



**UJI AKTIVITAS ANTIDIABETES DAN ANTIOKSIDAN EKSTRAK  
DAUN KEMUNING (*Murraya paniculata*): METODE PENGHAMBATAN  
 $\alpha$ -GLUKOSIDASE DAN DPPH *IN VITRO***

**SKRIPSI**

Oleh

**Aulia Aditya Arifianti  
NIM 122210101071**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS JEMBER**

**2016**



**UJI AKTIVITAS ANTIDIABETES DAN ANTIOKSIDAN EKSTRAK  
DAUN KEMUNING (*Murraya paniculata*): METODE PENGHAMBATAN  
 $\alpha$ -GLUKOSIDASE DAN DPPH *IN VITRO***

**SKRIPSI**

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

Oleh

**Aulia Aditya Arifianti  
NIM 122210101071**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS JEMBER**

**2016**

## PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Allah SWT yang Maha segalanya di dunia ini;
2. Orang tua tercinta, Endang Sulistyowati dan Nursetyo M Arifin atas segala doa, jerih payah, dukungan, pengorbanan, kepercayaan, semangat, motivasi, cinta dan kasih sayang yang telah diberikan selama ini. Semoga Allah selalu melimpahkan ampunan dan pertolongan serta membalas dengan surganya;
3. Kakakku Wildan Eka Aristyawan yang tak henti-hentinya memberikan motivasi dan semangat selama ini.
4. Semua guruku di SDN Jember Lor II, SMPN 1 Jember, SMAN 2 Jember, bapak/ibu dosen Fakultas Farmasi Universitas Jember, yang telah membimbing dan memberikan ilmunya dengan penuh kesabaran;
5. Seluruh saudara tercinta Farmasi angkatan 2012 “Petrok Rollas”
6. 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.”

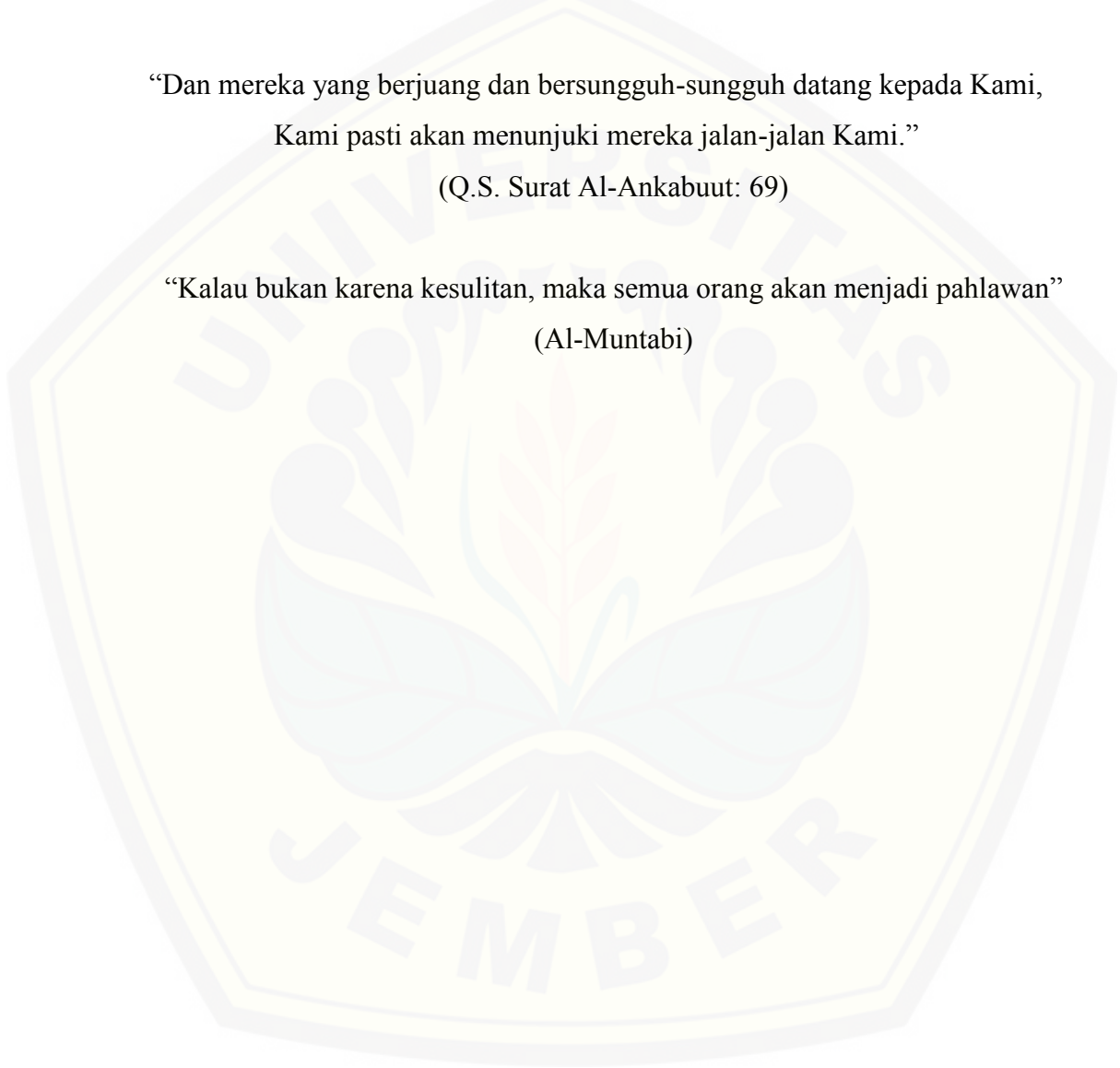
(Q.S. Al-Baqarah: 45)

“Dan mereka yang berjuang dan bersungguh-sungguh datang kepada Kami, Kami pasti akan menunjuki mereka jalan-jalan Kami.”

(Q.S. Surat Al-Ankabuut: 69)

“Kalau bukan karena kesulitan, maka semua orang akan menjadi pahlawan”

(Al-Muntabi)



**PERNYATAAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Aulia Aditya Arifianti

NIM : 122210101071

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul *Uji Aktivitas Antidiabetes dan Antioksidan Ekstrak Daun Kemuning (Murraya paniculata): Metode Penghambatan  $\alpha$ -Glukosidase dan DPPH In vitro* 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 ada tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata dikemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 2016

Yang menyatakan,

Aulia Aditya A

NIM: 122210101071

**SKRIPSI**

**UJI AKTIVITAS ANTIDIABETES DAN ANTIOKSIDAN EKSTRAK  
DAUN KEMUNING (*Murraya paniculata*): METODE PENGHAMBATAN  
 $\alpha$ -GLUKOSIDASE DAN DPPH *IN VITRO***

Oleh

Aulia Aditya Arifianti

NIM 122210101071

Pembimbing :

Dosen Pembimbing Utama : Endah Puspitasari, S.Farm., M.Sc., Apt.

Dosen Pembimbing Anggota : Prof. Tri Agus Siswoyo, SP., M.Agr., Ph.D

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Uji Aktivitas Antidiabetes dan Antioksidan Ekstrak Daun Kemuning (*Murraya paniculata*): Metode Penghambatan Enzim  $\alpha$ -Glukosidase dan DPPH *In Vitro*” telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Farmasi Universitas Jember pada:

Hari : Jumat  
Tanggal : 19 Agustus 2016  
Tempat : Fakultas Farmasi

Tim Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama,



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

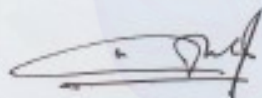
Dosen Pembimbing Anggota,



Prof. Tri Agus Siswoyo, SP., M.Agr., Ph.D  
NIP. 197008101998031001

Tim Penguji

Dosen Penguji I,



Indah Yulia N, S.Farm., M.Farm., Apt  
NIP. 198407122008122002

Dosen Penguji II,



Lusiana Oktora RKS, S.Farm., M.Sc., Apt.  
NIP. 197910032003122001



Disahkan,

Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember

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

## RINGKASAN

**Uji Aktivitas Antidiabetes dan Antioksidan Ekstrak Daun Kemuning (*Murraya paniculata*): Metode Penghambatan  $\alpha$ -Glukosidase dan DPPH *In Vitro***; Aulia Aditya Arifianti, 122210101071; 2016; 36 halaman; Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Diabetes mellitus (DM) merupakan penyakit tidak menular yang saat ini cukup menyita perhatian dunia karena populasi penderitanya tergolong tinggi. Pada tahun 2013 jumlah penderita DM di Indonesia sebanyak 8,5 juta jiwa dan diperkirakan meningkat hingga 14,1 juta jiwa pada tahun. Pada pasien DM, jumlah dan aktivitas enzim  $\alpha$ -glukosidase mengalami peningkatan hingga tiga kali lipat dibandingkan pada kondisi normal. Oleh karena itu, penghambatan pada enzim  $\alpha$ -glukosidase dijadikan target terapi untuk pengobatan DM. Jika kondisi DM tidak terkontrol dengan baik, maka akan menimbulkan berbagai komplikasi yang berbahaya dan berujung pada kematian. Berbagai komplikasi ini diakibatkan oleh keadaan stres oksidatif di dalam tubuh. Untuk meredam kerusakan akibat stres oksidatif tersebut diperlukan antioksidan.

Penelitian ini memiliki tujuan untuk mengetahui kadar total fenolik dan flavonoid ekstrak metanol (EMK), ekstrak etil asetat (EAK), dan ekstrak n-heksana (EHK) daun kemuning serta untuk mengetahui aktivitas penghambatan enzim  $\alpha$ -glukosidase dan antioksidan dari ketiga ekstrak daun kemuning. Sampel daun kemuning diambil secara acak di kawasan Taman Nasional Meru Betiri. Sampel yang diambil dikeringkan, diserbuk, kemudian diekstraksi dengan metode maserasi bertingkat dengan pelarut metanol, etil asetat dan n-heksana. Rendemen ekstrak yang diperoleh untuk ekstrak n-heksana kemuning (EHK), ekstrak etil asetat kemuning (EAK), dan ekstrak metanol kemuning (EMK) berturut-turut sebesar 2,58 %, 4,23 %, dan 9,45 %. EMK memiliki rendemen yang lebih besar dibandingkan kedua ekstrak lainnya karena senyawa yang terkandung dalam ekstrak lebih larut dalam pelarut metanol.

Ekstrak yang diperoleh masing-masing ditentukan kandungan total fenoliknya menggunakan reagen *Folin-ciocalteu* dengan asam galat sebagai



standar. Total flavonoid ekstrak ditentukan menggunakan reagen  $\text{AlCl}_3$  dengan standar kuersetin. Aktivitas penghambatan enzim  $\alpha$ -glukosidase ditentukan menggunakan substrat maltosa dengan akarbose sebagai kontrol positif. Aktivitas antioksidan ditentukan menggunakan metode peredaman radikal DPPH dengan vitamin C sebagai kontrol positif.

Kandungan total fenolik yang diperoleh pada EHK, EAK, dan EMK adalah  $27,41 \pm 0,20$ ;  $34,09 \pm 0,53$ ; dan  $49,66 \pm 0,16$   $\mu\text{g}$  GAE/g ekstrak. Kandungan total flavonoid yang diperoleh pada EHK, EAK, dan EMK adalah  $99,53 \pm 1,10$ ;  $116 \pm 0,20$ ; dan  $157,53 \pm 0,42$   $\mu\text{g}$  QE/g ekstrak. EMK mempunyai kandungan total fenolik dan flavonoid terbesar dibandingkan dengan kedua ekstrak lainnya. Aktivitas penghambatan enzim  $\alpha$ -glukosidase kontrol positif dan ekstrak yaitu akarbose diperoleh nilai  $\text{IC}_{50}$  sebesar  $2,36 \pm 0,10$   $\mu\text{g}/\text{ml}$ ; EHK sebesar  $533,928 \pm 3,07$   $\mu\text{g}/\text{ml}$ ; EAK sebesar  $286,296 \pm 3,35$   $\mu\text{g}/\text{ml}$ , dan EMK sebesar  $165,54 \pm 3,65$   $\mu\text{g}/\text{ml}$ . Aktivitas antioksidan pada kontrol positif dan ekstrak memiliki nilai  $\text{IC}_{50}$  yaitu vitamin C sebesar  $2,09 \pm 0,035$   $\mu\text{g}/\text{ml}$ ; EHK sebesar  $547,85 \pm 3,55$   $\mu\text{g}/\text{ml}$ ; EAK sebesar  $353,34 \pm 3,53$   $\mu\text{g}/\text{ml}$  dan EMK sebesar  $100,41 \pm 2,92$   $\mu\text{g}/\text{ml}$ . EMK memiliki aktivitas penghambatan enzim  $\alpha$ -glukosidase dan antioksidan tertinggi dibandingkan dengan EAK dan EHK. Hal ini sejalan dengan hasil pengukuran total fenolik dan flavonoid yang menunjukkan bahwa EMK memiliki kandungan total fenolik dan flavonoid terbesar dibandingkan kedua ekstrak lainnya. Kemampuan EMK dalam menghambat enzim  $\alpha$ -glukosidase dan antioksidan diharapkan dapat menurunkan kadar glukosa darah dan mencegah terjadinya komplikasi lebih lanjut pada pasien DM.

## PRAKATA

Segala puji bagi Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan hidayahNya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Uji Aktivitas Antidiabetes dan Antioksidan Ekstrak Daun Kemuning (*Murraya paniculata*): Metode Penghambatan  $\alpha$ -Glukosidase dan DPPH *In Vitro*”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat dalam menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini banyak mendapat bantuan dan fasilitas dari berbagai pihak, maka dengan terselesaikannya skripsi ini penulis menyampaikan ucapan terima kasih kepada:

1. Ibu Lestyo Wulandari, S.Si., Apt., M.Farm. selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember;
2. Ibu Endah Puspitasari, S.Farm., Apt., M.Sc selaku Dosen Pembimbing Utama dan Prof. Tri Agus Siswoyo, SP., M.Agr., Ph.D selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah meluangkan waktu, membantu dan memberikan bimbingan, ide, masukan serta perbaikan dalam penyusunan skripsi ini;
3. Ibu Indah Yulia Ningsih, S. Farm., M. Farm., Apt selaku penguji I dan Ibu Lusiana Oktora Ruma Kumala Sari, S. F., M. Sc., Apt selaku penguji II yang telah banyak memberikan saran dan kritik membangun dalam penyusunan skripsi ini;
4. Bapak Nuri, S.Si., M.Si., Apt. yang telah meluangkan waktu untuk memberi masukan, perhatian, dan bimbingannya;
5. Ibu Siti Muslichah, S.Si., M.Si., Apt selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah membimbing selama penulis menjadi mahasiswa;
6. Seluruh Dosen Fakultas Farmasi Universitas Jember yang telah memberi ilmu, berbagi pengalaman dan selalu memotivasi penulis selama masa perkuliahan; staff dan karyawan atas segala bantuan yang diberikan selama penulis menjadi mahasiswa Fakultas Farmasi Universitas Jember;

7. Orang tua tercinta Ibu Endang Sulistyowati, Bapak Arifin dan Mas Aris yang senantiasa memberi doa, kasih sayang, semangat dan motivasi yang tidak terhingga untuk mengiringi perjalanan hidup penulis;
8. Teman-teman yang telah memberi warna hidupku selama kuliah (imud, utin, firda, nidia) yang membantu, menyemangatiku, menasehati, dan mengajarkan arti persahabatan;
9. Rekan kerja selama penelitian firda dan utin serta kakak-kakak Meru Betiri Group yang telah membantu selama penelitian dan teman-teman CDAST, terima kasih atas saran, kerjasama dan bantuannya;
10. Teman-teman seperjuangan Angkatan 2012 Fakultas Farmasi Universitas Jember (PETRUK ROLAS) yang tidak dapat penulis sebutkan satu per satu;
11. Teman KKN 45 terutama yang masih *keep contact* sampai saat ini Pungki, Lalat, dan Vela.
12. Semua pihak yang telah membantu dan tidak dapat penulis sebutkan satu per satu.

Hanya doa yang dapat penulis panjatkan semoga segala kebaikan yang diberikan kepada penulis mendapat balasan dari Tuhan Yang Maha Esa. Penulis juga menerima kritik dan saran dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini. Akhirnya penulis berharap, semoga skripsi ini dapat bermanfaat.

