254.5	-0.138
254.0	-0.111	253.5	0.019	253.0	0.079	252.5	0.079
252.0	0.038	251.5	-0.000	251.0	-0.000	250.5	0.038
250.0	0.125	249.5	0.176	249.0	0.176	248.5	0.125
248.0	0.038	247.5	-0.051	247.0	-0.067	246.5	0.068
246.0	0.176	245.5	0.176	245.0	0.125	244.5	0.079
244.0	0.125	243.5	0.125	243.0	0.079	242.5	0.125
242.0	0.176	241.5	0.125	241.0	0.079	240.5	0.079
240.0	0.038	239.5	-0.000	239.0	0.038	238.5	0.125
238.0	0.176	237.5	0.176	237.0	0.176	236.5	0.176
236.0	0.125	235.5	0.079	235.0	0.079	234.5	0.079
234.0	0.079	233.5	0.079	233.0	0.125	232.5	0.125
232.0	0.079	231.5	0.125	231.0	0.176	230.5	0.125
230.0	0.079	229.5	0.125	229.0	0.176	228.5	0.176
228.0	0.176	227.5	0.125	227.0	0.038	226.5	0.038
226.0	0.125	225.5	0.125	225.0	0.079	224.5	0.079
224.0	0.079	223.5	0.125	223.0	0.176	222.5	0.125
222.0	0.038	221.5	0.038	221.0	0.125	220.5	0.176
220.0	0.058	219.5	-0.035	219.0	0.019	218.5	0.038
218.0	0.038	217.5	0.079	217.0	0.079	216.5	0.079
216.0	0.079	215.5	0.125	215.0	0.125	214.5	0.079
214.0	0.125	213.5	0.125	213.0	0.079	212.5	0.125
212.0	0.125	211.5	0.038	211.0	0.038	210.5	0.125
210.0	0.176	209.5	0.176	209.0	0.176	208.5	0.176
208.0	0.125	207.5	0.038	207.0	-0.051	206.5	-0.067
206.0	0.019	205.5	-0.018	205.0	-0.097	204.5	-0.097
204.0	-0.097	203.5	-0.051	203.0	0.038	202.5	0.125
202.0	0.125	201.5	0.079	201.0	0.125	200.5	0.176

B.2 Optimasi Waktu Inkubasi

Waktu	Replikasi	Abs	Abs-Blanko	Rata-rata	SD
15 menit	1	0,111	0,051	0,047	0,005
	2	0,109	0,049		
	3	0,102	0,042		
30 menit	1	0,179	0,119	0,107	0,010
	2	0,163	0,103		
	3	0,16	0,1		
45 menit	1	0,196	0,136	0,126	0,009
	2	0,181	0,121		
	3	0,18	0,12		
60 menit	1	0,204	0,144	0,142	0,002
	2	0,201	0,141		
	3	0,2	0,14		
75 menit	1	0,208	0,148	0,145	0,003
	2	0,205	0,145		
	3	0,202	0,142		
90 menit	1	0,211	0,151	0,147	0,005
	2	0,209	0,149		
	3	0,202	0,142		
Blanko	1	0,056			
	2	0,061			
	3	0,063			
Rata-rata blanko		0,060			

B.3 Optimasi Konsentrasi Enzim

Konsentrasi Enzim	Replikasi	Abs	Abs-Blanko	Rata-rata	SD
0,05 U/ml	1	0,204	0,144	0,142	0,002
	2	0,201	0,141		
	3	0,2	0,14		
0,1 U/ml	1	0,652	0,592	0,594	0,002
	2	0,655	0,595		
	3	0,655	0,595		
0,15 U/ml	1	1,038	0,978	0,968	0,009
	2	1,023	0,963		
	3	1,023	0,963		
0,2 U/ml	1	1,213	1,153	1,161	0,022
	2	1,204	1,144		
	3	1,246	1,186		
0,25 U/ml	1	1,436	1,376	1,399	0,020
	2	1,471	1,411		
	3	1,471	1,411		
0,3 U/ml	1	1,69	1,63	1,626	0,008
	2	1,691	1,631		
	3	1,677	1,617		
Blangko	1	0,056			
	2	0,061			
	3	0,063			
Rata-rata blanko		0,06			

B.4 Optimasi Konsentrasi Substrat

Konsentrasi Substrat	Replikasi	Abs	Abs-Blanko	Rata-rata	SD
0,625 mM	1	0,2	0,146	0,147	0,001
	2	0,202	0,148		
	3	0,2	0,146		
1,25 mM	1	0,316	0,262	0,261	0,003
	2	0,318	0,264		
	3	0,312	0,258		
2,5 mM	1	0,448	0,394	0,387	0,007
	2	0,442	0,388		
	3	0,434	0,38		
5 mM	1	0,603	0,549	0,558	0,009
	2	0,614	0,56		
	3	0,62	0,566		
10 mM	1	0,799	0,745	0,736	0,009
	2	0,791	0,737		
	3	0,781	0,727		
20 mM	1	0,89	0,836	0,827	0,014
	2	0,889	0,835		
	3	0,865	0,811		
Blanko	1	0,055			
	2	0,056			
	3	0,051			
Rata-rata blanko		0,054			

