



**SCREENING FITOKIMIA DAN STUDI AKTIVITAS EKSTRAK
DAUN SINTOK (*Cinnamomum sintoc Bl*) SEBAGAI
ANTIOKSIDAN DAN ANTIHIPERLIPIDEMIA**

SKRIPSI

Oleh
Ardine Kumalasari
NIM 121810301017

**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS JEMBER
2017**



**SCREENING FITOKIMIA DAN STUDI AKTIVITAS EKSTRAK
DAUN SINTOK (*Cinnamomum sintoc Bl*) SEBAGAI
ANTIOKSIDAN DAN ANTIHIPERLIPIDEMIA**

SKRIPSI

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

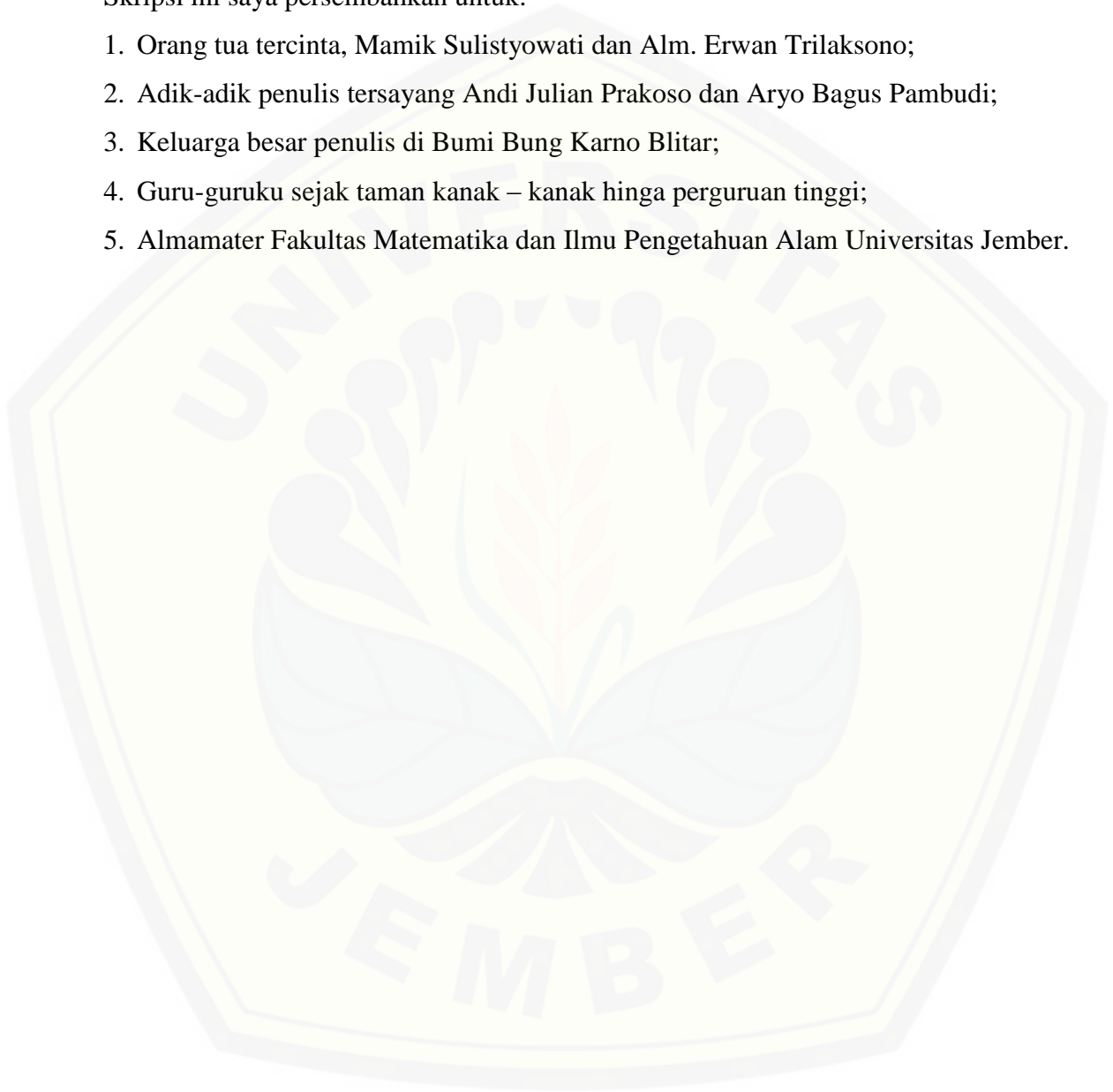
Oleh
Ardine Kumalasari
NIM 121810301017

**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS JEMBER
2017**

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Orang tua tercinta, Mamik Sulistyowati dan Alm. Erwan Trilaksono;
2. Adik-adik penulis tersayang Andi Julian Prakoso dan Aryo Bagus Pambudi;
3. Keluarga besar penulis di Bumi Bung Karno Blitar;
4. Guru-guruku sejak taman kanak – kanak hingga perguruan tinggi;
5. Almamater Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.



MOTO

Maka nikmat Tuhan manalagi yang kau dustakan.

(Terjemahan *Al-Rahman* ayat13)^{*)}



^{*)} Departemen Agama Republik Indonesia. 1998. *AlQur'an dan Terjemahannya*. Semarang: PT Kumudasmoro Grafindo.

PERNYATAAN

Saya yang bertandatangan di bawah ini:

nama : Ardine Kumalasari

NIM : 121810301017

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul “Screening Fitokimia dan Studi Aktivitas Ekstrak Daun Sintok (*Cinnamomum sintoc* Bl.) sebagai Antioksidan dan Antihiperlipidemia” 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 sika 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, Mei 2017

Yang menyatakan,

Ardine Kumalasari

NIM 121810301017

SKRIPSI

**SCREENING FITOKIMIA DAN STUDI AKTIVITAS EKSTRAK
DAUN SINTOK (*Cinnamomum sintoc Bl*) SEBAGAI
ANTIOKSIDAN DAN ANTIHIPERLIPIDEMIA**

Oleh

Ardine Kumalasari

NIM 121810301017