Jember, 2016

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL .....	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN .....	iii
HALAMAN MOTTO .....	iv
HALAMAN PERNYATAAN.....	v
HALAMAN PEMBIMBINGAN.....	vi
HALAMAN PENGESAHAN.....	Error! Bookmark not defined.
RINGKASAN .....	viii
PRAKATA.....	x
DAFTAR ISI.....	xii
DAFTAR TABEL .....	xiv
DAFTAR GAMBAR.....	xv
DAFTAR LAMPIRAN .....	xvi
<b>BAB 1. PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
<b>1.1 Latar Belakang.....</b>	<b>1</b>
<b>1.2 Rumusan Masalah .....</b>	<b>3</b>
<b>1.3 Tujuan Penelitian.....</b>	<b>3</b>
<b>1.4 Manfaat Penelitian.....</b>	<b>3</b>
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>4</b>
<b>2.1 Tinjauan tentang Tumbuhan Kemuning (<i>Murraya Paniculata</i></b>	
<b>(L.) Jack).....</b>	<b>4</b>
2.1.1 Klasifikasi Kemuning .....	4
2.1.2 Deskripsi Kemuning .....	4
<b>2.2 Tinjauan tentang Fenolik dan Flavonoid .....</b>	<b>6</b>
<b>2.3 Diabetes Mellitus.....</b>	<b>8</b>
2.3.1 Klasifikasi Diabetes Mellitus.....	9
2.3.2 Terapi Diabetes Mellitus.....	10
<b>2.4 Enzim <math>\alpha</math>-Glukosidase.....</b>	<b>11</b>
<b>2.5 Komplikasi Diabetes Mellitus, Radikal Bebas, dan Antioksidan</b>	
<b>15</b>	

<b>BAB III. METODOLOGI PENELITIAN .....</b>	<b>18</b>
<b>3.1 Jenis Penelitian.....</b>	<b>18</b>
<b>3.2 Waktu dan Tempat Penelitian.....</b>	<b>18</b>
<b>3.3 Variabel Penelitian .....</b>	<b>18</b>
<b>3.4 Rancangan Penelitian .....</b>	<b>19</b>
3.4.1 Definisi Operasional .....	19
3.4.2 Rancangan Percobaan .....	19
3.4.3 Alur penelitian .....	21
<b>3.5 Alat dan Bahan.....</b>	<b>22</b>
3.5.1 Alat .....	22
3.5.2 Bahan .....	22
<b>3.6 Prosedur Penelitian.....</b>	<b>22</b>
3.6.1 Pembuatan Simplisia .....	22
3.6.2 Pembuatan Ekstrak .....	23
3.6.3 Analisis Kandungan Total Fenolik .....	23
3.6.4 Analisis Kandungan Total Flavonoid .....	24
3.6.5 Analisis Penghambatan Enzim $\alpha$ -glukosidase .....	25
3.6.6 Analisis Peredaman Radikal DPPH.....	26
3.6.7 Analisis Data.....	27
<b>BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>29</b>
<b>4.1 Kandungan Total Fenolik dan Total Flavonoid.....</b>	<b>30</b>
<b>4.2 Aktivitas Antidiabetes dan Antioksidan Ekstrak Daun</b>	
<b>Kemuning.....</b>	<b>32</b>
<b>BAB IV. PENUTUP .....</b>	<b>36</b>
<b>5.1 Kesimpulan.....</b>	<b>36</b>
<b>5.2 Saran .....</b>	<b>36</b>
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>37</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN .....</b>	<b>43</b>

**DAFTAR TABEL**

	Halaman
Tabel 4.1 Rendemen ekstrak daun kemuning .....	29



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Daun tumbuhan kemuning .....	5
Gambar 2.2 Reaksi pembentukan molibdenum-tungsten .....	7
Gambar 2.3 Reaksi pembentukan senyawa kompleks quino .....	8
Gambar 2.4 Mekanisme absorpsi glukosa .....	12
Gambar 2.5 Struktur kimia akardiose .....	13
Gambar 2.6 Reaksi pembentukan warna dari <i>quinoneimine</i> .....	15
Gambar 2.7 Reaksi antara radikal DPPH dengan antioksidan.....	17
Gambar 3.1 Diagram rancangan percobaan.....	20
Gambar 3.2 Alur penelitian .....	21
Gambar 4.1 Kandungan total fenolik ekstrak daun kemuning .....	30
Gambar 4.2 Kandungan total flavonoid ekstrak daun kemuning.....	31
Gambar 4.3 Nilai IC <sub>50</sub> penghambatan enzim $\alpha$ -glukosidase .....	32
Gambar 4.4 Nilai IC <sub>50</sub> radikal DPPH .....	33

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A. Validasi Tumbuhan Kemuning .....	43
B. Perhitungan Rendemen Maserasi .....	44
C. Uji Total Fenolik .....	44
1. Perhitungan Larutan Standar Asam Galat .....	44
2. Kurva Standar Asam Galat .....	44
3. Preparasi Ekstrak Uji .....	45
4. Penentuan Total Fenolik Ekstrak.....	45
5. Perhitungan Total Fenolik Ekstrak .....	45
D. Uji Total Flaonoid .....	47
1. Perhitungan Larutan Standar Quersetin.....	47
2. Kurva Standar quersetin .....	47
3. Preparasi Estrak Uji.....	48
4. Penentuan Total Flavonoid Ekstrak.....	48
E. Analisis Penghambatan Enzim $\alpha$ -Glukosidase .....	49
1. Preparasi Kontrol Positif Akarbose .....	49
2. Preparasi Ekstrak Uji .....	50
3. Perhitungan Nilai IC <sub>50</sub> Penghambatan Enzim $\alpha$ -Glukosidase.....	51
F. Analisis Peredaman Radikal DPPH.....	55
1. Preparasi Kontrol Positif Vitamin C.....	55
2. Preparasi Ekstrak Uji.....	56
3. Perhitungan Nilai IC <sub>50</sub> Peredaman Radikal .....	57
G. Analisis Data.....	60
1. Total Fenolik .....	60
2. Total Flavonoid .....	62
3. Analisis Penghambatan Enzim $\alpha$ -Glukosidase .....	64
4. Analisis Peredaman Radikal DPPH .....	66



## BAB 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Penyakit tidak menular (PTM) menjadi penyebab utama kematian secara global. Data WHO menunjukkan bahwa dari 57 juta kematian yang terjadi di dunia pada tahun 2008, sebanyak 36 juta atau hampir dua pertiganya disebabkan oleh penyakit tidak menular. Di Indonesia, menurut hasil Riset Kesehatan Dasar (Riskesmas) dan Survei Kesehatan Rumah Tangga (SKRT) pada tahun 2007, proporsi penyakit menular telah menurun dari 44,2% menjadi 28,1%, akan tetapi proporsi penyakit tidak menular mengalami peningkatan cukup tinggi dari 41,7% menjadi 59,5% (Depkes RI, 2012). Diabetes mellitus (DM) merupakan penyakit tidak menular yang saat ini cukup menyita perhatian dunia karena populasi penderitanya tergolong tinggi. Pada tahun 2013 jumlah penderita DM di Indonesia sebanyak 8,5 juta jiwa dan diperkirakan meningkat hingga 14,1 juta jiwa pada tahun 2035 (International Diabetes Federation, 2013).

Diabetes mellitus adalah suatu penyakit atau gangguan metabolisme kronis yang ditandai dengan tingginya kadar glukosa di dalam darah (WHO, 1999). Pada keadaan normal, karbohidrat yang masuk dalam tubuh masih dalam bentuk kompleks (polisakarida), sehingga terlebih dahulu akan dipecah oleh enzim  $\alpha$ -amilase menjadi bentuk yang lebih sederhana (oligosakarida) (Whitcomb & Lowe, 2006). Hasil pemecahan ini akan dipecah kembali oleh enzim  $\alpha$ -glukosidase menjadi monosakarida sehingga dapat diabsorpsi masuk ke dalam darah dengan bantuan transporter glukosa dan diedarkan ke seluruh sel untuk diubah menjadi energi (Scheepers *et al.*, 2004). Pada pasien DM, jumlah dan aktivitas enzim  $\alpha$ -glukosidase mengalami peningkatan hingga tiga kali lipat dibandingkan pada kondisi normal. Akibatnya, glukosa yang terabsorpsi masuk ke dalam darah juga mengalami peningkatan, sehingga kadar glukosa di dalam darah menjadi semakin tinggi (Williamson, 2013). Oleh karena itu, penghambatan pada enzim  $\alpha$ -glukosidase dijadikan target terapi untuk pengobatan DM.

Diabetes yang tidak terkontrol dengan baik dapat menimbulkan berbagai komplikasi yang berbahaya dan berujung pada kematian. Komplikasi yang dapat

terjadi pada penderita DM antara lain gagal ginjal, kebutaan, penyakit jantung koroner, dan stroke (Dirjen Binfar Depkes RI, 2005). Berbagai komplikasi pada DM diakibatkan oleh keadaan stres oksidatif di dalam tubuh. Stres oksidatif yang terjadi disebabkan oleh beberapa faktor, dan faktor yang paling dominan adalah autooksidasi glukosa (Zatalia & Sanusi, 2013). Proses autooksidasi glukosa akan menghasilkan senyawa oksigen reaktif yang dapat merusak berbagai jaringan pada tubuh. Untuk meredam kerusakan akibat stres oksidatif tersebut diperlukan antioksidan (Setiawan & Suhartono, 2005).

Penggunaan obat sintetik untuk pengobatan DM dapat menimbulkan efek samping seperti obesitas, hipoglikemi, dan gangguan pencernaan (BPOM, 2009). Oleh sebab itu, diperlukan alternatif pengobatan lain seperti penggunaan bahan alami dengan memanfaatkan tumbuhan yang ada. Pada penelitian yang telah dilakukan sebelumnya diketahui bahwa ekstrak daun kemuning (*Murraya paniculata*) menunjukkan efek hipoglikemi pada tikus diabetes (Gautam *et al.*, 2012). Namun mekanisme penurunan glukosa darah oleh ekstrak daun kemuning pada penelitian tersebut belum diketahui. Berdasarkan hal tersebut, pengujian *in vitro* mengenai aktivitas antidiabetes ekstrak daun kemuning dengan mekanisme penghambatan enzim  $\alpha$ -glukosidase perlu dilakukan.

Berbagai senyawa dari kemuning telah teridentifikasi, antara lain alkaloid, fenol, terpenoid, dan flavonoid (Sayar *et al.*, 2014). Ekstrak daun *Murraya koenigii*, yang masih satu genus dengan kemuning, mengandung senyawa flavonoid dan menunjukkan aktivitasnya sebagai penghambat enzim  $\alpha$ -glukosidase (Gul *et al.*, 2012). Selain itu, Rohman & Riyanto (2005), menjelaskan bahwa senyawa fenolik yang terkandung dalam kemuning mampu menghambat reaksi oksidasi sehingga jumlah radikal bebas menjadi berkurang. Berdasarkan hal tersebut, maka kandungan fenolik dan flavonoid dari kemuning diharapkan memiliki aktivitas sebagai penghambat enzim  $\alpha$ -glukosidase dan antioksidan dalam penelitian ini.

Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah maserasi bertingkat dengan menggunakan pelarut yang berbeda tingkat kepolarannya yaitu n-heksana, etil asetat, dan metanol. Ekstrak yang didapatkan dari proses ekstraksi

tersebut selanjutnya diuji kandungan total fenolik, flavonoid, penghambatan  $\alpha$ -glukosidase dan peredamannya terhadap radikal DPPH. Hasil yang diperoleh dari penelitian ini diharapkan daun kemuning dapat digunakan sebagai alternatif terapi antidiabetes dan antioksidan secara tradisional.

### 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, didapatkan rumusan masalah sebagai berikut:

- a. Bagaimana kandungan fenolik ekstrak n-heksana, etil asetat, dan metanol daun kemuning ?
- b. Bagaimana kandungan flavonoid ekstrak n-heksana, etil asetat, dan metanol daun kemuning ?
- c. Bagaimana aktivitas penghambatan enzim  $\alpha$ -glukosidase dan antioksidan ekstrak n-heksana, etil asetat, dan metanol daun kemuning ?

### 1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian yang dilakukan adalah sebagai berikut:

- a. Untuk mengetahui kandungan fenolik ekstrak n-heksana, etil asetat, dan metanol daun kemuning.
- b. Untuk mengetahui kandungan flavonoid ekstrak n-heksana, etil asetat, dan metanol daun kemuning.
- c. Untuk mengetahui aktivitas penghambatan enzim  $\alpha$ -glukosidase dan antioksidan ekstrak n-heksana, etil asetat, dan metanol daun kemuning.

### 1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian yang dilakukan adalah sebagai berikut:

- a. Menginspirasi peneliti lain untuk lebih menggali dan memanfaatkan tumbuh-tumbuhan yang ada sebagai sumber obat dari bahan alam.
- b. Memberikan informasi dalam pengembangan terapi antidiabetes dan antioksidan alami untuk dunia kesehatan.

## BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Tinjauan tentang Tumbuhan Kemuning (*Murraya Paniculata* (L.) Jack)

#### 2.1.1 Klasifikasi Kemuning

Tumbuhan kemuning dalam ITIS (2015) diklasifikasikan sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Viridiplantae
Divisi	: Tracheophyta
Subdivisi	: Spermatophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Subkelas	: Rosanae
Ordo	: Sapindales
Famili	: Rutaceae
Genus	: <i>Murraya</i> J. Koenig ex L.
Spesies	: <i>Murraya paniculata</i> (L.) Jack.

#### 2.1.2 Deskripsi Kemuning

Kemuning tumbuh berupa semak atau pohon kecil, dengan tinggi 3-7 m dengan batang beralur, dan tidak berduri. Daunnya majemuk, bersirip ganjil, duduk secara spiral pada ranting, memiliki anak daun sebanyak 4-7 helai. Bentuk daun jorong atau bundar telur sungsang, pangkal daun meruncin, ujung daun meruncing atau agak membulat, pinggir daun rata atau agak beringgit. Panjang daun 2-11 cm, lebar 1,5-5 cm, permukaan daun mengkilat, dan panjang tangkai daun 3-4 mm. Daun kemuning memiliki bau khas aromatik bila diremas, rasa agak pedas, agak pahit dan agak kelat. Morfologi daun tumbuhan kemuning dapat dilihat pada Gambar 2.1.

Bunga kemuning adalah tunggal atau dalam tandan semu, berkelipatan 5, paling banyak terdiri dari 8 bunga, kelopak agak terbelah, mahkota berwarna putih berbentuk bundar telur sungsang dan agak jorong. Buah kemuning

berbentuk bulat telur atau jorong, berwarna merah mengkilat dengan panjang 1 cm (Depkes RI, 1977).



Gambar 2.1 Daun tumbuhan kemuning (Sumber: Kosai & Jiraungkoorskul, 2015)

Kemuning adalah tanaman tropis asli dari Cina Selatan, Taiwan, dan Asia Tenggara termasuk Malaysia, Indonesia, serta Australia bagian utara. Namun tumbuhan ini sekarang sudah banyak dibudidayakan dan dapat dengan mudah ditemukan di banyak negara di daerah tropis (Seidemann, 2005).

Kemuning digunakan sebagai obat demam, flu, batuk, dan pilek pada pengobatan Cina. Gujarat (India), menggunakan kemuning untuk mengatur kesuburan dan antibiotik terhadap *Escherichia coli*. Sedangkan di Taiwan, larutan kulit batang kemuning telah diaplikasikan untuk obat topikal sebagai penangkal gigitan ular (Gill *et al.*, 2014).

Zat aktif yang terkandung dalam daun kemuning adalah alkaloid, fenol, terpenoid, tanin, saponin, dan flavonoid (Sayar *et al.*, 2014). Senyawa fenolik yang terdapat pada kemuning antara lain asam galat, katekin, asam klorogenat, asam kafeat, asam elagik, epikatekin, rutin, quercetin, kaemferol, genistein dan daidzein (Menezes *et al.*, 2014). Menurut Rohman & Riyanto (2005), senyawa fenolik mampu menghambat reaksi oksidasi sehingga jumlah radikal bebas menjadi berkurang. Sedangkan senyawa flavonoid, yang merupakan golongan terbesar dalam senyawa fenolik, menunjukkan aktivitasnya sebagai penghambat enzim  $\alpha$ -glukosidase (Gul *et al.*, 2012). Berdasarkan hal tersebut, diharapkan kandungan fenolik dan flavonoid yang terkandung dalam tumbuhan kemuning memiliki aktivitas sebagai penghambat enzim  $\alpha$ -glukosidase dan antioksidan.

## 2.2 Tinjauan tentang Fenolik dan Flavonoid

Fenolik merupakan metabolit sekunder yang banyak ditemukan pada tumbuhan. Senyawa fenolik mempunyai karakteristik satu atau lebih gugus hidroksil yang terikat secara langsung pada suatu cincin aromatis. Cincin aromatis yang dimaksud adalah benzena (Vermerish & Nicholson, 2006).

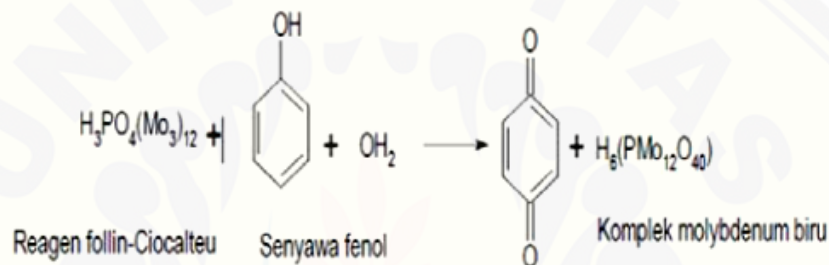
Flavonoid merupakan golongan terbesar dari senyawa fenolik. Golongan flavonoid ini dapat digambarkan sebagai deretan senyawa  $C_6-C_3-C_6$ . Pada tumbuhan tinggi, flavonoid terdapat baik dalam bagian vegetatif maupun bunga (Robinson, 1995). Penyebaran flavonoid dalam tumbuhan dengan taksonomi yang berkaitan akan menghasilkan flavonoid yang mirip. Flavonoid terdapat pada semua bagian tumbuhan, yaitu daun, akar kayu, kulit, tepung sari, nektar, buah dan biji (Markham, 1988).

Senyawa fenolik merupakan senyawa yang dapat meredam radikal bebas karena gugus hidroksilnya. Oleh sebab itu, kandungan fenolik tumbuhan dapat berkontribusi secara langsung dalam aktivitas antioksidan (Hatano *et al.*, 1989). Selain sebagai antioksidan, senyawa fenolik juga dapat digunakan sebagai antidiabetes. Hal ini dibuktikan dari penelitian yang dilakukan oleh Gul *et al.* (2005), bahwa selain dapat meredam radikal bebas, flavonoid juga dapat menghambat enzim  $\alpha$ -glukosidase sehingga dapat menurunkan kadar glukosa di dalam darah.

Senyawa fenolik memiliki kelarutan yang beragam. Flavon, flavanon, dan flavonol merupakan senyawa yang larut dalam pelarut semipolar, isoflavonoid merupakan senyawa yang larut dalam pelarut non polar (Andersen & Kenneth, 2006), sedangkan katekol, pirogalol, dan asam galat merupakan senyawa fenolik yang lebih polar (Harborne & Turner, 1984). Ekstraksi dengan menggunakan pelarut yang tingkat kepolarannya berbeda diharapkan dapat menarik semua senyawa fenolik yang terkandung dalam tanaman, baik yang non polar, semi polar maupun polar.