LAMPIRAN C. DATA HASIL UJI AKTIVITAS INHIBITOR α -GLUKOSIDASE

C.1 Sampel Ekstrak Daun Kenitu Varian Bulat Kecil (BK)

Konsentrasi	S ₁			S ₀			S=S ₁ -S ₀			Inhibisi (%)			Rata-rata inhibisi		IC ₅₀ (µg/mL) = X _i		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	%	SD	R1	R2	R3
2	0,637	0,640	0,637	0,058	0,058	0,056	0,579	0,582	0,581	26,986	26,792	27,102	26,960	0,156			
3	0,587	0,586	0,588	0,056	0,053	0,058	0,531	0,533	0,530	33,039	32,956	33,501	33,165	0,293			
4	0,520	0,518	0,521	0,062	0,059	0,061	0,458	0,459	0,460	42,245	42,264	42,284	42,264	0,019	5,520	5,444	5,464
5	0,474	0,468	0,471	0,055	0,056	0,058	0,419	0,412	0,413	47,163	48,176	48,181	47,840	0,586			
6	0,425	0,423	0,428	0,057	0,060	0,056	0,368	0,363	0,372	53,594	54,340	53,325	53,753	0,526			
7	0,388	0,389	0,386	0,056	0,059	0,057	0,332	0,330	0,329	58,134	58,491	58,720	58,448	0,296			
	K ₁			K ₀			K=K ₁ -K ₀						Rata-rata IC ₅₀ = \bar{X}				
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3				µg/mL	SD	CV		
KN	0,846	0,849	0,848	0,053	0,054	0,051	0,793	0,795	0,797				5,476	0,039	0,715		

Keterangan : KN= kontrol negatif; S₁= absorbansi larutan uji; S₀= absorbansi blanko larutan uji; R= replikasi; K₁= absorbansi larutan kontrol; K₀= absorbansi blanko larutan kontrol

a. Contoh perhitungan inhibisi (%) konsentrasi 2 µg/mL replikasi 1

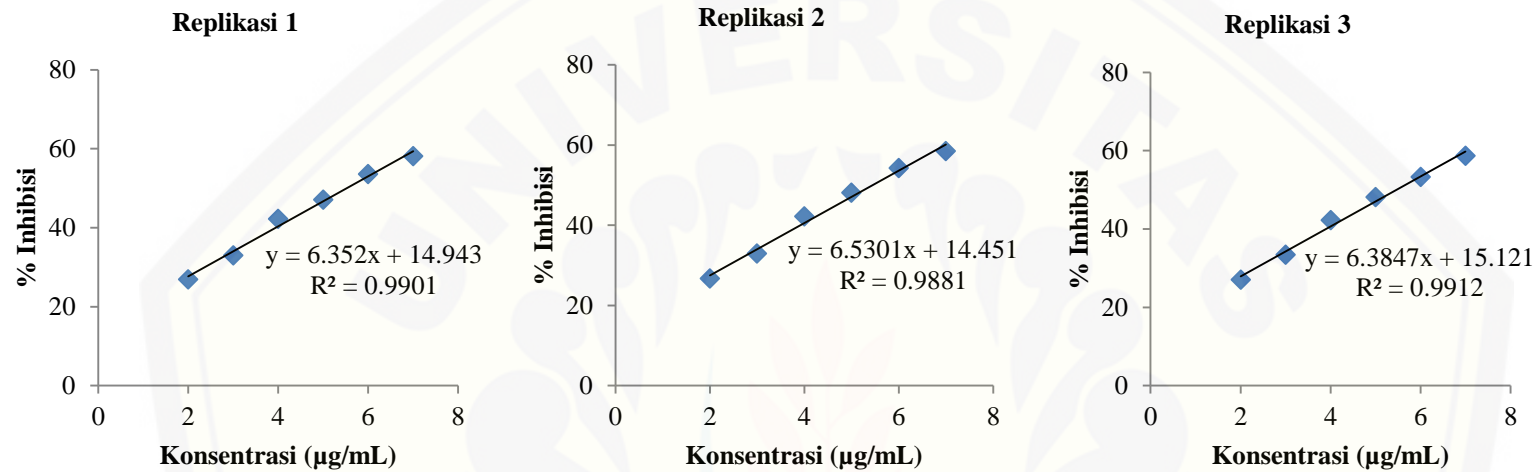
$$\text{Inhibisi} = \frac{K-S}{K} \times 100\% = \frac{0,793-0,579}{0,793} \times 100\% = 26,986\%$$

b. Contoh perhitungan IC₅₀ replikasi 1 $\rightarrow \frac{y = bx + a}{y = 6,352x + 14,94} \rightarrow IC_{50} = \frac{50-a}{b} = \frac{50-14,94}{6,352} = 5,520 \mu\text{g/mL}$

$$\text{c. SD IC}_{50} = \sqrt{\frac{\sum(x_i - \bar{x})^2}{(n-1)}} = \sqrt{\frac{[(5,520-5,476)^2 + (5,444-5,476)^2 + (5,464-5,476)^2]}{(3-1)}} = 0,039$$

$$\text{d. CV IC}_{50} = \frac{\text{SD}}{\text{Rata-rata IC}_{50}} \times 100\% = \frac{0,039}{5,476} \times 100\% = 0,715\%$$

e. Kurva persamaan regresi sampel ekstrak daun kenitu varian bulat kecil



C.2 Sampel Ekstrak Daun Kenitu Varian Bulat Besar (BB)