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : drh. Wuryanti Handayani, M.Si.

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

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Screening Fitokimia dan Studi Aktivitas Ekstrak Daun Sintok (*Cinnamomum sintoc* Bl.) sebagai Antioksidan dan Antihiperlipidemia” telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember pada:

hari, tanggal :

tempat : Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Tim Penguji;

Ketua,

Anggota I,

drh. Wuryanti Handayani, M.Si.

Prof. Tri Agus Siswoyo, S.P., M.Agr., Ph.D.

NIP. 196008221985032002

NIP. 197008101998031001

AnggotaII,

Anggota III,

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

Agung Budi Santoso, S.Si., M.Si.

NIP. 195910091986021001

NIP. 197104301998031003

Mengesahkan

Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan,

Drs. Sujito, Ph.D.

NIP. 196102041987111001

RINGKASAN

Screening Fitokimia dan Studi Aktivitas Ekstrak Daun Sintok (*Cinnamomum sintoc* Bl) sebagai Antioksidan dan Antihiperlipidemia; Ardine Kumalasari, 121810301017; 2017: 53 halaman; Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

Senyawa metabolit sekunder merupakan senyawa organik alami yang berasal dari tumbuhan dimana senyawa ini bertindak sebagai pelindung tumbuhan dari gangguan lingkungan. Senyawa ini juga banyak digunakan sebagai antioksidan dan antihiperlipidemia. *Cinnamomum* merupakan genus tanaman pepohonan *evergreen* aromatik dimana kulit kayu genus tanaman ini sering digunakan sebagai rempah-rempah dan obat. *Cinnamomum sintoc* Bl merupakan salah satu spesies dari genus ini yang memiliki berbagai macam senyawa metabolit sekunder pada kulit batangnya. Senyawa metabolit sekunder pada daun sintok serta aktivitas terhadap antioksidan dan antihiperlipidemia dianalisa pada penelitian ini.