Kandungan fenolik dari suatu tumbuhan dapat diketahui melalui uji total fenolik menggunakan metode *Folin-Ciocalteu*. Prinsip dari metode *Folin-Ciocalteu* adalah terbentuknya senyawa kompleks berwarna biru yang dapat

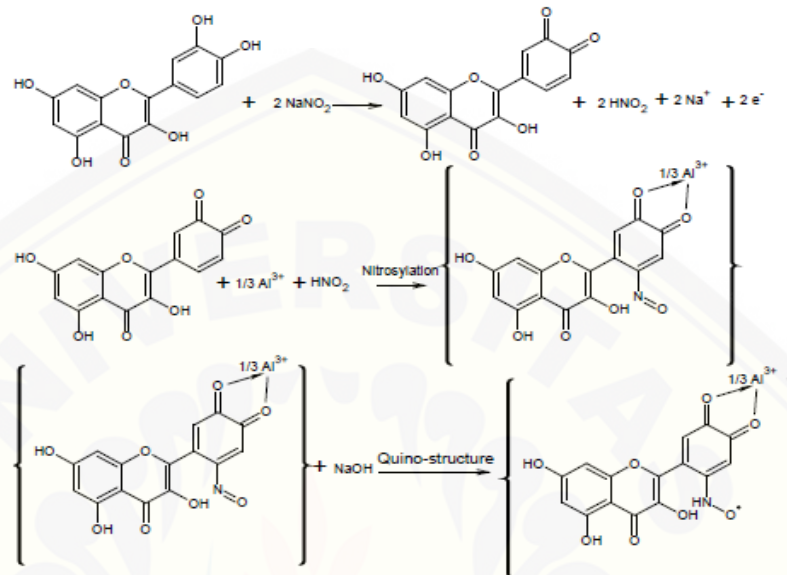
diukur pada panjang gelombang 750 nm. Gugus fenolik-hidroksi dari senyawa fenolik akan mereduksi fosfomolibdat-fosfotungstat yang terdapat dalam pereaksi *Folin-Ciocalteu* sehingga akan membentuk kompleks molibdenum-tungsten berwarna biru yang dapat dideteksi dengan spektrofotometer. Semakin besar konsentrasi senyawa fenolik maka semakin banyak kompleks molibdenum-tungsten yang terbentuk sehingga warna biru yang dihasilkan akan semakin pekat (Singleton & Rossi, 1965). Reaksi pembentukan senyawa kompleks molibdenum-tungsten ditunjukkan pada Gambar 2.2.



Gambar 2.2 Reaksi pembentukan molibdenum-tungsten (Singleton & Rossi, 1965)

Kandungan flavonoid suatu tumbuhan dapat diketahui melalui uji total flavonoid dengan metode kolorimetri menggunakan  $\text{AlCl}_3$ . Prinsip analisis metode ini didasarkan pada pembentukan kompleks antara gugus katekol (1,2-dihidroksibenzena) dari suatu flavonoid dengan logam aluminium yang menghasilkan kompleks senyawa quino yang berwarna kuning dan dapat dideteksi menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 415 nm. Semakin besar kandungan flavonoid dalam ekstrak, maka semakin banyak kompleks quino yang terbentuk sehingga warna kuning yang dihasilkan semakin pekat dan nilai absorbansi yang dihasilkan semakin besar. Reaksi pembentukan senyawa kompleks quino ditunjukkan pada Gambar 2.3. Gambar tersebut menunjukkan gugus katekol dari kuersetin pada cincin B akan dioksidasi menjadi keton oleh natrium nitrit, sementara natrium nitrit sendiri tereduksi menjadi asam nitrit. Kepekatan warna kuning dalam larutan akan meningkat ketika keton terbentuk. Gugus keton yang telah terbentuk akan mengompleks dengan kation

aluminium ( $\text{Al}^{3+}$ ) yang berasal dari  $\text{AlCl}_3$  dan dilanjutkan dengan nitrosilasi oleh asam nitrit. Senyawa tersebut kemudian direduksi oleh natrium hidroksida sehingga menghasilkan struktur quino (Zhu *et al.*, 2009).



Gambar 2.3 Reaksi pembentukan senyawa kompleks quino (Zhu *et al.*, 2009)

### 2.3 Diabetes Mellitus

Diabetes Mellitus (DM) adalah gangguan metabolisme yang ditandai dengan keadaan hiperglikemi yang berhubungan dengan abnormalitas metabolisme karbohidrat, lemak dan protein yang disebabkan oleh penurunan sekresi insulin atau penurunan sensitivitas insulin, atau keduanya (Dipiro, 2009). Gejala yang sering ditemukan pada pasien diabetes adalah rasa haus yang berlebihan, sering kencing, berat badan turun dengan cepat, cepat merasa lapar, timbul kelemahan pada tubuh, dan luka yang sukar sembuh. Apabila ada gejala khas tersebut dan hasil pemeriksaan kadar glukosa darah sewaktu  $\geq 200$  mg/dl, maka sudah cukup untuk menegakkan diagnosis DM. Hasil pemeriksaan kadar glukosa darah puasa  $\geq 126$  mg/dl juga dapat digunakan sebagai patokan diagnosis DM (Dirjen Binar Depkes RI, 2005).



### 2.3.1 Klasifikasi Diabetes Mellitus

Diabetes Mellitus dibagi menjadi tiga tipe yaitu diabetes tipe 1, diabetes tipe 2, dan diabetes gestasional (ADA, 2014). Berikut adalah penjelasan dari masing-masing tipe diabetes:

#### a. DM tipe 1

Diabetes tipe ini merupakan diabetes yang jarang, diperkirakan kurang dari 5-10% dari keseluruhan populasi penderita diabetes. Gangguan produksi insulin pada DM tipe 1 umumnya terjadi karena kerusakan sel-sel  $\beta$  pulau Langerhans yang disebabkan oleh reaksi autoimun. Namun ada pula yang disebabkan oleh bermacam-macam virus, di antaranya virus Cocksakie, Rubella, CMVirus, Herpes, dan lain sebagainya. Destruksi autoimun dari sel-sel  $\beta$  pulau Langerhans kelenjar pankreas langsung mengakibatkan defisiensi sekresi insulin. Defisiensi insulin inilah yang menyebabkan gangguan metabolisme yang menyertai DM Tipe 1 (Dirjen Binfar Depkes RI, 2005).

#### b. DM tipe 2

Diabetes Tipe 2 merupakan tipe diabetes yang lebih umum, lebih banyak penderitanya dibandingkan dengan DM Tipe 1. Faktor genetik dan pengaruh lingkungan cukup besar dalam menyebabkan terjadinya DM tipe 2, antara lain obesitas, diet tinggi lemak dan rendah serat, serta kurang gerak badan. Berbeda dengan DM Tipe 1, pada penderita DM Tipe 2, terutama yang berada pada tahap awal, umumnya dapat dideteksi jumlah insulin yang cukup di dalam darahnya, di samping kadar glukosa yang juga tinggi. Jadi, awal patofisiologis DM Tipe 2 bukan disebabkan oleh kurangnya sekresi insulin, tetapi karena sel-sel sasaran insulin gagal atau tak mampu merespon insulin secara normal. Keadaan ini lazim disebut sebagai “*Resistensi Insulin*” (Dirjen Binfar Depkes RI, 2005).

#### c. Diabetes Mellitus Gestasional

Diabetes Mellitus Gestasional (*GDM=Gestational Diabetes Mellitus*) adalah keadaan diabetes yang timbul selama masa kehamilan dan biasanya berlangsung hanya sementara. Di samping itu, wanita yang pernah menderita

*GDM* akan lebih besar risikonya untuk menderita lagi diabetes di masa depan (Dirjen Binfar Depkes RI, 2005).

### 2.3.2 Terapi Diabetes Mellitus

Mengacu pada Dirjen Binfar Depkes RI (2005), ada dua terapi dalam penatalaksanaan diabetes, yang pertama adalah terapi tanpa obat dan yang kedua adalah terapi dengan obat. Terapi tanpa obat ini berupa pengaturan diet dan olahraga. Untuk pengaturan diet, makanan yang dianjurkan untuk dikonsumsi adalah mengandung karbohidrat 60-70%, protein 10-15%, dan lemak 20-25%. Jumlah kalori disesuaikan dengan pertumbuhan, status gizi, umur, stres akut dan kegiatan fisik. Untuk terapi olahraga, prinsipnya adalah tidak perlu olahraga berat, cukup olahraga ringan asal dilakukan secara teratur. Beberapa contoh olahraga yang disarankan adalah jalan atau lari pagi, bersepeda, dan berenang. Berolah raga secara teratur dapat menurunkan dan menjaga kadar glukosa darah tetap normal. Apabila penatalaksanaan terapi tanpa obat belum berhasil mengendalikan kadar glukosa darah, maka dilakukan terapi dengan obat. Terapi dengan obat ada dua macam, yaitu:

#### a. Terapi insulin

Terapi insulin merupakan satu keharusan bagi penderita DM Tipe 1. Pada DM tipe 1, sel-sel  $\beta$  Langerhans kelenjar pankreas penderita rusak, sehingga tidak lagi dapat memproduksi insulin. Sebagai penggantinya, maka penderita DM tipe 1 harus mendapat insulin eksogen untuk membantu agar metabolisme karbohidrat di dalam tubuhnya dapat berjalan normal. Walaupun sebagian besar penderita DM tipe 2 tidak memerlukan terapi insulin, namun hampir 30% ternyata memerlukan terapi insulin disamping terapi hipoglikemik oral. Efek samping yang paling umum terjadi pada penggunaan insulin adalah hipoglikemi dan bertambahnya berat badan (Dirjen Binfar Depkes RI, 2005).

#### b. Terapi Obat Hipoglikemik Oral

Berdasarkan mekanisme kerjanya, obat-obat hipoglikemik oral dapat dibagi menjadi 3 golongan, yaitu:

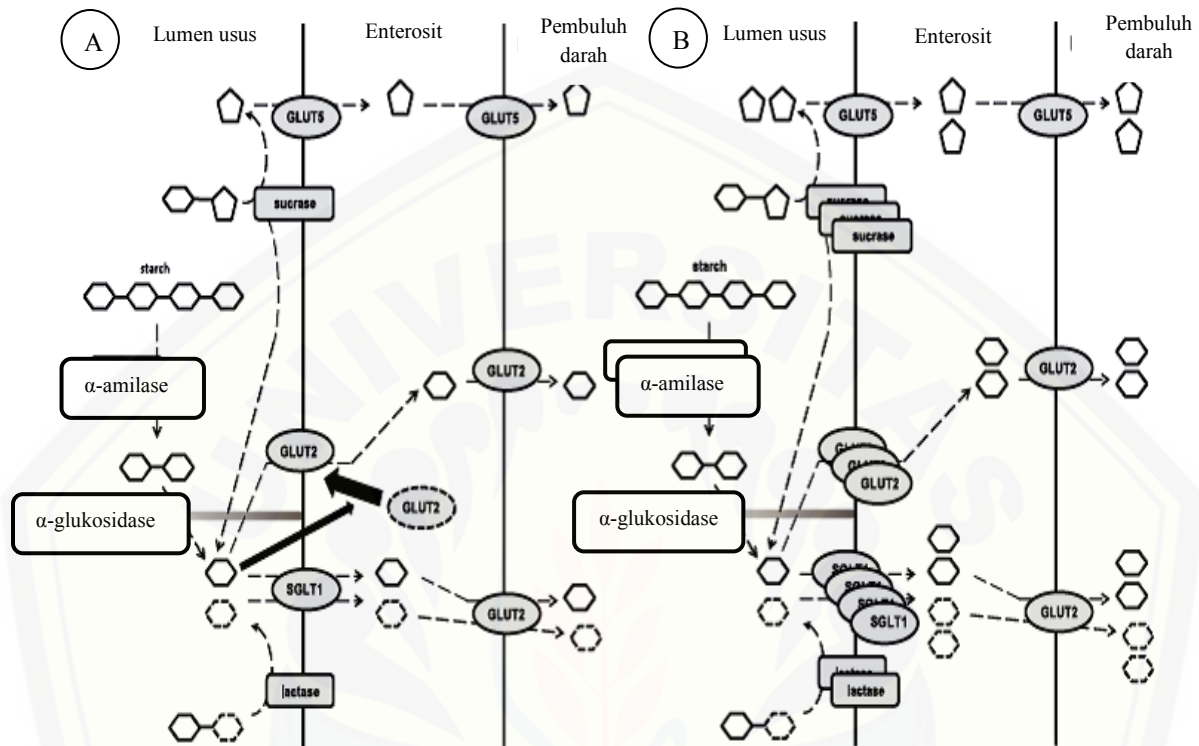
- 1) Obat-obat yang meningkatkan sekresi insulin, meliputi obat hipoglikemik oral golongan sulfonilurea dan glinida (meglitinida dan turunan fenilalanin). Efek samping yang sering terjadi pada penggunaan obat golongan ini adalah mual, muntah, diare, dan dapat menyebabkan asidosis laktat (Dirjen Binfar Depkes RI, 2005).
- 2) Sensitiser insulin (obat-obat yang dapat meningkatkan sensitivitas sel terhadap insulin), meliputi obat-obat hipoglikemik golongan biguanida dan tiazolidindion, yang dapat membantu tubuh untuk memanfaatkan insulin secara lebih efektif. Efek samping dari obat golongan ini adalah anemia, menaikkan berat badan, dan retensi cairan sehingga dikontraindikasikan pada pasien ginjal (Dirjen Binfar Depkes RI, 2005).
- 3) Inhibitor katabolisme karbohidrat, yaitu inhibitor  $\alpha$ -glukosidase yang bekerja menghambat absorpsi glukosa dan umum digunakan untuk mengendalikan hiperglikemia *post-prandial* (*post-meal hyperglycemia*). Contoh obat dari golongan ini adalah akarbose, voglibose, dan miglitol. Efek samping yang sering terjadi pada penggunaan obat golongan ini adalah perut kurang enak, kembung, diare, dan malabsorpsi (Dirjen Binfar Depkes RI, 2005).

Pada penderita DM, jumlah dan aktivitas enzim pemecah karbohidrat mengalami peningkatan dibandingkan dengan orang normal. Hal ini menyebabkan glukosa yang terabsorpsi masuk ke dalam darah juga semakin banyak, sehingga kadar glukosa di dalam darah akan menjadi semakin tinggi (Williamson, 2013). Oleh sebab itu, penghambatan pada enzim pemecah karbohidrat, seperti enzim  $\alpha$ -glukosidase, dijadikan target terapi untuk pengobatan DM.

#### 2.4 Enzim $\alpha$ -Glukosidase

Enzim  $\alpha$ -glukosidase (maltase, isomaltase, dan sukrase) merupakan enzim yang berfungsi untuk memecah oligosakarida dan disakarida pada dinding usus halus menjadi monosakarida sehingga dapat diabsorpsi dan masuk dalam

pembuluh darah (Sim *et al.*, 2010). Mekanisme absorpsi glukosa ditunjukkan pada Gambar 2.4.



Gambar 2.4 Mekanisme absorpsi glukosa pada kondisi normal (A) dan kondisi DM (B). Pada kondisi DM, jumlah dan aktivitas enzim  $\alpha$ -glukosidase mengalami peningkatan dibandingkan pada kondisi normal (Sumber: Wiliamson, 2013)

Keterangan:

SGLT1 dan GLUT2 = transporter glukosa

GLUT5 = transporter fruktosa

Sukrase dan laktase = enzim pemecah oligosakarida dan disakarida menjadi monosakarida

 = fruktosa

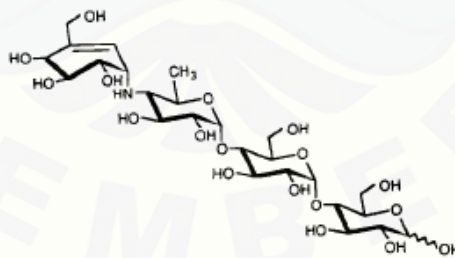
 = glukosa

 = galaktosa

Gambar 2.4 (a) menunjukkan absorpsi glukosa pada kondisi normal. Karbohidrat yang masuk dalam tubuh masih dalam bentuk kompleks

(polisakarida), sehingga terlebih dahulu akan dipecah oleh enzim  $\alpha$ -amilase. Enzim  $\alpha$ -amilase berfungsi memecah polisakarida menjadi oligosakarida yang memiliki ikatan  $\alpha$ -1,6-glikosida dan dua atau lebih ikatan  $\alpha$ -1,4-glikosida (Whitcomb & Lowe, 2006). Hasil pemecahan dari  $\alpha$ -amilase kemudian akan dipecah kembali oleh enzim  $\alpha$ -glukosidase menjadi monosakarida. Monosakarida tersebut kemudian akan dibawa oleh transporter glukosa menuju pembuluh darah dan diedarkan ke seluruh sel untuk diubah menjadi energi (Scheepers et al., 2004). Gambar 2.4 (b) menunjukkan absorpsi glukosa pada kondisi DM. Jumlah dan aktivitas enzim  $\alpha$ -glukosidase pada kondisi DM mengalami peningkatan hingga tiga kali lipat dibandingkan pada kondisi normal. Akibatnya, glukosa yang terabsorpsi masuk ke dalam pembuluh darah juga semakin banyak dan kadar glukosa dalam darah menjadi semakin tinggi (Williamson, 2013). Oleh sebab itu, enzim  $\alpha$ -glukosidase perlu untuk dihambat agar kadar glukosa darah tidak meningkat secara cepat pada penderita DM.

Salah satu agen penghambat enzim  $\alpha$ -glukosidase yang ada di pasaran saat ini adalah akarbose (Gambar 2.5). Akarbose adalah agen inhibitor  $\alpha$ -glukosidase pertama yang diperoleh dari proses fermentasi mikroorganisme *Actinoplanes utahensis* (Bischoff, 1994).



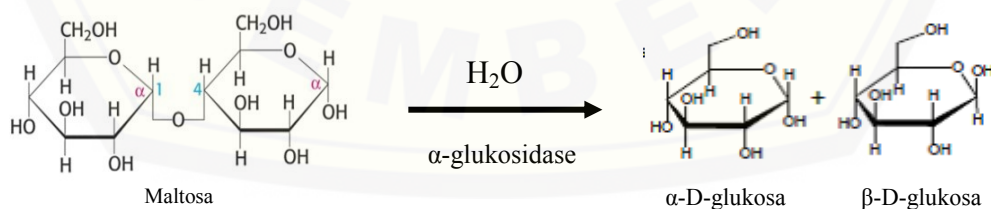
Gambar 2.5 Struktur kimia akarbose (Sumber: Rosak & Mertes, 2012)

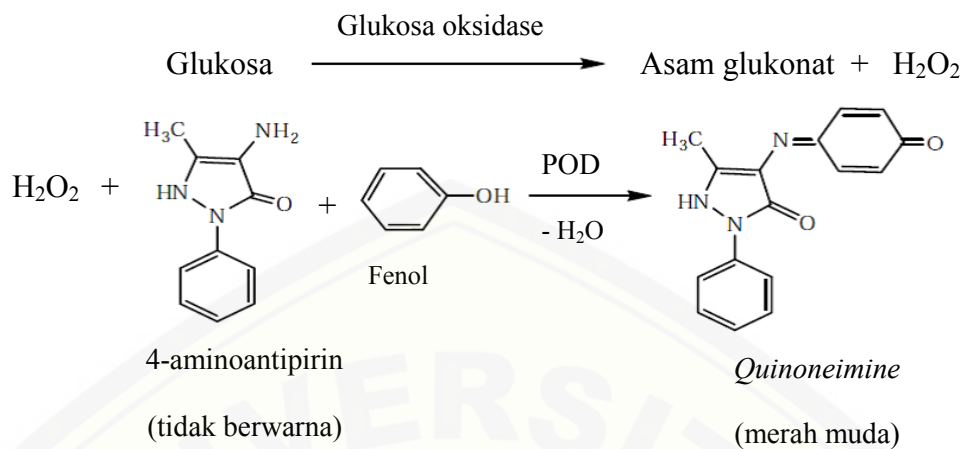
Akarbose melekat pada tempat pengikatan karbohidrat enzim  $\alpha$ -glukosidase (misalnya sukrase) dengan afinitas melebihi dari substrat normal (misalnya sukrosa) (Rosak & Mertes, 2012). Selama akarbose tetap terikat pada enzim  $\alpha$ -glukosidase, karbohidrat yang masuk tidak dapat dicerna dan glukosa tidak bisa dilepaskan untuk penyerapan (Bischoff, 1994).

Senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam suatu tumbuhan juga dapat memberikan aktivitas antidiabetes dengan mekanisme penghambatan pada enzim  $\alpha$ -glukosidase. Senyawa-senyawa tersebut antara lain fenol, flavonoid dan tanin (Hanhineva *et al.*, 2010). Kemampuan senyawa tumbuhan dalam menghambat enzim  $\alpha$ -glukosidase dapat diketahui dengan cara pengujian *in vitro* menggunakan enzim  $\alpha$ -glukosidase dari *Saccharomyces cerevisiae* dan substrat maltosa (Miyazawa *et al.*, 2005).

Pengujian aktivitas penghambatan  $\alpha$ -glukosidase *in vitro* didasarkan pada reaksi enzimatik. Enzim  $\alpha$ -glukosidase akan menghidrolisis substrat yang digunakan, yaitu maltosa menjadi dua unit glukosa. Glukosa yang terbentuk kemudian direaksikan dengan glukosa oksidase untuk menghasilkan asam glukonat dan hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ). Hidrogen peroksida yang dihasilkan kemudian direaksikan dengan 4-aminoantipirin, fenol, dan peroksidase (POD) sebagai katalisnya. Hasil dari reaksi tersebut adalah *quinoneimine* yang berwarna merah muda. Reaksi pembentukan warna dari *quinoneimine* ditunjukkan pada Gambar 2.6.

Intensitas warna merah muda yang terbentuk ditentukan absorbansinya dengan menggunakan *microplate reader* pada panjang gelombang 500 nm. Jika ekstrak memiliki aktivitas menghambat enzim  $\alpha$ -glukosidase, maka glukosa yang dihasilkan akan berkurang sehingga akan memberikan nilai absorbansi yang rendah (Ngwe *et al.*, 2009).





Gambar 2.6 Reaksi pembentukan warna dari *quinoneimine* (Sumber: Ngwe *et al.*, 2011)

Penghambatan terhadap enzim dapat terjadi secara *irreversible* atau *reversible*, hal ini bergantung pada kekuatan ikatan yang dibentuk antara enzim dan inhibitornya. Penghambatan *reversible* dibagi menjadi tiga tipe yaitu kompetitif, unkompetitif, dan campuran (nonkompetitif). Tipe penghambatan kompetitif terjadi karena adanya kompetisi antara inhibitor dengan substrat untuk mendapatkan sisi aktif enzim. Tipe penghambatan unkompetitif terjadi karena inhibitor terikat pada sisi yang berbeda dari tempat pengikatan substrat setelah kompleks enzim-substrat terbentuk. Tipe penghambatan campuran merupakan kombinasi dari penghambatan kompetitif dan unkompetitif. Untuk menentukan tipe penghambatan suatu ekstrak terhadap enzim  $\alpha$ -glukosidase diperlukan uji kinetika penghambatan enzim agar diketahui secara pasti penghambatannya tergolong kompetitif, unkompetitif atau campuran (Nelson & Cox, 2004).

## 2.5 Komplikasi Diabetes Mellitus, Radikal Bebas, dan Antioksidan

Diabetes yang tidak terkontrol dengan baik dapat menimbulkan berbagai komplikasi, sebab kadar glukosa yang tinggi dapat menginduksi stres oksidatif di dalam tubuh (Node & Inoue, 2009). Stres oksidatif merupakan suatu keadaan saat jumlah radikal bebas lebih banyak bila dibandingkan dengan antioksidan (Halliwell, 2006). Stres oksidatif yang terjadi disebabkan oleh beberapa faktor,

antara lain autooksidasi glukosa, aktivasi jalur poliol dan glikasi non-enzimatik pada protein. Faktor yang paling dominan sebagai penyebab terjadinya stres oksidatif adalah autooksidasi glukosa (Zatalia & Sanusi, 2013). Proses autooksidasi glukosa akan menghasilkan senyawa oksigen reaktif, seperti radikal superoksida ( $O_2^-$ ), radikal hidroksil ( $\cdot OH$ ), dan hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ). Senyawa-senyawa yang radikal tersebut dapat merusak jaringan di mata, ginjal, pembuluh darah dan juga saraf. Kerusakan jaringan yang terjadi merupakan wujud dari komplikasi DM (Setiawan & Suhartono, 2005).

Komplikasi pada DM dapat berupa komplikasi mikrovaskular dan makrovaskular. Manifestasi dari komplikasi mikrovaskular adalah retinopati diabetik yang dapat menyebabkan kebutaan dan nefropati diabetik yang menyebabkan gagal ginjal. Komplikasi makrovaskular dapat bermanifestasi di pembuluh darah dan menyebabkan beberapa penyakit, seperti penyakit jantung koroner dan stroke (Dirjen Binfar Depkes RI, 2005).

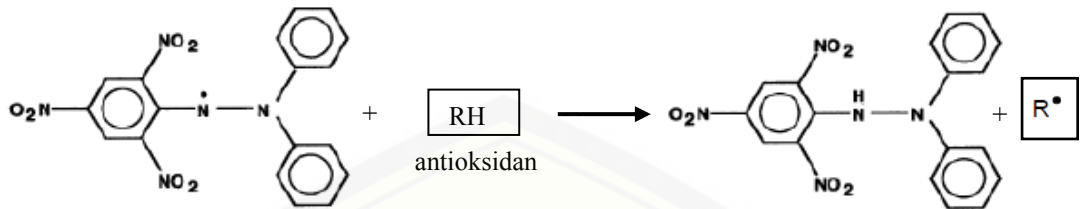
Kerusakan berbagai jaringan yang diakibatkan oleh stres oksidatif dapat diredam oleh antioksidan (Setiawan & Suhartono, 2005). Antioksidan adalah senyawa yang dapat memberikan elektron pada senyawa radikal untuk menetralkannya. Beberapa antioksidan seperti glutathion, asam urat, dan katalase diproduksi secara normal didalam tubuh. Antioksidan lain diperoleh dari makanan, seperti vitamin C, vitamin E, dan beta-karoten (Lobo et al., 2010).

Tumbuhan juga dapat menghasilkan metabolit sekunder yang berpotensi sebagai antioksidan. Metabolit sekunder yang bersifat antioksidatif di antaranya adalah alkaloid, flavonoid, senyawa fenol, steroid, dan terpenoid (Marliana, 2007).

Pengujian antioksidan yang terkandung dalam tumbuhan dapat dilakukan menggunakan metode peredaman radikal DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil). Metode tersebut didasarkan pada kemampuan senyawa antioksidan untuk mereduksi radikal DPPH yang berwarna ungu menjadi DPPH-H (1,1-difenil-2-pikrilhidrazin) yang berwarna kuning (Molineux, 2004). Intensitas warna kuning yang terbentuk ditentukan absorbansinya dengan menggunakan *microplate reader*



pada panjang gelombang 517 nm. Reaksi antara radikal DPPH dengan antioksidan dapat dilihat pada Gambar 2.7.



1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (ungu)

1,1-difenil-2-pikrilhidrazin (kuning)

Gambar 2.7 Reaksi antara radikal DPPH dengan antioksidan (Sumber: Molineux, 2004)

Proses degradasi warna DPPH dari ungu menjadi kuning menyebabkan penurunan nilai absorbansi. Fenomena ini dimanfaatkan untuk menentukan persen perdaman radikal DPPH pada berbagai konsentrasi sehingga dapat ditentukan nilai  $IC_{50}$ . Nilai  $IC_{50}$  adalah konsentrasi yang dibutuhkan oleh suatu senyawa antioksidan untuk menurunkan 50% aktivitas radikal DPPH (Molineux, 2004). Menurut Blois (2003), tingkat kekuatan antioksidan berdasarkan nilai  $IC_{50}$  adalah sangat kuat sangat kuat ( $IC_{50} < 50 \mu\text{g/ml}$ ), kuat ( $IC_{50} 50-100 \mu\text{g/ml}$ ), sedang ( $IC_{50} 101-150 \mu\text{g/ml}$ ), dan lemah ( $IC_{50} > 150 \mu\text{g/ml}$ ).

## BAB III. METODOLOGI PENELITIAN

### 3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan adalah true experiments laboratories. Pada penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan fenolik, flavonoid, aktivitas penghambatan enzim  $\alpha$ -glukosidase, dan antioksidan dari ekstrak daun kemuning.

### 3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di CDAST (Center for Development of Advanced Sciences and Technology) Universitas Jember dan dimulai pada bulan Desember 2015.

### 3.3 Variabel Penelitian

#### 1. Variabel bebas

Variabel bebas yang digunakan dalam penelitian ini adalah jenis ekstrak dan konsentrasi ekstrak daun kemuning yang diperoleh dari Taman Nasional Meru Betiri.

#### 2. Variabel terikat

Variabel terikat yang digunakan dalam penelitian ini adalah total fenolik, total flavonoid, aktivitas penghambatan enzim  $\alpha$ -glukosidase, dan aktivitas antioksidan daun kemuning.

#### 3. Variabel terkontrol

Variabel terkontrol yang digunakan dalam penelitian ini adalah cara ekstraksi, waktu ekstraksi, pelarut untuk ekstraksi, cara penentuan total fenolik, cara penentuan total flavonoid, cara uji aktivitas penghambatan enzim  $\alpha$ -glukosidase, dan cara pengujian aktivitas antioksidan.

### 3.4 Rancangan Penelitian

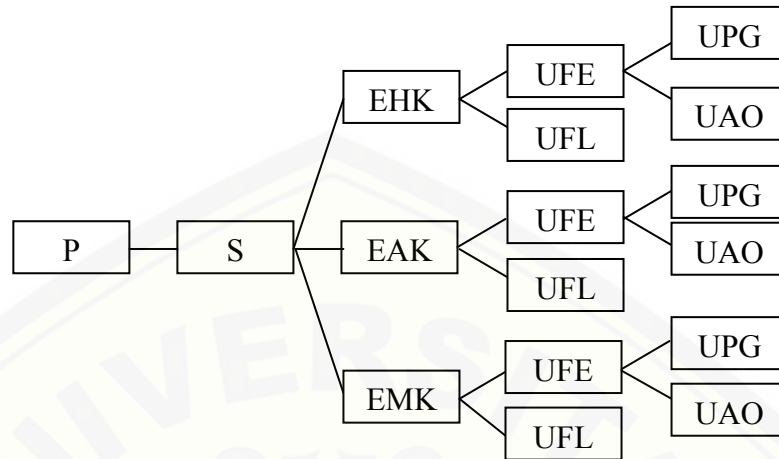
#### 3.4.1 Definisi Operasional

Definisi operasional dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Daun kemuning yang digunakan berasal dari Taman Nasional Meru Betiri dan dipanen pada bulan Oktober 2014.
2. Daun kemuning yang digunakan berasal dari tumbuhan kemuning yang sudah besar dan berbunga. Pengambilan daun dilakukan secara acak.
3. Analisis kandungan total fenolik menggunakan *Folin-Ciocalteu* 50% dan  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  dengan standar asam galat. Kandungan total fenolik yang diukur setara dengan asam galat atau mg *gallic acid equivalent* (GAE) per gram ekstrak.
4. Analisis kandungan total flavonoid menggunakan  $\text{NaNO}_2$  dan  $\text{NaOH}$  dengan standar kuersetin. Kandungan total flavonoid yang diukur setara dengan kuersetin atau mg *quersetin equivalent* (QE) per gram ekstrak.
5. Konsentrasi uji untuk uji penghambatan enzim  $\alpha$ -glukosidase dan antioksidan berdasarkan kandungan total fenolik.
6. Uji penghambatan enzim  $\alpha$ -glukosidase menggunakan substrat maltosa dengan kontrol positif akardose.
7. Uji aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH dengan pembanding Vitamin C.

#### 3.4.2 Rancangan Percobaan

Tahap awal penelitian dilakukan ekstraksi menggunakan tiga pelarut yang berbeda kepolarannya, yaitu n-heksana, etil asetat, dan metanol. Selanjutnya dilakukan penentuan kandungan total fenolik dan flavonoid. Lalu dilakukan uji aktivitas antidiabetes dengan mekanisme penghambatan enzim  $\alpha$ -glukosidase dan antioksidan dengan metode peredaman radikal DPPH. Diagram rancangan percobaan dapat dilihat pada Gambar 3.1



Gambar 3.1 Diagram rancangan percobaan

Keterangan:

P : Populasi tumbuhan kemuning

S : Sampel daun kemuning

EHK : Ekstrak n-heksana daun kemuning

EAK : Ekstrak etil asetat daun kemuning

EMK : Ekstrak metanol daun kemuning

UFE : Uji kandungan total fenolik

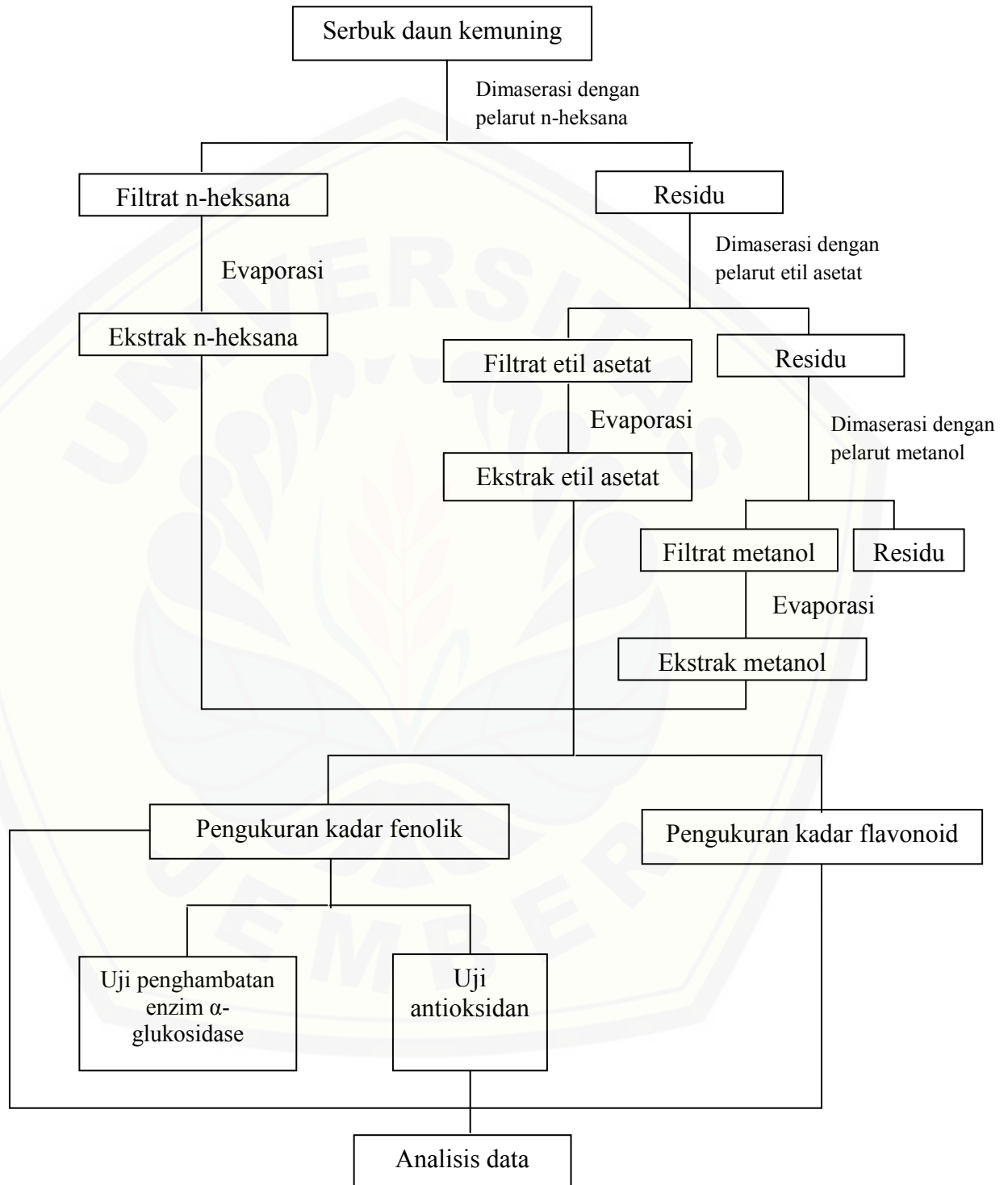
UFL : Uji kandungan total flavonoid

UPG : Uji aktivitas penghambatan enzim  $\alpha$ -glukosidase

UAO : Uji aktivitas antioksidan

## 3.4.3 Alur penelitian

Alur penelitian yang dilakukan dapat dilihat pada Gambar 3.2



Gambar 3.2 Alur penelitian

### 3.5 Alat dan Bahan

#### 3.5.1 Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain: blender, shaker (Stuart Orbital Shaker SSL 1), *rotary evaporator* (Strike 300), spektrofotometri (Hitachi U-2900 *double beam*), corong buchner, timbangan analitik digital, kuvet, micropipet, *microplate reader*, inkubator (Hitachi CF15RX 11), *waterbath*, dan alat-alat gelas.