Konsentrasi	S ₁			S ₀			S=S ₁ -S ₀			Inhibisi (%)			Rata-rata inhibisi		IC ₅₀ (µg/mL) = X _i		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	%	SD	R1	R2	R3
2	0,721	0,715	0,717	0,057	0,053	0,054	0,664	0,662	0,663	16,267	16,730	16,813	16,603	0,294			
3	0,661	0,669	0,665	0,056	0,055	0,055	0,605	0,614	0,61	23,707	22,767	23,463	23,313	0,488			
4	0,527	0,529	0,528	0,056	0,058	0,057	0,471	0,471	0,471	40,605	40,755	40,903	40,754	0,149	4,886	4,870	4,851
5	0,41	0,407	0,407	0,058	0,059	0,057	0,352	0,348	0,35	55,612	56,226	56,085	55,974	0,322			
6	0,346	0,343	0,342	0,059	0,058	0,058	0,287	0,285	0,284	63,808	64,151	64,366	64,109	0,281			
7	0,276	0,275	0,273	0,059	0,059	0,06	0,217	0,216	0,213	72,636	72,830	73,275	72,914	0,328			
	K ₁			K ₀			K=K ₁ -K ₀						Rata-rata IC ₅₀ = X̄				
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3				µg/mL	SD	CV		
KN	0,846	0,849	0,848	0,053	0,054	0,051	0,793	0,795	0,797				4,869	0,018	0,365		

Keterangan : KN= kontrol negatif; S₁= absorbansi larutan uji; S₀= absorbansi blanko larutan uji; R= replikasi; K₁= absorbansi larutan kontrol; K₀= absorbansi blanko larutan kontrol

a. Contoh perhitungan inhibisi (%) konsentrasi 2 µg/mL replikasi 1

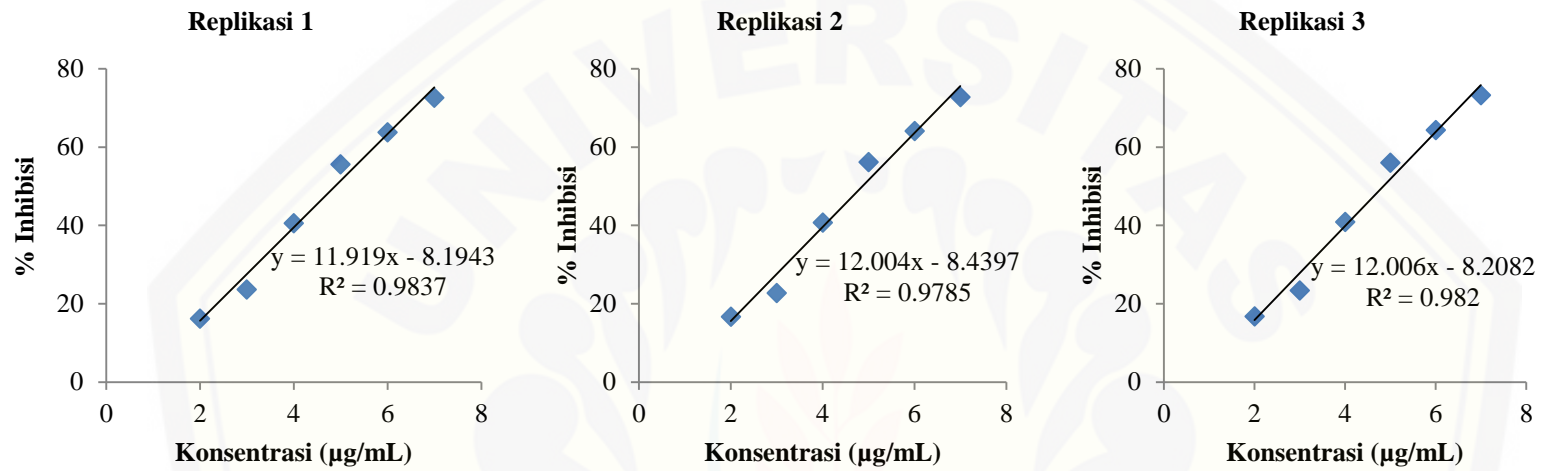
$$\text{Inhibisi} = \frac{K-S}{K} \times 100\% = \frac{0,793-0,664}{0,793} \times 100\% = 16,267 \%$$

b. Contoh perhitungan IC₅₀ replikasi 1 $\rightarrow \frac{y = bx + a}{y = 11,91x - 8,194} \rightarrow IC_{50} = \frac{50-a}{b} = \frac{50+8,194}{11,91} = 4,886 \mu\text{g/mL}$

$$\text{c. SD IC}_{50} = \sqrt{\frac{\sum(x_i - \bar{x})^2}{(n-1)}} = \sqrt{\frac{[(4,886-4,869)^2 + (4,870-4,869)^2 + (4,851-4,869)^2]}{(3-1)}} = 0,018$$

$$\text{d. CV IC}_{50} = \frac{\text{SD}}{\text{Rata-rata IC}_{50}} \times 100\% = \frac{0,018}{4,869} \times 100\% = 0,365 \%$$

e. Kurva persamaan regresi sampel ekstrak daun kenitu varian bulat besar



C.3 Sampel Ekstrak Daun Kenitu Varian Hijau Lonjong (HL)