Senyawa metabolit sekunder dalam daun Sintok diskriming dengan reagen spesifik masing-masing golongan senyawa. Hasil skrining ini berupa reaksi positif terhadap reagen spesifik masing – masing senyawa, dengan menggunakan kontrol pembanding yaitu methanol sebagai kontrol negatif. Senyawa yang terdapat pada daun Sintok di setiap ekstrak berbeda-beda. Ekstrak MS memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder lebih banyak daripada ekstrak HS dan ES.

Potensi antioksidan dan antihiperlipidemia terhadap total fenolik ekstrak daun sintok dianalisis dengan cara *in vitro*. Potensi ekstrak sebagai antioksidan dapat dilihat dari nilai IC_{50} terhadap peredaman DPPH. Nilai IC_{50} yang paling kecil menunjukkan potensi yang paling baik. Vitamin C digunakan sebagai standar dalam analisa antioksidan ini sedangkan orilstat digunakan sebagai standar dalam analisa antihiperlipidemia. Potensi ekstrak sebagai antihiperlipidemia terlihat pada nilai persen penghambatan terhadap lipase pankreas. Nilai penghambatan tertinggi pada konsentrasi fenolik yang sama menunjukkan potensi antihiperlipidemia yang baik.

Hasil analisis antioksidan menunjukkan bahwa ekstrak MS berpotensi sebagai antoksidan dibandingkan dengan standar vitamin C. Ekstrak fenolik daun Sintok berpotensi sebagai antihiperlipidemia dibandingkan dengan standar orilstat. Ekstrak ES yang paling berpotensi sebagai antihiperlipidemia dibandingkan ekstrak HS dan MS karena memiliki nilai persen penghambatan tertinggi pada lipase pankreas.

PRAKATA

Puji syukur atas segala rahmat dan karunia yang dilimpahkan Allah SWT, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “*Screening* Fitokimia dan Studi Aktivitas Ekstrak Daun Sintok (*Cinnamomum Sintoc Bl*) sebagai Antioksidan dan Antihiperlipidemia”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) di Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karenanya, penulis menyampaikan terima kasih kepada:

1. Drs. Sujito, Ph.D., selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember;
2. Dr. Bambang Piluharto, S.Si., M.Si., selaku ketua Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember;
3. drh. Wuryanti Handayani, M.Si, selaku Dosen Pembimbing Utama dan Prof. Tri Agus Siswoyo, S.P., M.Agr., Ph.D., selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah meluangkan waktu, tenaga, pikiran dan perhatian dalam penulisan skripsi ini;
4. Drs.Achmad Sjaifullah, M.Sc., Ph.D., selaku Dosen Penguji I, dan Agung Budi Santoso, S.Si., M.Si., selaku Dosen Penguji II yang telah meluangkan waktunya guna menguji, serta memberikan kritik dan saran demi kesempurnaan skripsi ini;
5. Ika Oktavianawati, S.Si., M.Sc., selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah membimbing penulis selama menjadi mahasiswa.
6. Ari Satia Nugraha, S.F.GdipSc., M.Sc., Ph.D., atas segala ilmu yang diberikan kepada penulis selama penyusunan skripsi ini.
7. segenap dosen pengajar Fakultas MIPA, terutama dosen-dosen Jurusan Kimia Universitas Jember yang telah memberikan banyak ilmu dan pengetahuan;

8. keluarga tercinta yang setia mendukung baik moril dan materiil, mendoakan, mendidik, dan memberi kasih sayang dan pengorbanan yang tidak terhingga selama ini;
9. teman-teman Kimia angkatan 2012 (Lanthanida), terima kasih atas semangat, bantuan, saran, perhatian, dan kenangan yang telah diberikan;
10. teman-teman UKM SPORA dan HIMAKI atas semangat dan kenangan yang diberikan;
11. Moch. Ary Saputra., Zuni Dihliziah., Dhoni Taufik Primatama., Shella Ariska Susianti., Lailatul Nurfadila., Nur Aini H., Ratna Wahyu Noviasari., Endah Retno Kusumaningsih., dan Ardian Lubis, terima kasih atas doa, dukungan, semangat dan perhatian yang diberikan selama ini;
12. kawan seperjuangan dalam menyelesaikan skripsi di *Center for Development of Advance Science and Technology* (CDAST), terima kasih atas saran, kerjasama dan bantuannya;
13. semua pihak yang telah membantu yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