#### 3.5.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain: daun kemuning (*Murraya paniculata*); heksana (Merck); etil asetat (Merck); metanol (Merck); akuades; reagen *Folin-Ciocalteu* (Merck); natrium karbonat (Merck); asam galat (Sigma-Aldrich); natrium nitrit (Merck); alumunium(III) klorida (Merck); natrium hidroksida (Merck); kuersetin (nacalai tasque); 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) (nacalai tasque); etanol (Merck); vitamin C (nacalai tasque); buffer fosfat (Merck); maltosa (Merck); dimetilsulfoksida (DMSO) (Merck); *horseradish peroxidase* (Sigma-Aldrich); enzim  $\alpha$ -glukosidase dari *Saccharomyces cerevisiae* (Sigma-Aldrich); glukosa oksidase (Sigma-Aldrich); 4-aminoantipirin (Sigma-Aldrich); buffer fenol (Sigma-Aldrich), dan akarbose (Glucobay).

### 3.6 Prosedur Penelitian

#### 3.6.1 Pembuatan Simplisia

Sampel daun kemuning yang diambil dari Taman Nasional Meru Betiri disortasi basah dan dibersihkan dari kotoran-kotoran. Daun yang diperoleh kemudian dikeringkan dengan cara diangin-anginkan tanpa terkena sinar matahari langsung. Dari tahap ini didapatkan simplisia kering yang kemudian diserbuk dan diayak. Serbuk simplisia yang diperoleh kemudian diekstraksi dengan metode maserasi bertingkat.

### 3.6.2 Pembuatan Ekstrak

Serbuk simplisia daun kemuning diekstraksi menggunakan 3 pelarut yang berbeda tingkat kepolarannya yaitu n-heksana, etil asetat, dan metanol. Pertama ditimbang sebanyak 50 gram serbuk simplisia daun kemuning, kemudian dimasukkan ke dalam erlenmayer dan ditambahkan pelarut n-heksana sebanyak 250 ml. Setelah itu dilakukan penggojogan selama 3 hari menggunakan *shaker* pada suhu ruang. Setelah 3 hari diperoleh ekstrak cair yang kemudian disaring menggunakan corong *buchner*. Pada proses penyaringan didapatkan filtrat dan residu. Filtrat yang diperoleh (ekstrak cair n-heksana) dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40°C sehingga diperoleh ekstrak kental n-heksana. Residu yang diperoleh diekstraksi kembali menggunakan pelarut etil asetat. Selanjutnya dilakukan penggojogan selama 3 hari pada suhu ruang. Setelah 3 hari diperoleh ekstrak cair yang kemudian disaring menggunakan corong *buchner*. Filtrat yang diperoleh (ekstrak cair etil asetat) dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40°C sehingga diperoleh ekstrak kental etil asetat. Residu pada tahap ini kemudian diekstraksi kembali menggunakan pelarut metanol. Lalu dilakukan penggojogan selama 3 hari pada suhu ruang. Setelah 3 hari diperoleh ekstrak cair yang kemudian disaring menggunakan corong *buchner*. Filtrat yang diperoleh (ekstrak cair metanol) dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40°C sehingga diperoleh ekstrak kental metanol. Ekstrak yang diperoleh dari masing-masing tahapan maserasi kemudian dihitung persen rendemennya menggunakan Persamaan 3.1.

$$\text{Rendemen ekstrak (\%)} = \frac{\text{berat ekstrak}}{\text{berat simplisia}} \times 100\% \quad (\text{Persamaan 3.1})$$

### 3.6.3 Analisis Kandungan Total Fenolik

#### a. Penyiapan larutan sampel

Ekstrak ditimbang sebanyak 50 mg dan dilarutkan dalam metanol hingga volume 10 ml dalam labu ukur sehingga diperoleh konsentrasi ekstrak 5 mg/ml.

b. Penentuan Kandungan Total Fenolik

Penentuan kandungan total fenolik ekstrak daun kemuning dilakukan berdasarkan metode Taga *et al.* (1984) dan dihitung menggunakan persamaan dari kurva standar asam galat. Metode yang digunakan dalam penelitian ini telah dioptimasi pada penelitian sebelumnya oleh Wahyudi (2015). Sampel ekstrak sebanyak 50 µl diambil dan dimasukkan dalam tabung reaksi. Kemudian ditambahkan 1 ml Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 2% (b/v) ke dalamnya dan didiamkan selama 2 menit. Setelah 2 menit, 50 µl reagen Folin-Ciocalteu 50% (v/v) ditambahkan ke dalam campuran dan diinkubasi pada suhu ruang selama 30 menit. Absorbansi larutan diukur pada panjang gelombang 750 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Total fenolik masing-masing ekstrak ditentukan dalam mg *gallic acid equivalent* (GAE) per gram ekstrak.

3.6.4 Analisis Kandungan Total Flavonoid

a. Penyiapan larutan sampel

Ekstrak ditimbang sebanyak 50 mg dan dilarutkan dalam metanol hingga volume 10 ml dalam labu ukur sehingga diperoleh konsentrasi ekstrak 5 mg/ml.

b. Penentuan Kandungan Total Flavonoid

Penentuan kandungan total flavonoid ekstrak daun kemuning dilakukan berdasarkan metode kolorimetri Chang *et al.* (2002) dan dihitung menggunakan persamaan dari kurva standar kuersetin. Metode yang digunakan dalam penelitian ini telah dioptimasi pada penelitian sebelumnya oleh Wahyudi (2015). Sampel ekstrak sebanyak 150 µl diambil dan dimasukkan tabung reaksi. Kemudian ditambahkan sebanyak 400 µl akuades ke dalamnya. Selanjutnya ditambahkan dengan 30 µl NaNO<sub>2</sub> 5% (b/v) dan diinkubasi selama 5 menit. Lalu ditambahkan lagi 30 µl AlCl<sub>3</sub> dan diinkubasi selama 5 menit. Setelah 5 menit, 200 µl NaOH 1 M dan 240 µl akuades ditambahkan ke dalam campuran. Absorbansi larutan diukur pada panjang gelombang 415 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Total flavonoid masing-masing ekstrak ditentukan dalam mg *quersetin equivalent* (QE) per gram ekstrak.



### 3.6.5 Analisis Penghambatan Enzim $\alpha$ -glukosidase

#### a. Pembuatan Kontrol Positif Akarbose

Larutan akarbose 100  $\mu\text{g/ml}$  dibuat dengan menimbang akarbose sebanyak 3 mg lalu dilarutkan dalam 1 ml DMSO sehingga diperoleh konsentrasi akarbose sebesar 1,16 mg/ml. Kemudian dipipet sebanyak 86,2  $\mu\text{l}$  dan dilarutkan dalam 1 ml DMSO sehingga diperoleh konsentrasi akarbose 100  $\mu\text{g/ml}$ . Selanjutnya dilakukan pengenceran dengan mengambil volume sebesar 2,4; 4,8; 7,2; 9,6; dan 12  $\mu\text{l}$  sehingga diperoleh konsentrasi uji akarbose sebesar 1; 2; 3; 4; dan 5  $\mu\text{g/ml}$ .

#### b. Penyiapan Larutan Sampel

Dibuat larutan stok ekstrak dengan konsentrasi 100  $\mu\text{g GAE/ml}$ . Lalu dilakukan pengenceran menggunakan pelarut DMSO hingga diperoleh konsentrasi uji larutan sampel 1; 5; 10; 15; dan 20  $\mu\text{g GAE/ml}$  untuk EHK, 1; 4,5; 9; 13,5; dan 18  $\mu\text{g GAE/ml}$  untuk EAK, dan 1; 3; 6; 9; dan 12  $\mu\text{g GAE/ml}$  untuk EMK.

#### c. Penentuan aktivitas penghambatan enzim

Penentuan aktivitas penghambatan enzim  $\alpha$ -glukosidase ditentukan berdasarkan metode Miyazawa *et al.* (2005) yang dimodifikasi. Metode yang digunakan dalam penelitian ini telah dioptimasi pada penelitian sebelumnya oleh Wahyudi (2015). Sebanyak 50  $\mu\text{l}$  maltosa 0,125 M dimasukkan ke dalam microtube. Kemudian ditambahkan sampel ekstrak 50  $\mu\text{l}$ , buffer fosfat pH 7 130  $\mu\text{l}$ , dan enzim  $\alpha$ -glukosidase (1 unit/ $\mu\text{l}$ ) 10  $\mu\text{l}$ . Larutan kemudian diinkubasi selama 1 jam pada suhu 37°C. Setelah inkubasi selesai, larutan dididihkan selama 3 menit untuk menghentikan reaksi. Setelah pemanasan selesai, ditambahkan 750  $\mu\text{l}$  buffer fenol pH 7, 5  $\mu\text{l}$  peroksidase (0,25 unit/ $\mu\text{l}$ ), 5  $\mu\text{l}$  aminoantipirin, dan 5  $\mu\text{l}$  glukosa oksidase (0,4 unit/ $\mu\text{l}$ ). Larutan tersebut kemudian diinkubasi selama 10 menit pada suhu 37°C. Absorbansi larutan diukur pada panjang gelombang 500 nm menggunakan *microplate reader*. Persen penghambatan masing-masing ekstrak terhadap enzim  $\alpha$ -glukosidase dihitung sesuai dengan Persamaan 3.2.

$$\text{Penghambatan enzim } \alpha\text{-glukosidase (\%)} = \left[ \frac{A1-A2}{A1} \right] \times 100\% \quad (\text{Persamaan 3.2})$$

Keterangan:

A1 = Nilai absorbansi blanko

A2 = Nilai absorbansi sampel

Nilai persentase penghambatan enzim  $\alpha$ -glukosidase yang diperoleh pada tiap sampel ekstrak digunakan untuk membuat kurva. Persentase penghambatan enzim  $\alpha$ -glukosidase sebagai sumbu y dan log konsentrasi sebagai sumbu x. Kemampuan ekstrak dalam menghambat enzim  $\alpha$ -glukosidase dinyatakan dalam  $IC_{50}$ , yaitu konsentrasi ekstrak yang dibutuhkan untuk menurunkan 50% aktivitas enzim  $\alpha$ -glukosidase. Nilai  $IC_{50}$  dihitung dengan persamaan regresi  $y = bx + a$ .

### 3.6.6 Analisis Peredaman Radikal DPPH

#### a. Pembuatan Kontrol Positif Vitamin C

Larutan Vitamin C 100  $\mu\text{g/ml}$  dibuat dengan menimbang vitamin C sebanyak 1 mg kemudian dilarutkan dalam 1 ml metanol sehingga diperoleh konsentrasi vitamin C 1 mg/ml. Kemudian dipipet 100  $\mu\text{l}$  dan ditambahkan metanol hingga 1 ml sehingga diperoleh konsentrasi vitamin C 100  $\mu\text{g/ml}$ . Selanjutnya dilakukan pengenceran dengan mengambil volume sebesar 10,3; 20,7; 31; 41,3; dan 51,7  $\mu\text{l}$  sehingga diperoleh konsentrasi uji vitamin C 1; 2; 3; 4; dan 5  $\mu\text{g/ml}$ .

#### b. Penyiapan Larutan Sampel

Dibuat larutan stok ekstrak dengan konsentrasi 100  $\mu\text{g GAE/ml}$ . Lalu dilakukan pengenceran menggunakan pelarut metanol hingga diperoleh konsentrasi uji larutan sampel 1; 5; 10; 15; dan 20  $\mu\text{g GAE/ml}$  untuk EHK, 1; 4; 8; 12; dan 16  $\mu\text{g GAE/ml}$  untuk EAK, dan 1; 3; 5; 7; dan 9  $\mu\text{g GAE/ml}$  untuk EMK.

### c. Penentuan aktivitas peredaman radikal DPPH

Penentuan aktivitas antioksidan ekstrak daun kemuning terhadap radikal 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) mengacu pada Siswoyo *et al.* (2013). Metode yang digunakan dalam penelitian ini telah dioptimasi pada penelitian sebelumnya oleh Wahyudi (2015). Larutan DPPH 500  $\mu\text{M}$  dalam etanol dibuat untuk larutan stok. Sebanyak 300  $\mu\text{l}$  larutan DPPH dan 483  $\mu\text{l}$  etanol dimasukkan ke dalam test tube, kemudian ditambahkan sampel ekstrak sebanyak 250  $\mu\text{l}$ . Setelah 30 menit, absorbansi larutan diukur pada panjang gelombang 517 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Persentase peredaman radikal DPPH dihitung sesuai Persamaan 3.3.

$$\text{Peredaman radikal DPPH (\%)} = \frac{(A_c - A_s)}{A_c} \times 100\% \quad (\text{Persamaan 3.3})$$

Keterangan:

$A_c$  = Nilai absorbansi kontrol

$A_s$  = Nilai absorbansi sampel

Nilai persentase peredaman radikal DPPH yang diperoleh pada tiap sampel ekstrak digunakan untuk membuat kurva. Persentase peredaman radikal DPPH sebagai sumbu y dan log konsentrasi sebagai sumbu x. Kemampuan ekstrak dalam meredam radikal DPPH dinyatakan dalam  $IC_{50}$ , yaitu konsentrasi ekstrak yang dibutuhkan untuk menurunkan 50% aktivitas radikal DPPH. Nilai  $IC_{50}$  dihitung dengan persamaan regresi  $y = bx + a$ .

#### 3.6.7 Analisis Data

Data yang diperoleh dari penelitian berupa total fenolik, total flavonoid, aktivitas penghambatan enzim  $\alpha$ -glukosidase, dan aktivitas antioksidan. Data-data ini kemudian diuji dengan uji Shapiro-Wilk untuk mengetahui apakah data tersebut terdistribusi normal atau tidak, serta diuji homogenitas variannya. Apabila data terdistribusi normal dan varian homogen maka dilanjutkan dengan uji parametrik *ANOVA*. Jika pada uji *ANOVA* menghasilkan nilai  $p < 0,05$ , maka

dilanjutkan dengan analisis *Post-Hoc* yaitu *LSD* untuk mengetahui variabel mana yang memiliki perbedaan (Besral, 2010).



## BAB IV. PENUTUP

### 5.1 Kesimpulan

Kesimpulan dari penelitian ini adalah:

1. Kandungan total fenolik sampel ekstrak daun kemuning dari yang tertinggi sampai terendah yaitu ekstrak metanol ( $49,66 \pm 0,16$  mg GAE/g ekstrak), ekstrak etil asetat ( $34,09 \pm 0,53$  mg GAE/g ekstrak), dan ekstrak n-heksana ( $27,41 \pm 0,20$  mg GAE/g ekstrak).
2. Kandungan total flavonoid sampel ekstrak daun kemuning dari yang tertinggi sampai terendah yaitu ekstrak metanol ( $157,53 \pm 0,42$  mg GAE/g ekstrak), ekstrak etil asetat ( $116,00 \pm 0,20$  mg GAE/g ekstrak), dan ekstrak n-heksana ( $99,53 \pm 1,10$  mg GAE/g ekstrak).
3. Ekstrak daun kemuning yang mempunyai aktivitas paling tinggi sebagai penghambat enzim  $\alpha$ -glukosidase dan antioksidan adalah ekstrak metanol, kemudian diikuti oleh ekstrak etil asetat dan selanjutnya adalah ekstrak n-heksana.

### 5.2 Saran

Berdasarkan penelitian ini, ekstrak yang memiliki aktivitas tertinggi sebagai penghambat enzim  $\alpha$ -glukosidase dan antioksidan adalah EMK sehingga perlu dilakukan pengujian lebih lanjut untuk mengetahui senyawa aktif yang berperan dalam ekstrak tersebut. Selain itu, perlu dilakukan penentuan kinetika enzim agar diketahui jenis hambatan ekstrak terhadap enzim  $\alpha$ -glukosidase.

## DAFTAR PUSTAKA

- Ali, M. Y., Jannat, S., Jung, H. A., Jeong, H. O., Chung, H. Y., & Choi, J. S. 2016. Coumarins from *Angelica decursiva* inhibit  $\alpha$ -Glucosidase Activity and Protein Tyrosine Phosphatase 1B. *Journal of Molecular, Cellular and Biochemical Toxicology*, 252: 93-101.
- American Diabetes Association. 2014. Position Statement: Standards of Medical Care in Diabetes 2014. *Diabetes Care*, 38: 1-93
- Andersen, O. M. & Kenneth, R. M. 2006. *Flavonoid Chemistry*. New York: CRC Press
- Besral. 2010. *Pengolahan dan Analisa Data-1 Menggunakan SPSS*. Depok: Departemen Biostatistika Fakultas Kesehatan Masyarakat UI.
- Bischoff, H. 1994. Pharmacology of Alpha-glucosidase Inhibition. *European Journal of Clinical Investigation*, 24(3): 3-10.
- Blois, MS. 1958. Antioxidant Determination by The Use of A Stable Free Radical. *Nature*, 181: 1199-1200.
- BPOM RI. 2009. Diabetes Melitus. *Informasi Produk Terapeutik*, 19 (1): 1-12.
- Chang, C. W., Kim, S. C., Hwang, S. S., Choi, B. K., Ahn, H. J., Lee, M. Y., Park, S. H., & Kim, S. K. Antioxidant Activity and Free Radical Scavenging Capacity Between Korean Medicinal Plants and Flavonoids by Assay-guided Comparison. *Plant Science*, 163: 1161-1168.
- Depkes RI. 1977. *Materia Medika Indonesia Jilid 1*. Jakarta: Direktorat Pengawasan Obat dan Makanan.
- Depkes RI. 2012. Penyakit Tidak Menular. *Buletin Jendela Data dan Informasi Kesehatan*, 2 (2): 1-40.
- Dipiro, J. T. 2009. *Pharmacotherapy Handbook 7th edition*. New York: Mc Graw Hill
- Dirjen Bina Gizi & KIA. 2011. *Kemuning HAN*. <http://www.gizikia.depkes.go.id/terbitan/kemuning-han/>. [diakses tanggal 15 januari 2016].
- Dirjen Bina Farmasi Komunitas & Klinik. 2005. *Pharmaceutical Care untuk Penyakit Diabetes Mellitus*. Jakarta: Dirjen Binfar, Depkes RI.