Konsentrasi	S ₁			S ₀			S=S ₁ -S ₀			Inhibisi (%)			Rata-rata inhibisi		IC ₅₀ (µg/mL) = X _i		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	%	SD	R1	R2	R3
0,1	0,779	0,778	0,764	0,054	0,055	0,047	0,725	0,723	0,717	8,575	9,057	10,038	9,223	0,745			
1	0,702	0,699	0,704	0,057	0,055	0,057	0,645	0,644	0,647	18,663	18,994	18,821	18,826	0,165			
5	0,602	0,609	0,607	0,056	0,057	0,057	0,546	0,552	0,55	31,148	30,566	30,991	30,902	0,301	9,461	9,478	9,455
10	0,413	0,416	0,416	0,058	0,06	0,055	0,355	0,356	0,361	55,233	55,220	54,705	55,053	0,301			
15	0,247	0,245	0,247	0,058	0,061	0,058	0,189	0,184	0,189	76,166	76,855	76,286	76,436	0,368			
20	0,159	0,165	0,162	0,061	0,058	0,059	0,098	0,107	0,103	87,642	86,541	87,077	87,086	0,551			
	K ₁			K ₀			K=K ₁ -K ₀						Rata-rata IC ₅₀ = X̄				
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3				µg/mL	SD	CV		
KN	0,846	0,849	0,848	0,053	0,054	0,051	0,793	0,795	0,797				9,465	0,012	0,128		

Keterangan : KN= kontrol negatif; S₁= absorbansi larutan uji; S₀= absorbansi blanko larutan uji; R= replikasi; K₁= absorbansi larutan kontrol; K₀= absorbansi blanko larutan kontrol

a. Contoh perhitungan inhibisi (%) konsentrasi 0,1 µg/mL replikasi 1

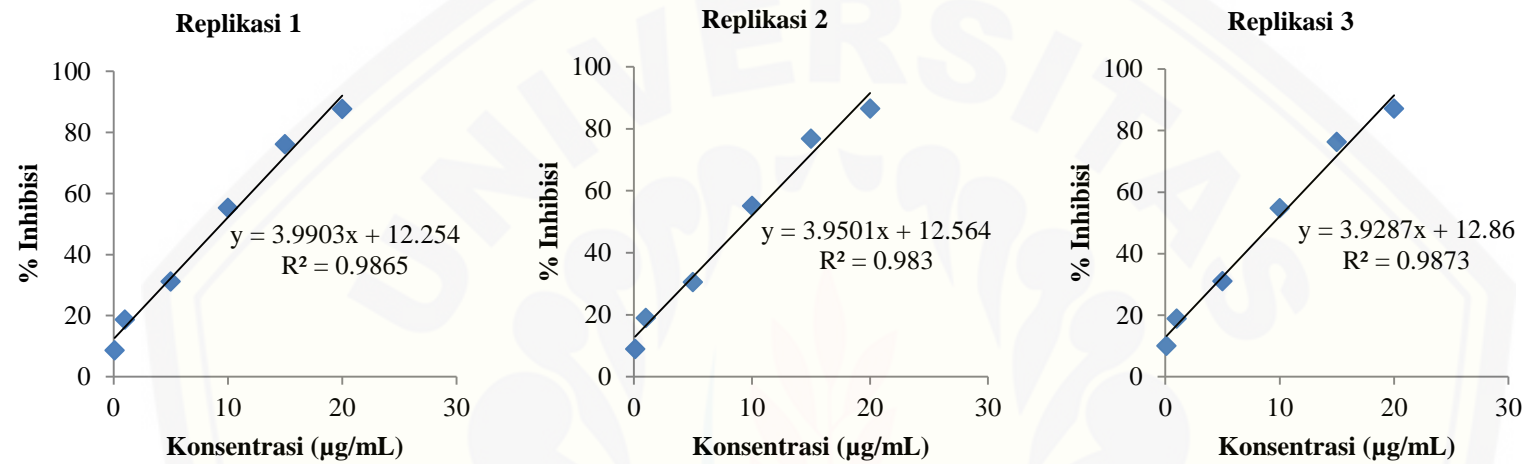
$$\text{Inhibisi} = \frac{K-S}{K} \times 100\% = \frac{0,793-0,725}{0,793} \times 100\% = 8,575 \%$$

b. Contoh perhitungan IC₅₀ replikasi 1 $\rightarrow \frac{y = bx + a}{y = 3,990x + 12,25} \rightarrow IC_{50} = \frac{50-a}{b} = \frac{50-12,25}{3,990} = 9,461 \mu\text{g/mL}$

$$\text{c. SD IC}_{50} = \sqrt{\frac{\sum(x_i - \bar{x})^2}{(n-1)}} = \sqrt{\frac{[(9,461-9,465)^2 + (9,478-9,465)^2 + (9,455-9,465)^2]}{(3-1)}} = 0,012$$

$$\text{d. CV IC}_{50} = \frac{\text{SD}}{\text{Rata-rata IC}_{50}} \times 100\% = \frac{0,012}{9,465} \times 100\% = 0,128 \%$$

e. Kurva persamaan regresi sampel ekstrak daun kenitu varian hijau lonjong



C.4 Sampel Ekstrak Daun Kenitu Varian Merah Bulat (MB)