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

Jember, Mei 2017

Penulis

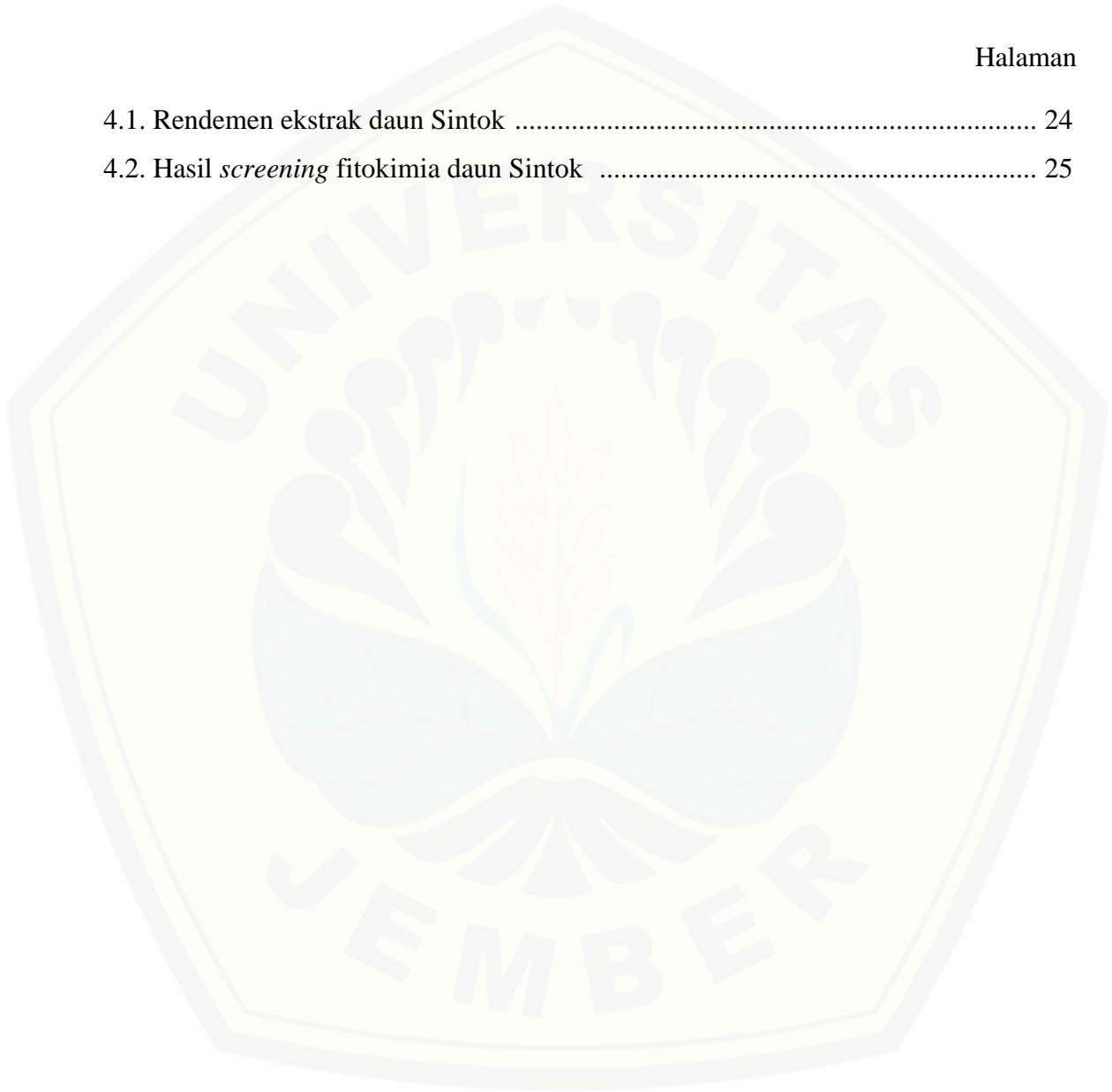
DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSEMBAHAN	ii
HALAMAN MOTO	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
HALAMAN PEMBIMBING	v
HALAMAN PENGESAHAN	vi
RINGKASAN	vii
PRAKATA	viii
DAFTAR ISI	x
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Batasan Masalah	3
1.4 Tujuan Penelitian	3
1.5 Manfaat Penelitian	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Deskripsi Tanaman Sintok (<i>Cinnamomum sintoc</i> Bl.)	5
2.2 Senyawa Metabolit Sekunder	6
2.2.1 Fenolik	6
2.2.2 Flavonoid	7
2.2.3 Alkaloid	9
2.2.4 Steroid	10
2.2.5 Terpenoid	10
2.3 Ekstraksi Bioaktif	11
2.4 Spektrofotometri UV-Vis	11
2.5 Radikal Bebas dan Antioksidan	12
2.6 Hiperlipidemia	14
2.7 Lipase	15
BAB 3. METODE PENELITIAN	17
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	17
3.2 Alat dan Bahan	17
3.2.1 Alat.....	17
3.2.2 Bahan	17
3.3 Diagram Alir Penelitian	18
3.4 Prosedur Kerja	19
3.4.1 Pengambilan Sampel.....	19