- Dou, F., Miamiao, X., Junxiang, W., Tian, X., Hong, L., & Wen, A. 2013.  $\alpha$ -Glucosidase and  $\alpha$ -Amylase Inhibitory Activities of Saponin from Traditional Chinese Medicines in the Treatment of Diabetes Mellitus. *Pharmarize*, 68:
- Fengel, D & Wegener, G. 1995. *Kimia Ultrastruktur Reaksi-reaksi*. Yogyakarta: UGM Press.
- Gautam, M. K., Gupta, A., Rao, C. V., & Goel, R. K. 2012. Antihyperglycemic and Antioxidant Potential of *Murraya paniculata* Linn. Leaves: A Preclinical Study. *Journal of Pharmacy Research*, 5 (3): 1334-1337.
- Gill, N. S., Kaur, N., & Arora, R. 2014. An Overview on: *Murraya paniculata* Linn. *International Journal of Institutional Pharmacy And Life Sciences*, 4 (4): 1-11.
- Grassman, J. 2005. Terpenoid as Plant Antioxidant. *Vitamin and Hormones*, 72: 505-535.
- Gul, M. Z., Attuluri, V., Qureshi, I. A., & Ghazi, I. A. 2012. Antioxidant and  $\alpha$ -Glucosidase Inhibitory Activities of *Murraya Koenigii* Leaf Extracts. *Pharmacognosy Journal*, 4 (32): 65-72.
- Halliwell, B. 2006. Reactive Species and Antioxidants: Redox Biology is a Fundamental Theme of Aerobic Life. *Plant Physiology*, 141: 312-322.
- Hanhineva, K., Ritta, T., Isabel, B., Jenna, P., Marjukka, K., Hannu, M., & Kaisa, P. 2010. Impact of Dietary Polyphenol on Carbohydrate Metabolism. *International Journal of Molecular Sciences*, 11: 1365-1402.
- Harborne, J. B. & Turner, B. L. 1984. *Plant Chemosystematics*. Academic Press: London.
- Harborne, J. B. *Metode Fitokimia*. Alih bahasa oleh Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro. 1987. Bandung: Penerbit ITB.
- Hatano, T., Edamatsu, R., Mori, A., Fujita, Y., Yasukara, T., & Yoshida, T. 1989. Effect of Tannins and Related Polyphenols on Superoxide Anion Radical and on 2,2-diphenylpicrylhydrazil. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 37: 2016-2021.
- International Diabetes Federation. 2013. *Diabetes Atlas*. Sixth Edition. Belgium: Imprimerie L Vanmelle SA, Gent/Mariakerke.

- Jude, C., Rengasmy, K. R. R., Smith, P., & Staden, J. 2015. Alpha-glucosidase Inhibitory and antiplasmodial of terpenoids from The Leaves of *Buddleja saligna* Wild.
- Kosai, P. & Jiraungkoorskul, W. 2015. Review of Hypoglycemic Activity of *Murraya paniculata* Linn. *Advance in Environmental Biology*, 9 (3): 466-472.
- Kostova, I. Bhatia, S., Grigorov, P., Balkansky, S., Parmar, V. S., Prasad, A. K., & Saso, L. 2011. Coumarin as Antioxidant. *Current Medicinal Chemistry*, 18: 3929-3951.
- Li, Y. Q., Zhou, F. C., Gao, F., Bian, J. S., & Fang, S. Comparative Evaluation of Quercetin, Isoquercetin, and Rutin as Inhibitors of  $\alpha$ -Glucosidase. 2009. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 57: 11463-11468.
- Lobo, V., Patil, A., Phatak, N., & Chandra, N. 2010. Free Radicals, Antioxidants and Functional Foods: Impact on Human Health. *Pharmacognocny Reviews*, 4 (8): 118-126.
- Loranza, B. 2012. Uji Penghambatan Aktivitas Enzim Alfa-glukosidase dan Identifikasi Golongan Senyawa Kimia dari Fraksi Teraktif Daun Buni (*Antidesma bunius* L.). *Fakultas MIPA, PS. Farmasi UI*.
- Markham, K. R. 1988. *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*. Bandung: ITB
- Marliana, E. 2007. Analisis Senyawa Metabolit Sekunder dari Batang *Spatholobus ferrugineus* (Zoll & Moritzi) Benth yang Berfungsi sebagai Antioksidan. *Jurnal Penelitian Mipa*, 1 (1): 23-29.
- Menezes, I. R. A., Santana, T. I., Varela, V. J., Saraiva, R. A., Matias, E. F. F., Boligon, A. A., Athayde, M. L., Coutinho, H. D. M., Costa, J. Chemical Compound and Evaluation of Acute Toxicological, Antimicrobial and Modulatory Resistance of The Extract of *Murraya paniculata*. *Pharmaceutical Biology*, 14: 1-7.
- Miyazawa, M., Yagi, N., & Taguchi, K. 2005. Inhibitory Compounds of  $\alpha$ -Glucosidase Activity from *Arcticum lappa* L. *Journal of Oleo Science*, 54 (11): 589-594.
- Molyneux, P. 2004. Use of DPPH to Estimate Antioxidant Activity. *Songklanakarinn Journal of Science and Tecnology*, 26 (2): 211-219.
- Nelson, D. L & Cox, M. M. 2004. *Principles of Biochemistry*. Forth Edition. New York: W.H. Publisher.



- Ngwe, H., Kyin, S., & Nyo, H., H. 2011. Chemical Analysis and  $\alpha$ -Glucosidase Inhibitory Effect of Bizat Leaves (*Eupatorium odoratum* Linn.). *Universities Research Journal*, 4 (3): 1-12
- Node, K. & Inoue, T. 2009. Post Prandial Hyperglycemia as an Etiological Factor in Vascular Failure. *Cardiovascular Diabetology*, 8 (23): 1-10.
- Oboh, G., Agunloye, O. M., Adefegha, S. A., Akinyemi, A. J., & Ademiluyi, A. O. 2015. Caffeic and Chlorogenic Acids Inhibit Key Enzymes Linked to Type 2 Diabetes (in vitro): A Comparative Study. *Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology*, 26 (2): 165-170.
- Patel, M. B. & Mishra, S. M. 2012. Magnoflorine from *Tinospora codifolia* Stem Inhibits  $\alpha$ -Glucosidase and is Antihyperglycemic in Rats. *Journal of Functional Foods*, 4: 79-86.
- Pande, P. S., Mane, V. D., & Mishra, M. N. 2014. Evaluation of Antioxidant Activity of Saponin and Tannin Fractions Isolated from The Leaves of *Tridax procumbens*. *International Journal of Pharmacy and Biology Sciences*, 5 (1): 396-400.
- Prakash, A. 2001. Antioxidant Activity. *Medallion Laboratories Analytical Progress*, 1-4.
- Pekal, A. & Krystyna, P. 2014. Evaluation of Aluminium Complexation Reaction for Flavonoid Content Assay. *Food Analysis Methods*, 7: 1776-1782.
- Robinson, T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Bandung: ITB.
- Rohman, A. & Riyanto, S. 2005. Daya Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Kemuning (*Murraya paniculata* (L) Jack) secara *In Vitro*. *Majalah Farmasi Indonesia*, 16 (3): 136-140.
- 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.
- Sato, Y., Itakagi, S., Kurokawa, T., Ogura, J., Kobayashi, M., Hirano, T., Sugawara, M., & Iseki, K. 2011. *In Vitro* and *In Vivo* Antioxidant Properties of Chlorogenic Acid and Caffeic Acid. *International Journal of Pharmaceutics*, 403: 136-138.
- Sayar, K., Paydar, M., & Murphy, B. P. 2014. Pharmacological Properties and Chemical Constituents of *Murraya paniculata* (L.) Jack. *Medical & Aromatic Plants*, 3 (4): 1-6.

- Scheepers, A., Joost, H-G., Schurman, A. 2004. The Glucose Transporter Families SGLT and GLUT: Molecular Basis of Normal and Abberant Function. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition*, 28 (5): 364-371.
- Seidel, V. 2008. Initial and Bulk Extraction. *Natural Products Isolation*. Second edition. New Jersey: Humana Press
- Seidemann, J. 2005. *World Spice Plants: Economic Usage, Botany, Taxonomy*. Berlin: Springer
- Setiawan, B. & Suhartono, E. 2005. Stres Oksidatif dan Peran Antioksidan pada Diabetes Melitus. *Majalah Kedokteran Indonesia*, 55 (2): 86-91.
- Sim, L., Willemsma, C., Mohan, S., Naim, H. Y., Pinto, 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.
- Simsek, M., Quezada-calvillo, R., Ferruzi, M. G., Nichols, B., & Hamker, B. 2015. Dietary Phenolic Compounds Selectively Inhibit Activities of Individual Subunits of Maltase-Glucoamylase and Sucrase-Isomaltase for Modulating Glucose Release. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 63 (15): 3873-3879.
- Singleton, V. L. & Rossi, J. A. 1965. Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagent. *American Journal of Etnology and Viticulture*, 16: 144-158.
- Siswoyo, T. A., Aldino, M., & Hoshokawa, K. 2013. Free Radical Scavenging Activity and DNA Damage Protective Effect of Melinjo (*Gnetum gnemon* L.). *Journal of Medicinal Plant Research*, 7 (32): 2399-2406.
- Taga, M. S., Miller, E. E., & Pratt, D. E. 1984. Chia Seeds as a Source of Nature Lipid Antioxidants. *Journal of The American Oil Chemists' Society*, 61 (5): 928-931.
- Tiong, S. H., Looi, C. Y., Hazni, H., Arya, A., Paydar, M., Wong, W. F., Mustafa, M. R., & Awang, K. 2013. Andiabetic and Antioxidant Properties of Alkaloids from *Catharanthus roseus* (L.) G. Don. *Journal of Molecules*, 18: 9770-9784.
- Vermerish, W & Nicholson, R. 2006. *Phenolic Compound Biochemistry*. Netherlands: Springer.
- Wahyudi, L. D. 2015. Potensi Ekstrak Fenolik Tanaman Obat Taman Nasional Meru Betiri: Bidara Upas (*Merreimia mammosa*) dan Kayu Kuning

(*Arcangelisia flava*) sebagai Antidiabetik dan Antioksidan. *Skripsi*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

Whitcomb, D. C. & Lowe, M., E. 2007. Human Pancreatic Digestive Enzymes. *Digestive Disease and Science*, 52: 1-7.

WHO. 1999. Part 1: Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Definition Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus and Its Complications*, 1: 1-59

Williamson, G. 2013. Possible Effect of Dietary Polyphenols on Sugar Absorption and Digestion. *Molecular Nutrition & Food Research Journal*, 57: 48-57.

Zatalia, S. R. & Sanusi, H. 2013. The Role of Antioxidants in The Pathophysiology, Complications, and Management of Diabetes Mellitus. *The Indonesia Journal of Internal Medicine*, 45 (2): 141-147.

Zeilinska, D., Szawara-nowak, D., & Zeilinski, H. 2010. Determination of The Antioxidant Activity of Rutin and Its Contribution to The Antioxidant Capacity of Diversified Buckwheat Origin Material by Updated Analytical Strategies. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 60 (4): 315-321.

Zhang, M., Swarts, S. G., Liu, C., Lurong, Z., & Yang, S. Antioxidant Properties of Quercetin. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 701: 283-289.

Zhu, H., Wang, Y. Z., Liu, Y. X., & Xia, Y. L. 2009. Analysis of flavonoids in *Portulaca oleracea* L. by UV-Vis spectrophotometry with comparative study on different extraction technologies. *Food Analytical Methods*, 3: 2.

## DAFTAR LAMPIRAN

## Lampiran A. Validasi Tumbuhan Kemuning



**KEMENTERIAN KEHUTANAN**  
**DIREKTORAT JENDERAL PERLINDUNGAN HUTAN DAN KONSERVASI ALAM**  
**BALAI TAMAN NASIONAL MERU BETIRI**  
 Jl. Sriwijaya 53 Kotak Pos 269 Jember 68101 Telp/Fax. +62331335535  
 email : admin@merubetiri.com Website :www.merubetiri.com

**BERITA ACARA PEMERIKSAAN PENGAMBILAN SAMPEL TUMBUHAN**

Nomor : BA. 1271 /BTNMB-1/2015

-----Pada hari ini Rabu, tanggal Dua Puluh bulan Mei tahun Dua ribu Lima Belas, berdasarkan SIMAKSI Nomor : SI.2513/BTNMB-1/2014 tanggal 8 Oktober 2014 dan Surat Ketua Tim Peneliti Center for Development of Advanced Sciences and Technology (CDAST) Universitas Jember Nomor : 093/UN25/TU/CDAST/2015 tanggal 6 Mei 2015 yang bertanda tangan di bawah ini -----

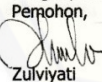
1. N a m a /NIP : Nur Rohmah Syarif S.Si. MP. / 197209051999032001-----  
 Pangkat / Gol. : Penata Tk I / (III/d)-----  
 Jabatan : PEH Muda-----
2. N a m a /NIP : Iva Tri Lindsari / 198310222002122002-----  
 Pangkat / Gol. : Pengatur Tk. I / (II/d)-----  
 Jabatan : PEH Pelaksana Lanjutan-----

Dengan ini telah melakukan pemeriksaan sampel tumbuhan untuk keperluan penelitian oleh Tim Peneliti CDAST-UNEJ (Dosen dan Mahasiswa) Universitas Jember, dengan hasil pemeriksaan sebagai berikut :



No.	Nama / Jenis	Jumlah (sampel)	Keterangan
1.	Sampel Tumbuhan Kayu Kuning ( <i>Arcangelisia flava</i> )	1 kg	-
2.	Sampel Tumbuhan Bidara Upas ( <i>Merremia mammosa</i> )	1 kg	-
3.	Sampel Tumbuhan Wuni ( <i>Antidesma bunius</i> )	1 kg	-
4.	Sampel Tumbuhan Garu ( <i>Antidesma montanum</i> )	1 kg	-
5.	Sampel Tumbuhan Maitan ( <i>Lunasia amara Blanco</i> )	1 kg	-
6.	Sampel Tumbuhan Ketangi ( <i>Lagerstromea speciosa</i> )	1 kg	-
7.	Sampel Tumbuhan Sintok ( <i>Cinnamomum sintoc</i> )	1 kg	-
8.	Sampel Tumbuhan Girang ( <i>Leea indica</i> )	1 kg	-
9.	Sampel Tumbuhan Kragean ( <i>Leea rubra</i> )	1 kg	-
10.	Sampel Tumbuhan Kemuning ( <i>Murraya paniculata</i> )	1 kg	-
11.	Sampel Tumbuhan Timo ( <i>Kleinhovia haspita</i> )	1 kg	-
12.	Sampel Tumbuhan Jati Belanda ( <i>Guazuma tomentosa</i> )	1 kg	-
13.	Sampel Tumbuhan Kepuh ( <i>Sterculia foetida</i> )	1 kg	-
14.	Sampel Tumbuhan Bayur ( <i>Pterospermum javanicum</i> )	1 kg	-
	Jumlah	14 kg	

Sampel tumbuhan tersebut benar-benar telah diperiksa dan diangkut ke kampus Universitas Jember untuk kepentingan penelitian di Kampus Universitas Jember. -----

Jember, 20 Mei 2015  
 Yang diperiksa,  
 Perponon,


  
 Sulviyati

Jember, 20 Mei 2015  
 Yang memeriksa,

1. Nur Rohmah Syarif S.Si MP  
 NIP. 197209051999032001 (  )  
 2. Iva Tri Lindsari  
 NIP. 198310222002122002 (  )



Mengetahui,  
 a.n. Kepala Balai TN. Meru Betiri  
 Kepala Sub Bagian Tata Usaha

  
 Sulistrianto S.Si M.Si  
 NIP. 196805101995031002

**Lampiran B. Perhitungan Rendemen Maserasi**

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{\text{berat ekstrak}}{\text{berat simplisia}} \times 100\%$$

Ekstrak	Berat ekstrak (g)	Berat simplisia (g)	Rendemen (%)
EHK	1,29	50	2,58
EAK	2,04	48,17	4,23
EMK	4,52	47,83	9,45

Contoh perhitungan:

$$\begin{aligned} \text{Rendemen EHK (\%)} &= \frac{1,29 \text{ g}}{50 \text{ g}} \times 100\% \\ &= 2,58 \% \end{aligned}$$

**Lampiran C. Uji Total Fenolik****1. Perhitungan Larutan Standar Asam Galat**

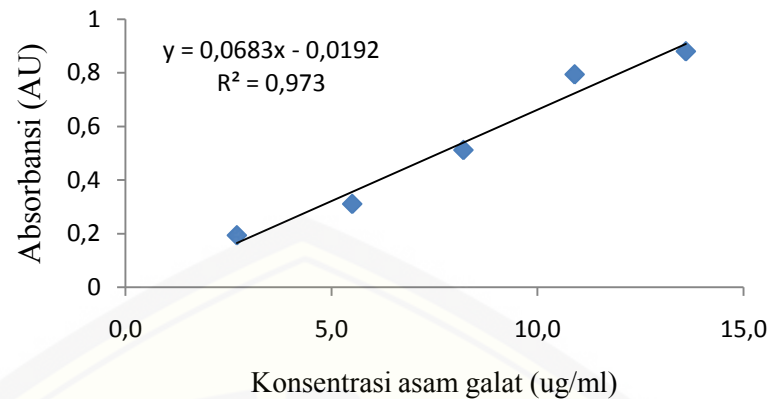
M1 (konsentrasi larutan induk) (µg/mL)	V1 (volume larutan induk) (µL)	M2 (konsentrasi akhir uji) (µg/mL)	V2 (volume akhir uji) (µL)
1000	3	2,7	1100
1000	6	5,5	1100
1000	9	8,2	1100
1000	12	10,9	1100
1000	15	13,6	1100

Contoh perhitungan

$$\begin{aligned} M1 \cdot V1 &= M2 \cdot V2 \\ 1000 \text{ µg/ml} \cdot 3 \text{ µl} &= M2 \cdot 1100 \text{ µl} \\ M2 &= 2,73 \text{ µg/ml} \end{aligned}$$

**2. Kurva Standar Asam Galat**

Konsentrasi (µg/mL)	Absorbansi Uji (AU)
2,7	0,194
5,5	0,311
8,2	0,512
10,9	0,794
13,6	0,880



### 3. Preparasi Ekstrak Uji

Ditimbang 50 mg ekstrak dan dilarutkan dalam 10 ml metanol sehingga diperoleh konsentrasi ekstrak sebesar 5 mg/ml.