Konsentrasi	S ₁			S ₀			S=S ₁ -S ₀			Inhibisi (%)			Rata-rata inhibisi		IC ₅₀ (µg/mL) = X _i		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	%	SD	R1	R2	R3
0,1	0,789	0,782	0,785	0,046	0,048	0,048	0,743	0,734	0,737	6,305	7,673	7,528	7,169	0,751			
1	0,681	0,678	0,688	0,053	0,052	0,055	0,628	0,626	0,633	20,807	21,258	20,577	20,881	0,346			
5	0,594	0,594	0,595	0,055	0,057	0,056	0,539	0,537	0,539	32,030	32,453	32,371	32,285	0,224			
10	0,492	0,49	0,495	0,059	0,059	0,059	0,433	0,431	0,436	45,397	45,786	45,295	45,493	0,259	11,888	11,793	11,827
15	0,406	0,404	0,405	0,058	0,054	0,056	0,348	0,35	0,349	56,116	55,975	56,211	56,101	0,119			
20	0,245	0,248	0,247	0,057	0,061	0,06	0,188	0,187	0,187	76,293	76,478	76,537	76,436	0,128			
	K ₁			K ₀			K=K ₁ -K ₀						Rata-rata IC ₅₀ = X̄				
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3				µg/mL	SD	CV		
KN	0,846	0,849	0,848	0,053	0,054	0,051	0,793	0,795	0,797				11,836	0,048	0,408		

Keterangan : KN= kontrol negatif; S₁= absorbansi larutan uji; S₀= absorbansi blanko larutan uji; R= replikasi; K₁= absorbansi larutan kontrol; K₀= absorbansi blanko larutan kontrol

a. Contoh perhitungan inhibisi (%) konsentrasi 0,1 µg/mL replikasi 1

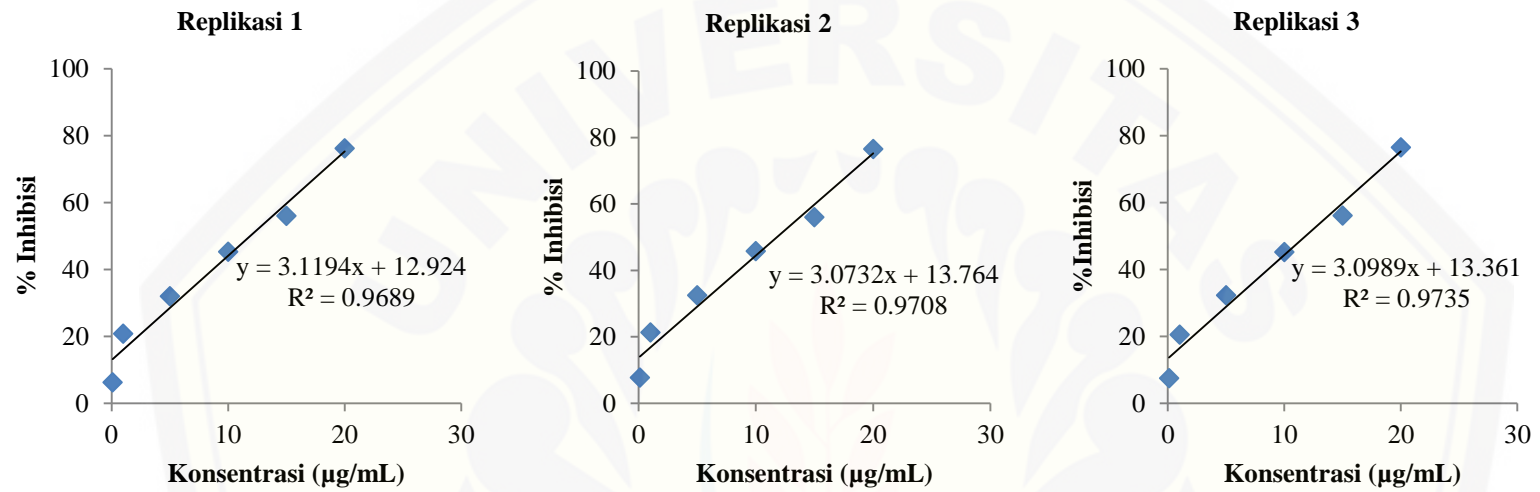
$$\text{Inhibisi} = \frac{K-S}{K} \times 100\% = \frac{0,793-0,743}{0,793} \times 100\% = 6,305 \%$$