3.4.2 Uji Kadar Air	19
3.4.3 Uji Fitokimia	19
a. Uji Flavonoid	19
b. Uji Alkaloid	20
c. Uji Terpenoid dan Steroid	20
d. Uji Tanin.....	20
3.4.4 Ekstraksi Senyawa Metabolit Sekunder dari Simplisia	20
3.4.5 Pembuatan Larutan <i>Stock</i>	21
3.4.6 Analisa Total Fenolik	21
3.4.7 Analisa Total Flavonoid	21
3.4.8 Uji Antioksidan (Peredaman Radikal DPPH).....	22
3.4.8 Uji Anthiperlipidemia (Inhibitor Lipase).....	22
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	24
4.1 Hasil <i>Screening</i> Fitokimia Daun Sintok.....	24
4.1.1 Identifikasi Flavonoid dengan Uji Basa	25
4.1.2 Identifikasi Alkaloid dengan Uji Dragendroff	26
4.1.3 Identifikasi Terpenoid dan Steroid dengan Uji Lieberman- Burchad	28
4.5.4 Identifikasi Tanin dengan Uji FeCl ₃	30
4.2 Kandungan Total Fenolik Daun Sintok	31
4.3 Kandungan Total Flavonoid Daun Sntok	33
4.4 Aktivitas Antioksidan	35
4.5 Aktivitas Antihiperlipidemia	36
BAB 5. PENUTUP	38
5.1 Kesimpulan.....	38
5.2 Saran	38
DAFTAR PUSTAKA	39
LAMPIRAN.....	44

DAFTAR TABEL

	Halaman
4.1. Rendemen ekstrak daun Sintok	24
4.2. Hasil <i>screening</i> fitokimia daun Sintok	25



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Sketsa tanaman Sintok	5
2.2 Struktur kimia fenol	7
2.3 Reaksi pembentukan ion fenolat	7
2.4 Struktur kimia flavonoid	8
2.5 Reaksi tahapan total flavonoid	9
2.6 Struktur kimia kafein	10
2.7 Struktur kimia steroid	10
2.8 Struktur kimia terpenoid	10
2.9 Reaksi peroksidasi lipid	12
2.10 Reaksi BHA dengan radikal bebas	13
2.11 Reaksi radikal DPPH dengan antioksidan	13
2.12 Reaksi hidrolisis oleh lipase	14
2.13 Struktur kimia orilstat	15
2.14 Reaksi hidrolisis p-NPB	16
4.1 Reaksi uji flavonoid	25
4.2 Perubahan warna ekstrak Sintok identifikasi flavonoid.....	26
4.3 Perubahan warna ekstrak Sintok identifikasi alkaloid	27
4.4 Reaksi pembentukan reagen dragendroff.....	28
4.5 Reaksi uji alkaloid.....	28
4.6 Perubahan warna ekstrak Sintok identifikasi terpenoid dan steroid	29
4.7 Reaksi uji terpenoid dan steroid.....	29
4.8 Reaksi uji tanin.....	30
4.9 Perubahan warna ekstrak Sintok identifikasi tanin	31
4.10 Total fenolik ekstrak daun Sintok	32