Ekstrak	Berat ekstrak (mg)	Volume metanol (ml)	Konsentrasi ekstrak (mg/ml)
EHK	50	10	5
EAK	50	10	5
EMK	50	10	5

#### Contoh perhitungan

$$\text{Konsentrasi ekstrak} = \frac{\text{berat ekstrak}}{\text{volume metanol}}$$

$$\begin{aligned} \text{Konsentrasi EHK} &= \frac{50 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \\ &= 5 \text{ mg/ml} \end{aligned}$$

### 4. Penentuan Total Fenolik Ekstrak

Ekstrak	Volume ekstrak (μl)	Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> (μl)	Folin Ciocalteu (μl)	Volume total (μl)
EHK	50	1000	50	1100
EAK	50	1000	50	1100
EMK	50	1000	50	1100

### 5. Perhitungan Total Fenolik Ekstrak

$$y = 0,0683x - 0,0192$$

$$x_1 (\mu\text{g GAE/mL}) = \frac{\text{Absorbansi} + 0,0192}{0,0683}$$

$$\text{FP (faktor pengali)} = \frac{\text{volume total}}{\text{volume ekstrak}}$$

$$x_2 \text{ (mg GAE/mL)} = x_1 \times \text{FP}$$

$$x_3 \text{ (mg GAE/g)} = \frac{x_2}{\text{konsentrasi ekstrak}}$$

$$\text{mg GAE/g} = \text{konsentrasi total fenolik atau [Fenolik]}$$

Ekstrak	Absorbansi	$x_1$	FP	$x_2$	$x_3$	[Fenolik] (mg GAE/g)
EHK	0,403	6,182	22	135,994	27,199	27,414 ± 0,197
	0,407	6,240	22	137,283	27,457	
	0,409	6,269	22	137,927	27,585	
EAK	0,501	7,616	22	167,561	33,512	34,092 ± 0,527
	0,512	7,777	22	171,104	34,221	
	0,517	7,851	22	172,714	34,543	
EMK	0,749	11,247	22	247,444	49,489	49,661 ± 0,162
	0,752	11,291	22	248,410	49,682	
	0,754	11,321	22	249,054	49,811	

#### Contoh perhitungan

[Fenolik] EHK:

$$y = 0,0683x - 0,0192$$

$$x_1 \text{ (}\mu\text{g GAE/mL)} = \frac{0,403 + 0,0192}{0,0683}$$

$$= 6,182 \mu\text{g GAE/mL}$$

$$\text{FP (faktor pengali)} = \frac{1100 \mu\text{l}}{50 \mu\text{l}}$$

$$= 22$$

$$x_2 \text{ (}\mu\text{g GAE/ml)} = 6,182 \mu\text{g GAE/mL} \times 22$$

$$= 135,994 \mu\text{g GAE/ml}$$

$$x_3 \text{ (mg GAE/g)} = \frac{135,994 \mu\text{g GAE/ml}}{5 \text{ mg/ml}}$$

$$= 27,199 \mu\text{g GAE/mg}$$

$$= 27,199 \text{ mg GAE/g}$$

## Lampiran D. Uji Total Flavonoid

### 1. Perhitungan Larutan Standar Kuersetin

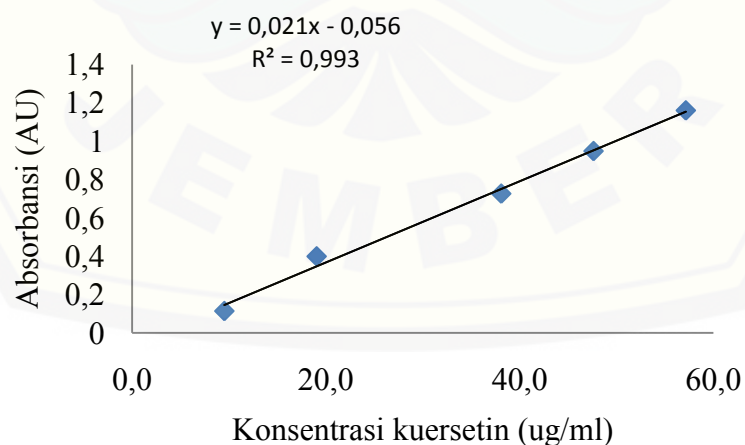
M1 (konsentrasi larutan induk) ( $\mu\text{g/ml}$ )	V1 (volume larutan induk) ( $\mu\text{l}$ )	M2 (konsentrasi akhir uji) ( $\mu\text{g/ml}$ )	V2 (volume akhir uji) ( $\mu\text{l}$ )
1000	10	9,5	1050
1000	20	19,0	1050
1000	40	38,1	1050
1000	50	47,6	1050
1000	60	57,1	1050

Contoh perhitungan

$$\begin{aligned}
 M1 \cdot V1 &= M2 \cdot V2 \\
 1000 \mu\text{g/ml} \cdot 10 \mu\text{l} &= M2 \cdot 1050 \mu\text{l} \\
 M2 &= 9,5 \mu\text{g/ml}
 \end{aligned}$$

### 2. Kurva Standar Kuersetin

Konsentrasi ( $\mu\text{g/ml}$ )	Absorbansi Uji (AU)
9,5	0,114
19,0	0,399
38,1	0,726
47,6	0,948
57,1	1,160





### 3. Preparasi Ekstrak Uji

Ditimbang 50 mg ekstrak dan dilarutkan dalam 10 ml metanol sehingga diperoleh konsentrasi ekstrak sebesar 5 mg/ml.

Ekstrak	Berat ekstrak (mg)	Volume metanol (ml)	Konsentrasi ekstrak (mg/ml)
EHK	50	10	5
EAK	50	10	5
EMK	50	10	5

*Contoh perhitungan*

$$\text{Konsentrasi ekstrak} = \frac{\text{berat ekstrak}}{\text{volume metanol}}$$

$$\begin{aligned} \text{Konsentrasi EHK} &= \frac{50 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \\ &= 5 \text{ mg/ml} \end{aligned}$$

### 4. Penentuan Total Flavonoid Ekstrak

Ekstrak	Volume ekstrak (μl)	Volume metanol (μl)	Akuades (μl)	NaNO <sub>2</sub> (μl)	AlCl <sub>3</sub> (μl)	NaOH (μl)	Akuades (μl)	Volume Total
ENB	50	100	400	30	30	200	240	1050
EEB	50	100	400	30	30	200	240	1050
EMB	50	100	400	30	30	200	240	1050

### 5. Perhitungan Total Flavonoid Ekstrak

$$y = 0,021x - 0,056$$

$$x_1 (\mu\text{g QE/ml}) = \frac{\text{Absorbansi} + 0,056}{0,021}$$

$$\text{FP (faktor pengali)} = \frac{\text{volume total}}{\text{volume ekstrak}}$$

$$x_2 (\text{mg QE/ml}) = x_1 \times \text{FP}$$

$$x_3 (\text{mg GAE/g}) = \frac{x_2}{\text{konsentrasi ekstrak}}$$

$$\text{mg GAE/g} = \text{konsentrasi total flavonoid atau [Flavonoid]}$$

Ekstrak	Absorbansi	$x_1$	FP	$x_2$	$x_3$	[Flavonoid] (mg GAE/g)
EHK	0,436	23,429	21	492,000	98,400	$99,533 \pm 1,102$
	0,442	23,714	21	498,000	99,600	
	0,447	23,952	21	503,000	100,600	
EAK	0,523	27,571	21	579,000	115,800	$116,000 \pm 0,200$
	0,524	27,619	21	580,000	116,000	
	0,525	27,667	21	581,000	116,200	
EMK	0,730	37,429	21	786,000	157,200	$157,533 \pm 0,416$
	0,731	37,476	21	787,000	157,400	
	0,734	37,619	21	790,000	158,000	

### Contoh perhitungan

[Flavonoid] EHK:

$$y = 0,021x - 0,056$$

$$x_1 (\mu\text{g QE/mL}) = \frac{0,436 + 0,056}{0,021}$$

$$= 23,429 \mu\text{g QE/mL}$$

$$\text{FP (faktor pengali)} = \frac{1050 \mu\text{l}}{50 \mu\text{l}}$$

$$= 21$$

$$x_2 (\mu\text{g QE/ml}) = 23,429 \mu\text{g QE/mL} \times 21$$

$$= 492,000 \mu\text{g QE/ml}$$

$$x_3 (\text{mg QE/g}) = \frac{492,000 \mu\text{g QE/ml}}{5 \text{ mg/ml}}$$

$$= 98,400 \mu\text{g QE/mg}$$

$$= 98,400 \text{ mg GAE/g}$$

## Lampiran E. Analisis Penghambatan Enzim $\alpha$ -Glukosidase

### 1. Preparasi Kontrol Positif Akarbose

Akarbose yang digunakan adalah dalam bentuk sediaan tablet Glucobay 50 mg dengan berat tablet sebesar 129,20 mg. Ditimbang Akarbose 3 mg kemudian dilarutkan dalam 1 ml DMSO, sehingga didapatkan konsentrasi akarbose sebesar 1,16mg/ml. Dipipet 86,2  $\mu\text{l}$  lalu dilarutkan dalam 1 ml DMSO sehingga didapatkan konsentrasi akarbose 100  $\mu\text{g/ml}$ .

$$\frac{3 \text{ mg}}{129,20 \text{ mg}} \times 50 \text{ mg} = 1,16 \text{ mg}$$

$$\text{Konsentrasi akarbose} = \frac{1,16 \text{ mg}}{1 \text{ mL}} = 2,64 \text{ mg/mL}$$

$$M1 \times V1 = M2 \times V2$$

$$1.160 \text{ } \mu\text{g/mL} \times V1 = 100 \text{ } \mu\text{g/mL} \times 1000 \text{ } \mu\text{L}$$

$$V1 = 86,2 \text{ } \mu\text{L}$$

Dibuat 5 titik konsentrasi yaitu 1; 2; 3; 4; dan 5  $\mu\text{g/ml}$  dari larutan akarbose 100  $\mu\text{g/ml}$  tersebut dengan mengambil volume sebesar 2,4; 4,8; 7,2; 9,6; 12  $\mu\text{l}$ .

M1 (konsentrasi larutan stok) ( $\mu\text{g GAE/mL}$ )	V1 (volume larutan uji) ( $\mu\text{L}$ )	M2 (konsentrasi uji) ( $\mu\text{g/mL}$ )	V2 (volume akhir uji) ( $\mu\text{L}$ )
100	2,4	1	240
100	4,8	2	240
100	7,2	3	240
100	9,6	4	240
100	12	5	240

*Contoh perhitungan*

$$M1 \cdot V1 = M2 \cdot V2$$

$$100 \text{ } \mu\text{g GAE/ml} \cdot V1 = 1 \cdot 240 \text{ } \mu\text{l}$$

$$M2 = 2,4 \text{ } \mu\text{l}$$

## 2. Preparasi Ekstrak Uji

Dibuat larutan stok ekstrak dengan konsentrasi konsentrasi 100  $\mu\text{g GAE/mL}$ , selanjutnya dilakukan uji penghambatan enzim  $\alpha$ -glukosidase dengan 5 konsentrasi uji.

### 1. EHK

M1 (konsentrasi larutan stok) ( $\mu\text{g GAE/ml}$ )	V1 (volume larutan uji) ( $\mu\text{l}$ )	M2 (konsentrasi uji) ( $\mu\text{g/ml}$ )	V2 (volume akhir uji) ( $\mu\text{l}$ )
100	2,4	1	240
100	12	5	240
100	24	10	240
100	36	15	240
100	48	20	240

## 2. EAK

M1 (konsentrasi larutan stok) ( $\mu\text{g GAE/ml}$ )	V1 (volume larutan uji) ( $\mu\text{l}$ )	M2 (konsentrasi uji) ( $\mu\text{g/ml}$ )	V2 (volume akhir uji) ( $\mu\text{l}$ )
100	2,4	1	240
100	10,8	4,5	240
100	21,6	9	240
100	32,4	13,5	240
100	43,2	18	240

## 3. EMK

M1 (konsentrasi larutan stok) ( $\mu\text{g GAE/ml}$ )	V1 (volume larutan uji) ( $\mu\text{l}$ )	M2 (konsentrasi uji) ( $\mu\text{g/ml}$ )	V2 (volume akhir uji) ( $\mu\text{l}$ )
100	2,4	1	240
100	7,2	3	240
100	14,4	6	240
100	21,6	9	240
100	28,8	12	240

*Contoh perhitungan*

$$\begin{aligned}
 M1 \cdot V1 &= M2 \cdot V2 \\
 100 \mu\text{g GAE/ml} \cdot V1 &= 1 \cdot 240 \mu\text{l} \\
 M2 &= 2,4 \mu\text{l}
 \end{aligned}$$

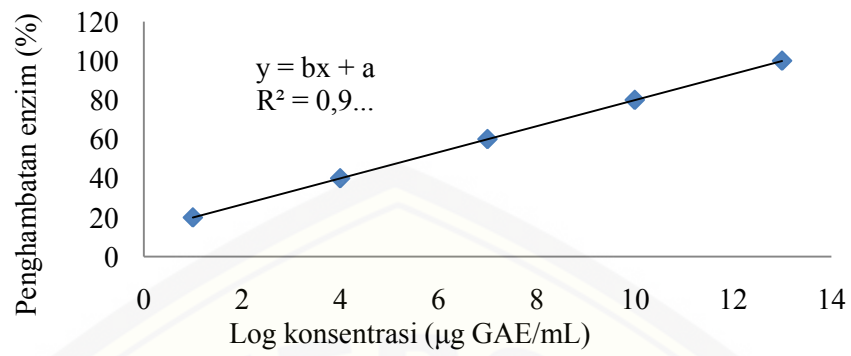
### 3. Perhitungan Nilai $IC_{50}$ Penghambatan Enzim $\alpha$ -Glukosidase

$$\text{Penghambatan enzim } \alpha\text{-glukosidase (\%)} = \frac{(A1-A2)}{A1} \times 100\%$$

A1 = Nilai absorbansi pengujian tanpa sampel

A2 = Nilai absorbansi pengujian dengan sampel uji

Kurva penghambatan enzim  $\alpha$ -glukosidase



Perhitungan Nilai  $IC_{50}$ :

$$x = \frac{y-a}{b}, y = 50$$

$$\text{antilog } x = IC_{50}$$

Ekstrak	Kons. ( $\mu\text{g}$ GAE/ml)	Log Kons.	Absorbansi uji			Penghambatan enzim (%)			$y=bx+a$	IC <sub>50</sub> ( $\mu\text{g}$ GAE/ml)	IC <sub>50</sub> ( $\mu\text{g}$ ekstrak/ml)
			Rep 1	Rep 2	Rep 3	Rep1	Rep 2	Rep 3			
Blanko akarbose	0	0	0,169	0,165	0,163	-	-	-	$y_1 = 84,02x + 18,91$ $R^2 = 0,962$	-	$2,36 \pm 0,02$
	1	0,000	0,128	0,130	0,128	22,892	21,687	22,892	$y_2 = 87,21x + 17,22$ $R^2 = 0,951$		
	2	0,301	0,100	0,101	0,102	39,759	39,157	38,554	$y_3 = 83,53x + 18,16$ $R^2 = 0,951$		
	3	0,477	0,075	0,078	0,077	54,819	53,012	53,614			
	4	0,602	0,052	0,052	0,050	68,675	68,675	69,880			
	5	0,699	0,028	0,027	0,025	83,133	84,940	83,735			
EHK	0	0	0,196	0,202	0,200	-	-	-	$y_1 = 42,28x + 0,763$ $R^2 = 0,977$	$14,64 \pm 0,081$	$533,93 \pm 3,07$
	1	0,000	0,193	0,192	0,191	3,015	3,518	4,020	$y_2 = 42,09x + 1,023$ $R^2 = 0,971$		
	5	0,699	0,146	0,149	0,148	26,633	26,131	25,628	$y_3 = 41,51x + 1,510$ $R^2 = 0,976$		
	10	1,000	0,117	0,116	0,115	41,206	41,709	42,211			
	15	1,176	0,101	0,102	0,100	49,246	48,744	49,749			
	20	1,301	0,079	0,078	0,076	60,302	60,804	60,296			
EAK	0	0	0,173	0,172	0,172	-	-	-	$y_1 = 46,74x + 3,831$ $R^2 = 0,960$	$9,76 \pm 0,702$	$286,30 \pm 3,35$
	1	0,000	0,159	0,160	0,161	7,558	6,977	6,395	$y_2 = 46,81x + 3,774$ $R^2 = 0,963$		
	4,5	0,653	0,125	0,122	0,123	27,326	29,070	28,488	$y_3 = 47,30x + 3,035$ $R^2 = 0,965$		
	9	0,954	0,091	0,092	0,094	47,093	46,512	45,349			
	13,5	1,130	0,075	0,078	0,076	56,395	54,651	55,814			
	18	1,255	0,056	0,054	0,055	67,442	68,605	68,023			
EMK	0	0	0,157	0,155	0,153	-	-	-	$y_1 = 45,47x + 8,152$ $R^2 = 0,959$	$8,22 \pm 0,204$	$165,54 \pm 3,65$
	1	0,000	0,139	0,138	0,139	10,323	10,968	10,323	$y_2 = 45,21x + 8,324$ $R^2 = 0,962$		
	3	0,477	0,111	0,113	0,112	28,387	27,097	27,742	$y_3 = 46,71x + 7,851$ $R^2 = 0,964$		
	6	0,778	0,093	0,092	0,091	40,000	40,645	41,290			
	9	0,954	0,080	0,079	0,078	48,387	49,032	49,677			
	12	1,079	0,057	0,058	0,056	63,226	62,581	63,871			

*Contoh perhitungan*

EHK:

$$\text{Konsentrasi} = 1 \mu\text{g GAE/ml} \qquad \text{Log kons.} = 0,000$$

$$\begin{aligned} \text{Penghambatan enzim (\%)} &= \frac{0,199-0,193}{0,199} \times 100\% \\ &= 3,015\% \end{aligned}$$

$$\text{Konsentrasi} = 5 \mu\text{g GAE/ml} \qquad \text{Log kons.} = 0,699$$

$$\begin{aligned} \text{Penghambatan enzim (\%)} &= \frac{0,199-0,146}{0,199} \times 100\% \\ &= 26,633\% \end{aligned}$$

$$\text{Konsentrasi} = 10 \mu\text{gGAE/mL} \qquad \text{Log kons.} = 1,000$$

$$\begin{aligned} \text{Penghambatan enzim (\%)} &= \frac{0,199-0,117}{0,199} \times 100\% \\ &= 41,206\% \end{aligned}$$

$$\text{Konsentrasi} = 15 \mu\text{gGAE/mL} \qquad \text{Log kons.} = 1,176$$

$$\begin{aligned} \text{Penghambatan enzim (\%)} &= \frac{0,199-0,101}{0,199} \times 100\% \\ &= 49,246\% \end{aligned}$$

$$\text{Konsentrasi} = 20 \mu\text{gGAE/mL} \qquad \text{Log kons.} = 1,301$$

$$\begin{aligned} \text{Penghambatan enzim (\%)} &= \frac{0,199-0,079}{0,199} \times 100\% \\ &= 60,302\% \end{aligned}$$

Data kemudian diplotkan antara log konsentrasi dengan penghambatan (%), sehingga didapatkan persamaan  $y = 42,28x + 0,763$  dengan nilai  $R^2 = 0,977$ . Selanjutnya ditentukan nilai  $IC_{50}$  dengan  $y = 50$ .

$$x = \frac{y - a}{b}$$

$$x = \frac{50 - 0,763}{42,28}$$

$$= 1,165 \Rightarrow \text{antilog } 1,165 = 14,606$$

$$\begin{aligned}
 \text{Nilai IC}_{50} &= 14,606 \mu\text{g GAE/ml} \\
 &= \frac{14,606 \mu\text{g GAE /ml}}{27,199 \mu\text{g GAE /mg ekstrak}} \times 1000 \\
 &= 537,005 \mu\text{g/ml}
 \end{aligned}$$

## Lampiran F. Analisis Peredaman Radikal DPPH

### 1. Preparasi Kontrol Positif Vitamin C

Ditimbang vitamin C sebanyak 1 mg, kemudian dilarutkan dalam 1 ml metanol, sehingga diperoleh konsentrasi vitamin C 1 mg/mL. Dipipet 100  $\mu\text{L}$  larutan vitamin C dan ditambahkan metanol hingga 1 ml sehingga diperoleh konsentrasi vitamin C 100  $\mu\text{g/ml}$ .

$$\text{Konsentrasi vitamin C} = \frac{1 \text{ mg}}{1 \text{ mL}} = 1 \text{ mg/mL}$$

$$M1 \times V1 = M2 \times V2$$

$$1000 \mu\text{g/mL} \times V1 = 100 \mu\text{g/mL} \times 1000 \mu\text{L}$$

$$V1 = 100 \mu\text{L}$$

Dibuat 5 titik konsentrasi yaitu 1; 2; 3; 4; dan 5  $\mu\text{g/ml}$  dari larutan vitamin C 100  $\mu\text{g/ml}$  dengan mengambil volume sebesar 10,3; 20,7; 31; 41,3; dan 51,7  $\mu\text{L}$ .