b. Contoh perhitungan IC₅₀ replikasi 1 $\rightarrow \frac{y = bx + a}{y = 3,119x + 12,92} \rightarrow IC_{50} = \frac{50-a}{b} = \frac{50-12,92}{3,119} = 11,888 \mu\text{g/mL}$

$$c. \text{SD IC}_{50} = \sqrt{\frac{\sum(x_i - \bar{x})^2}{(n-1)}} = \sqrt{\frac{[(11,888-11,836)^2 + (11,793-11,836)^2 + (11,827-11,836)^2]}{(3-1)}} = 0,048$$

$$d. \text{CV IC}_{50} = \frac{\text{SD}}{\text{Rata-rata IC}_{50}} \times 100\% = \frac{0,048}{11,836} \times 100\% = 0,408 \%$$

e. Kurva persamaan regresi sampel ekstrak daun kenitu varian merah bulat



C.5 Kontrol Positif Standar Akarbose

Konsentrasi	A ₁			A ₀			A=A ₁ -A ₀			Inhibisi (%)			Rata-rata inhibisi		IC ₅₀ (µg/mL)= X _i		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	%	SD	R1	R2	R3
2.500	0,469	0,471	0,472	0,05	0,049	0,052	0,419	0,422	0,42	40,986	40,647	40,845	40,826	0,170			
5.000	0,417	0,42	0,419	0,051	0,054	0,053	0,366	0,366	0,366	48,451	48,523	48,451	48,475	0,042			
7.500	0,33	0,331	0,331	0,054	0,055	0,055	0,276	0,276	0,276	61,127	61,181	61,127	61,145	0,032	6,435	6,550	6,440
10.000	0,286	0,291	0,289	0,056	0,058	0,057	0,23	0,233	0,232	67,606	67,229	67,324	67,386	0,196			
5.000	0,213	0,21	0,216	0,057	0,057	0,058	0,156	0,153	0,158	78,028	78,481	77,746	78,085	0,371			
20.000	0,14	0,141	0,144	0,059	0,06	0,061	0,081	0,081	0,083	88,592	88,608	88,310	88,503	0,167			
	K ₁			K ₀			K=K ₁ -K ₀						Rata-rata IC ₅₀ = X̄				
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3				µg/mL	SD	CV		
KN	0,766	0,769	0,765	0,056	0,058	0,055	0,71	0,711	0,71				6,475	65	1,004		

Keterangan : KN= kontrol negatif; A₁= absorbansi larutan uji; A₀= absorbansi blanko larutan uji; R= replikasi; K₁= absorbansi larutan kontrol; K₀= absorbansi blanko larutan kontrol

a. Contoh perhitungan inhibisi (%) konsentrasi 2.500 µg/mL replikasi 1

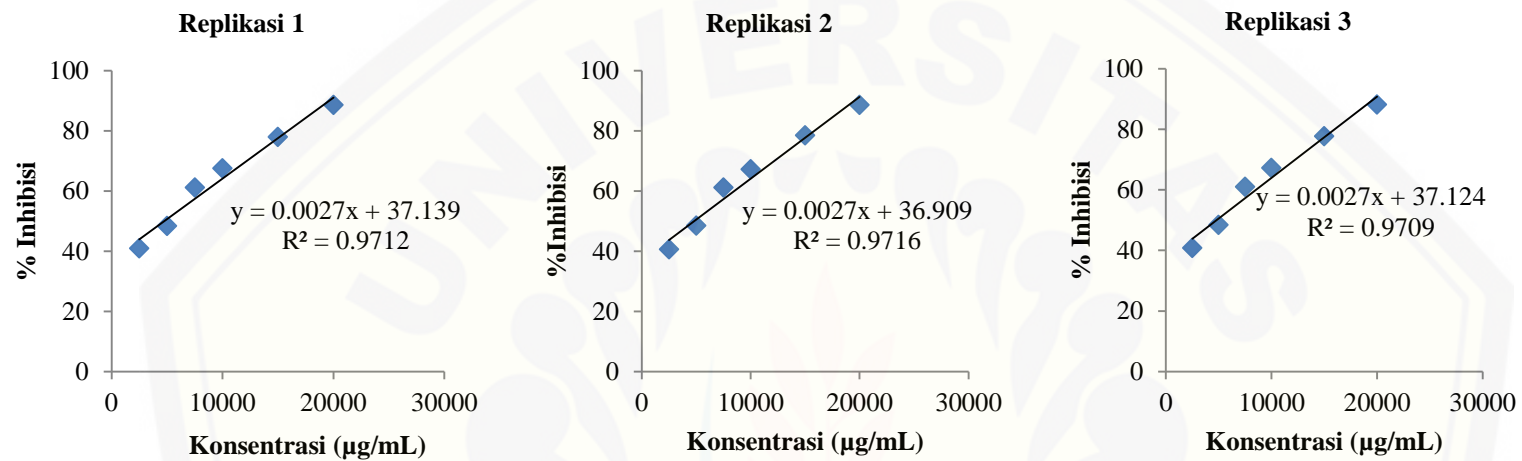
$$\text{Inhibisi} = \frac{K-A}{K} \times 100\% = \frac{0,71-0,419}{0,71} \times 100\% = 40,986 \%$$

b. Contoh perhitungan IC₅₀ replikasi 1 $\rightarrow \frac{y = bx + a}{y = 6,352x + 14,94} \rightarrow IC_{50} = \frac{50-a}{b} = \frac{50-14,94}{6,352} = 5,520 \mu\text{g/mL}$

$$\text{c. SD IC}_{50} = \sqrt{\frac{\sum(x_i - \bar{x})^2}{(n-1)}} = \sqrt{\frac{[(6,435-6,475)^2 + (6,550-6,475)^2 + (6,440-6,475)^2]}{(3-1)}} = 65$$

$$\text{d. CV IC}_{50} = \frac{\text{SD}}{\text{Rata-rata IC}_{50}} \times 100\% = \frac{65}{6,475} \times 100\% = 1,004 \%$$

e. Kurva persamaan regresi kontrol positif standar akarbose



**LAMPIRAN D. DATA ANALISIS STATISTIK ONEWAY ANOVA-LSD
EMPAT VARIAN DAUN KENITU**

Explore

[DataSet0]

VARIAN

Case Processing Summary

VARIA N	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
IC50 BK	3	100.0%	0	.0%	3	100.0%
BB	3	100.0%	0	.0%	3	100.0%
HL	3	100.0%	0	.0%	3	100.0%
MB	3	100.0%	0	.0%	3	100.0%

Descriptives

VARIAN			Statistic	Std. Error
IC50	BK	Mean	5.47600	.022745
		95% Confidence Interval for Mean		
		Lower Bound	5.37814	
		Upper Bound	5.57386	
		5% Trimmed Mean	.	
		Median	5.46400	
		Variance	.002	
		Std. Deviation	.039395	
		Minimum	5.444	

	Maximum	5.520	
	Range	.076	
	Interquartile Range	.	
	Skewness	1.244	1.225
	Kurtosis	.	.
BB	Mean	4.86900	.010116
	95% Confidence Interval for Lower Bound	4.82547	
	Mean Upper Bound	4.91253	
	5% Trimmed Mean	.	
	Median	4.87000	
	Variance	.000	
	Std. Deviation	.017521	
	Minimum	4.851	
	Maximum	4.886	
	Range	.035	
	Interquartile Range	.	
	Skewness	-.256	1.225
	Kurtosis	.	.
HL	Mean	9.46467	.006888
	95% Confidence Interval for Lower Bound	9.43503	
	Mean Upper Bound	9.49430	
	5% Trimmed Mean	.	
	Median	9.46100	
	Variance	.000	
	Std. Deviation	.011930	
	Minimum	9.455	
	Maximum	9.478	
	Range	.023	

	Interquartile Range		
	Skewness	1.252	1.225
	Kurtosis	.	.
MB	Mean	1.18503E1	.019012
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound 1.17685E1 Upper Bound 1.19321E1	
	5% Trimmed Mean	.	
	Median	1.18360E1	
	Variance	.001	
	Std. Deviation	.032929	
	Minimum	11.827	
	Maximum	11.888	
	Range	.061	
	Interquartile Range	.	
	Skewness	1.588	1.225
	Kurtosis	.	.

Tests of Normality

VARIA	N	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
IC50	BK	.286	3	.	.930	3	.490
	BB	.189	3	.	.998	3	.906
	HL	.287	3	.	.929	3	.485
	MB	.335	3	.	.858	3	.262

a. Lilliefors Significance Correction

Oneway

[DataSet0]

Test of Homogeneity of Variances

IC50

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.295	3	8	.155

ANOVA

IC50	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	99.345	3	33.115	4.293E4	.000
Within Groups	.006	8	.001		
Total	99.352	11			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