M1 (konsentrasi larutan stok) ( $\mu\text{g GAE/mL}$ )	V1 (volume larutan uji) ( $\mu\text{L}$ )	M2 (konsentrasi uji) ( $\mu\text{g/mL}$ )	V2 (volume akhir uji) ( $\mu\text{L}$ )
100	10,3	1	1033
100	20,7	2	1033
100	31	3	1033
100	41,3	4	1033
100	51,7	5	1033

#### Contoh perhitungan

$$M1 \cdot V1 = M2 \cdot V2$$

$$100 \mu\text{g GAE/ml} \cdot V1 = 1 \cdot 1033 \mu\text{L}$$

$$M2 = 10,3 \mu\text{L}$$



## 2. Preparasi Ekstrak Uji

Dibuat larutan stok ekstrak dengan konsentrasi konsentrasi 100 µg GAE/mL, selanjutnya dilakukan uji peredaman radikal DPPH dengan 5 konsentrasi uji. Konsentrasi 0 berlaku sebagai blanko.

### 1. EHK

M1 (konsentrasi larutan stok) (µg GAE/ml)	V1 (volume larutan uji) (µl)	M2 (konsentrasi uji) (µg/ml)	V2 (volume akhir uji) (µl)
100	10,3	1	1033
100	51,7	5	1033
100	103,3	10	1033
100	155	15	1033
100	206,6	20	1033

### 2. EAK

M1 (konsentrasi larutan stok) (µg GAE/ml)	V1 (volume larutan uji) (µl)	M2 (konsentrasi uji) (µg/ml)	V2 (volume akhir uji) (µl)
100	10,3	1	1033
100	41,3	4	1033
100	82,6	8	1033
100	124	12	1033
100	165,3	16	1033

### 3. EMK

M1 (konsentrasi larutan stok) (µg GAE/ml)	V1 (volume larutan uji) (µl)	M2 (konsentrasi uji) (µg/ml)	V2 (volume akhir uji) (µl)
100	10,3	1	1033
100	31	3	1033
100	51,7	5	1033
100	72,3	7	1033
100	93	9	1033

*Contoh perhitungan*

$$M1 \cdot V1 = M2 \cdot V2$$

$$100 \mu\text{g GAE/ml} \cdot V1 = 1 \cdot 1033 \mu\text{l}$$

$$M2 = 10,3 \mu\text{l}$$

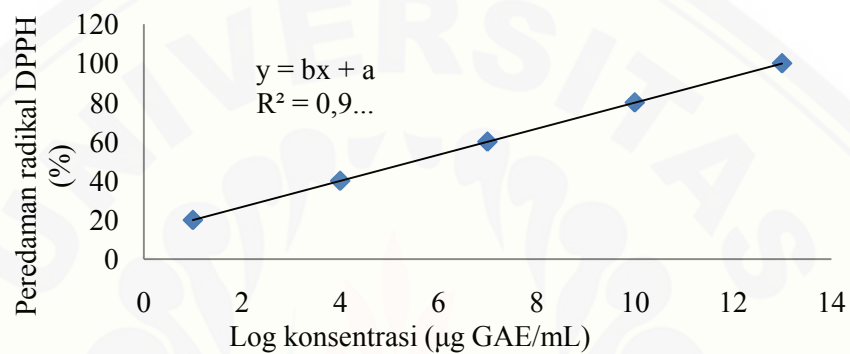
### 3. Perhitungan Nilai $IC_{50}$ Peredaman Radikal DPPH

$$\text{Peredaman radikal DPPH (\%)} = \frac{(A_c - A_s)}{A_c} \times 100\%$$

$A_c$  = Nilai absorbansi pengujian tanpa sampel

$A_s$  = Nilai absorbansi pengujian dengan sampel uji

Kurva peredaman DPPH



Perhitungan Nilai  $IC_{50}$ :

$$x = \frac{y-a}{b}, y = 50$$

antilog  $x = IC_{50}$

Ekstrak	Kons. ( $\mu\text{g}$ GAE/ml)	Log Kons.	Absorbansi uji			Peredaman DPPH (%)			y=bx+a	IC <sub>50</sub> ( $\mu\text{g}$ GAE/ml)	IC <sub>50</sub> ( $\mu\text{g}$ ekstrak/ml)
			Rep 1	Rep 2	Rep 3	Rep1	Rep 2	Rep 3			
Blanko	0	0	0,767	0,772	0,774	-	-	-	$y_1 = 71,76x + 27,51$ $R^2 = 0,993$	-	-
Vitamin C	1	0,000	0,548	0,555	0,558	28,923	28,016	27,626	$y_2 = 72,32x + 26,81$ $R^2 = 0,995$	-	2,092 $\pm$ 0,035
	2	0,301	0,407	0,409	0,416	47,211	46,952	46,044	$y_3 = 72,56x + 26,21$ $R^2 = 0,993$	-	-
	3	0,477	0,301	0,303	0,306	60,960	60,700	60,311			
	4	0,602	0,230	0,233	0,237	70,169	69,780	69,261			
	5	0,699	0,158	0,162	0,164	79,507	78,988	78,729			
EHK	0	0	0,524	0,526	0,529	-	-	-	$y_1 = 39,50x + 3,963$ $R^2 = 0,983$	-	-
	1	0,000	0,503	0,505	0,507	4,373	3,992	3,612	$y_2 = 39,77x + 3,360$ $R^2 = 0,978$	15,020 $\pm$ 0,466	547,848 $\pm$ 3,55
	5	0,699	0,355	0,358	0,361	32,510	31,939	31,369	$y_3 = 39,40 + 3,057$ $R^2 = 0,981$		
	10	1,000	0,311	0,316	0,318	40,875	39,924	39,544			
	15	1,176	0,274	0,276	0,279	47,909	47,529	46,958			
	20	1,301	0,215	0,213	0,219	59,125	59,506	58,365			
EAK	0	0	0,649	0,650	0,650	-	-	-	$y_1 = 41,85x + 4,873$ $R^2 = 0,969$	-	-
	1	0,000	0,602	0,608	0,615	7,385	6,462	5,385	$y_2 = 42,59x + 3,973$ $R^2 = 0,965$	12,045 $\pm$ 0,071	353,344 $\pm$ 3,53
	4	0,602	0,476	0,477	0,479	26,769	26,615	26,308	$y_3 = 43,47 + 2,905$ $R^2 = 0,964$		
	8	0,903	0,392	0,395	0,399	39,692	39,231	38,615			
	12	1,079	0,332	0,337	0,339	48,923	48,154	47,846			
	16	1,204	0,253	0,255	0,259	60,154	60,769	61,077			
EMK	0	0	0,547	0,549	0,550	-	-	-	$y_1 = 55,40x + 12,05$ $R^2 = 0,982$	-	-
	1	0,000	0,472	0,477	0,480	14,026	13,115	12,568	$y_2 = 55,81x + 11,19$ $R^2 = 0,982$	4,939 $\pm$ 0,989	100,415 $\pm$ 2,92
	3	0,477	0,351	0,354	0,358	36,066	35,519	34,791	$y_3 = 56,33x + 10,55$ $R^2 = 0,984$		
	5	0,699	0,283	0,286	0,288	48,452	47,905	47,541			
	7	0,845	0,232	0,236	0,232	57,741	57,013	57,741			
	9	0,954	0,171	0,173	0,177	68,852	68,488	67,760			

*Contoh perhitungan*

EHK:

$$\text{Konsentrasi} = 1 \mu\text{g GAE/ml} \qquad \text{Log kons.} = 0,000$$

$$\begin{aligned} \text{Peredaman DPPH (\%)} &= \frac{0,526-0,503}{0,526} \times 100\% \\ &= 4,373\% \end{aligned}$$

$$\text{Konsentrasi} = 5 \mu\text{g GAE/ml} \qquad \text{Log kons.} = 0,699$$

$$\begin{aligned} \text{Peredaman DPPH (\%)} &= \frac{0,526-0,355}{0,526} \times 100\% \\ &= 32,510\% \end{aligned}$$

$$\text{Konsentrasi} = 10 \mu\text{gGAE/mL} \qquad \text{Log kons.} = 1,000$$

$$\begin{aligned} \text{Peredaman DPPH (\%)} &= \frac{0,526-0,311}{0,526} \times 100\% \\ &= 40,875\% \end{aligned}$$

$$\text{Konsentrasi} = 15 \mu\text{gGAE/mL} \qquad \text{Log kons.} = 1,176$$

$$\begin{aligned} \text{Peredaman DPPH (\%)} &= \frac{0,526-0,274}{0,526} \times 100\% \\ &= 47,909\% \end{aligned}$$

$$\text{Konsentrasi} = 20 \mu\text{gGAE/mL} \qquad \text{Log kons.} = 1,301$$

$$\begin{aligned} \text{Peredaman DPPH (\%)} &= \frac{0,526-0,215}{0,526} \times 100\% \\ &= 59,125\% \end{aligned}$$

Data kemudian diplotkan antara log konsentrasi dengan penghambatan (%), sehingga didapatkan persamaan  $y = 39,5x + 3,963$  dengan nilai  $R^2 = 0,983$ . Selanjutnya ditentukan nilai  $IC_{50}$  dengan  $y = 50$ .

$$x = \frac{y - a}{b}$$

$$x = \frac{50 - 3,963}{39,5}$$

$$= 1,165 \Rightarrow \text{antilog } 1,165 = 14,64$$

$$\begin{aligned}
 \text{Nilai IC}_{50} &= 14,64 \mu\text{g GAE/ml} \\
 &= \frac{14,64 \mu\text{g GAE /ml}}{27,199 \mu\text{g GAE /mg ekstrak}} \times 1000 \\
 &= 538,225 \mu\text{g/ml}
 \end{aligned}$$

## Lampiran G. ANALISIS STATISTIK ONEWAY ANOVE-LSD

### 1. Total Fenolik

#### Ekstrak

#### Case Processing Summary

Pelarut	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
Kadarfenolik N-heksana	3	100.0%	0	.0%	3	100.0%
Etil asetat	3	100.0%	0	.0%	3	100.0%
Metanol	3	100.0%	0	.0%	3	100.0%

#### Tests of Normality

Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
.254	3	.	.964	3	.633
.263	3	.	.955	3	.592
.219	3	.	.987	3	.782

a. Lilliefors Significance Correction

#### Test of Homogeneity of Variances

Kadarfenolik

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.939	2	6	.129

## ANOVA

Kadarfenolik

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	781.913	2	390.956	3418.041	.000
Within Groups	.686	6	.114		
Total	782.599	8			

## Post Hoc Tests

## Multiple Comparisons

Kadarfenolik

LSD

		95% Confidence Interval				
(I) Pelarut	(J) Pelarut	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	Lower Bound	Upper Bound
N-heksana	Etil asetat	-6.678333*	.276140	.000	-7.35402	-6.00264
	Metanol	-22.247000*	.276140	.000	-22.92269	-21.57131
Etil asetat	N-heksana	6.678333*	.276140	.000	6.00264	7.35402
	Metanol	-15.568667*	.276140	.000	-16.24436	-14.89298
Metanol	N-heksana	22.247000*	.276140	.000	21.57131	22.92269
	Etil asetat	15.568667*	.276140	.000	14.89298	16.24436

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

## 2. Total Flavonoid Ekstrak

### Case Processing Summary

		Cases					
		Valid		Missing		Total	
		N	Percent	N	Percent	N	Percent
Kadarflavonoid	N-heksana	3	100.0%	0	.0%	3	100.0%
	Etil asetat	3	100.0%	0	.0%	3	100.0%
	Metanol	3	100.0%	0	.0%	3	100.0%

### Tests of Normality

Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
.191	3	.	.997	3	.900
.175	3	.	1.000	3	1.000
.292	3	.	.923	3	.463

a. Lilliefors Significance Correction

### Test of Homogeneity of Variances

Kadarflavonoid

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.320	2	6	.179

### ANOVA

kadarflavonoid

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	5360.169	2	2680.084	5635.692	.000
Within Groups	2.853	6	.476		
Total	5363.022	8			

### Post Hoc Tests

#### Multiple Comparisons

kadarflavonoid

LSD

		95% Confidence Interval				
(I) pelarut	(J) pelarut	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	Lower Bound	Upper Bound
n-heksna	etil asetat	-16.466667*	.563060	.000	-17.84443	-15.08891
	metanol	-58.000000*	.563060	.000	-59.37776	-56.62224
etil asetat	n-heksna	16.466667*	.563060	.000	15.08891	17.84443
	metanol	-41.533333*	.563060	.000	-42.91109	-40.15557
metanol	n-heksna	58.000000*	.563060	.000	56.62224	59.37776
	etil asetat	41.533333*	.563060	.000	40.15557	42.91109

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

### 3. IC<sub>50</sub> Aktivitas Penghambatan Glukosidase Ekstrak

#### Case Processing Summary



		Cases					
		Valid		Missing		Total	
		N	Percent	N	Percent	N	Percent
pelarut	ic50enzim n-heksana	3	100.0%	0	.0%	3	100.0%
	etil asetat	3	100.0%	0	.0%	3	100.0%
	metanol	3	100.0%	0	.0%	3	100.0%

**Tests of Normality**

pelarut		Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
ic50enzim	n-heksana	.176	3	.	1.000	3	.988
	etil asetat	.338	3	.	.852	3	.244
	metanol	.335	3	.	.858	3	.262

a. Lilliefors Significance Correction

**Test of Homogeneity of Variances**

ic50enzim

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.207	2	6	.819

**ANOVA**

ic50enzim

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	211618.375	2	105809.187	9359.025	.000
Within Groups	67.833	6	11.306		
Total	211686.208	8			

### Post Hoc Tests

#### Multiple Comparisons

ic50enzim

LSD

		95% Confidence Interval				
(I) pelarut	(J) pelarut	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	Lower Bound	Upper Bound
n-heksana	etil asetat	247.639000*	2.745369	.000	240.92132	254.35668
	metanol	368.391333*	2.745369	.000	361.67366	375.10901
etil asetat	n-heksana	-247.639000*	2.745369	.000	-254.35668	-240.92132
	metanol	120.752333*	2.745369	.000	114.03466	127.47001
metanol	n-heksana	-368.391333*	2.745369	.000	-375.10901	-361.67366
	etil asetat	-120.752333*	2.745369	.000	-127.47001	-114.03466

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

#### 4. IC<sub>50</sub> Aktivitas Peredaman Radikal DPPH Ekstrak

#### Case Processing Summary

Pelarut	Cases		
	Valid	Missing	Total

		N	Percent	N	Percent	N	Percent
IC50ddph	N-heksana	3	100.0%	0	.0%	3	100.0%
	Etil asetat	3	100.0%	0	.0%	3	100.0%
	Metanol	3	100.0%	0	.0%	3	100.0%

**Tests of Normality**

Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
.285	3	.	.932	3	.497
.184	3	.	.999	3	.930
.236	3	.	.977	3	.711

a. Lilliefors Significance Correction

**Test of Homogeneity of Variances**

IC50ddph

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
4.978	2	6	.053

**ANOVA**

IC50ddph

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	159.327	2	79.664	963.493	.000
Within Groups	.496	6	.083		
Total	159.823	8			

## Post Hoc Tests

## Multiple Comparisons

IC50ddph

LSD

					95% Confidence Interval	
(I) Pelarut	(J) Pelarut	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	Lower Bound	Upper Bound
N-heksana	Etil asetat	2.975000*	.234779	.000	2.40052	3.54948
	Metanol	10.033000*	.234779	.000	9.45852	10.60748
Etil asetat	N-heksana	-2.975000*	.234779	.000	-3.54948	-2.40052
	Metanol	7.058000*	.234779	.000	6.48352	7.63248
Metanol	N-heksana	-10.033000*	.234779	.000	-10.60748	-9.45852
	Etil asetat	-7.058000*	.234779	.000	-7.63248	-6.48352

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