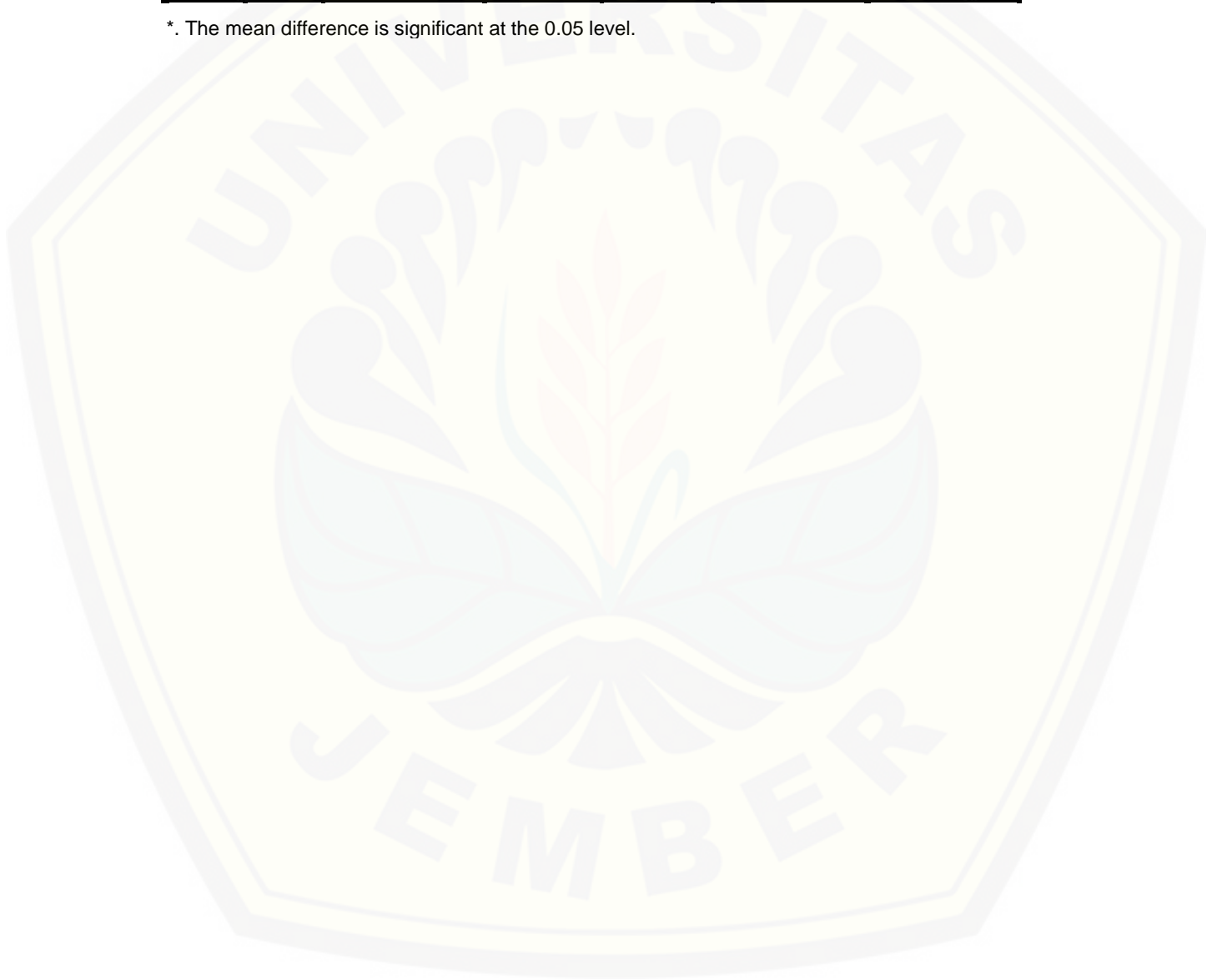
IC50

LSD

(I)	(J)	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
VARIA N	VARIA N					
	BK	.607000*	.022678	.000	.55471	.65929
	HL	-3.988667*	.022678	.000	-4.04096	-3.93637
	MB	-6.374333*	.022678	.000	-6.42663	-6.32204
BB	BK	-.607000*	.022678	.000	-.65929	-.55471
	HL	-4.595667*	.022678	.000	-4.64796	-4.54337
	MB	-6.981333*	.022678	.000	-7.03363	-6.92904

HL	BK	3.988667*	.022678	.000	3.93637	4.04096
	BB	4.595667*	.022678	.000	4.54337	4.64796
	MB	-2.385667*	.022678	.000	-2.43796	-2.33337
MB	BK	6.374333*	.022678	.000	6.32204	6.42663
	BB	6.981333*	.022678	.000	6.92904	7.03363
	HL	2.385667*	.022678	.000	2.33337	2.43796

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.



LAMPIRAN E. SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI TUMBUHAN KENITU



LEMBAGA ILMU PENGETAHUAN INDONESIA
(INDONESIAN INSTITUTE OF SCIENCES)
UPT BALAI KONSERVASI TUMBUHAN
KEBUN RAYA PURWODADI

Jl. Raya Surabaya - Malang Km. 65 Purwodadi - Pasuruan 67163
Telp. (+62 343) 615033, (+62 341) 426046, Faks. (+62 343) 615033, (+62 341) 426046
website: <http://www.krpurwodadi.lipi.go.id>



CERT NO.: 105-067-9-14
ISO 9001 : 2008



Lembaga Sertifikasi Sistem Mutu
LSSM-040-ICN

SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI

No. 6644/IPH.06/HM/IV/2015

Kepala UPT Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi dengan ini menerangkan bahwa material tanaman yang dibawa oleh :

Siti Zulaikhah, NIM : 102210101018

Mahasiswa Fakultas Farmasi Universitas Jember, datang di UPT Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi pada tanggal 20 April 2015, berdasarkan buku Flora of Java, karangan C.A. Backer dan R.C. Bakhuizen van den Brink jr., tahun 1965 volume II, halaman 190 nama ilmiahnya adalah :

Genus : *Chrysophyllum*
Species : *Chrysophyllum cainito* L.

Adapun menurut buku An Integrated System of Classification of Flowering plants, karangan Arthur Cronquist tahun 1981, halaman XVIII adalah sebagai berikut :

Divisio : *Magnoliophyta*
Class : *Magnoliopsida*
Subclass : *Dilleniidae*
Ordo : *Ebenales*
Family : *Sapotaceae*

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Purwodadi, 30 April 2015
An. Kepala
Kepala Seksi Konservasi Ex-situ,



Deden Mudiana, S.Hut, M.Si