4.11 Total flavonoid ekstrak daun Sintok	34
4.12 Nilai IC_{50} peredaman radikal DPPH oleh ekstrak daun Sintok	36
4.13 Nilai persen penghambatan lipase oleh ekstrak daun Sintok	37



DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
4.1 Validasi Tanaman Sintok	44
4.2 Kadar Air Tanaman Sintok	45
4.3 Skrining Fitokimia Daun Sintok	45
4.4 Rendemen Ekstrak yang Diperoleh	45
4.5 Konsentrasi Ekstrak untuk Analisa Total Fenolik	46
4.6 Perhitungan Analisa Total Fenolik	46
4.7 Perhitungan Analisa Total Flavonoid	47
4.8 Perhitungan Analisa Peredaman Radikal DPPH.....	48
4.9 Perhitungan Nilai Persen Penghambatan Lipase	52

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Senyawa metabolit sekunder merupakan senyawa organik alami yang berasal dari tumbuhan dimana senyawa ini bertindak sebagai pelindung tumbuhan dari gangguan lingkungan. Senyawa ini memiliki struktur kimia yang kompleks dimana senyawa ini merupakan produk buangan (*waste products*) dari suatu biosintesis (Wink, 1999). Senyawa metabolit sekunder sering dijumpai di dalam daun, batang, akar, bunga dan buah pada tanaman tingkat tinggi (Biesaga & Pyrzynska, 2013). Senyawa ini dapat diisolasi melalui tahapan proses seperti penghalusan, pengeringan ataupun liofilisasi buah dan sayuran dengan cara perendaman dan selanjutnya diekstrak dengan pelarut (Merken & Beecher, 2000). Senyawa ini banyak digunakan sebagai antioksidan, antimikroba, antikanker dan lain sebagainya. Kemampuannya sebagai senyawa bioaktif memberikan peran yang besar terhadap kepentingan manusia. Senyawa metabolit sekunder yang dimaksud dapat berupa senyawa antara lain adalah alkaloid, flavonoid, tanin, saponin dan lain-lain.

Antioksidan dalam arti kimia merupakan senyawa donor elektron terhadap radikal bebas. Antioksidan secara biologis mampu mengatasi dampak negatif dari oksidasi dalam tubuh seperti kerusakan sel tubuh. Keseimbangan antara oksidan dan antioksidan sangat penting, hal ini berkaitan dengan sistem imunitas dalam tubuh (Winarsi, 2007). Antioksidan diproduksi secara alami oleh tubuh untuk mengimbangi produksi radikal bebas. Produksi radikal bebas yang berlebih dalam tubuh akibat faktor lingkungan dan lain – lain, maka dibutuhkan tambahan antioksidan dari luar (Muchtadi, 2013). Antioksidan diperoleh dari luar tubuh dalam bentuk sintesis dan alami. Bentuk sintesis antioksidan dapat berupa BHT (*buthylatedhydroxytoluene*), BHA (*buthylatedhidroksianisol*) dan TBHQ (*ters-buthylhydroquinone*). Bentuk alami yang berpotensi sebagai antioksidan adalah tanaman yang mengandung flavonoid dan tanin dimana kedua senyawa tersebut tergolong senyawa fenolik (Jin *et al.*, 2012).

Hiperlipidemia adalah tingginya kadar asam lemak dalam darah. Selain dari makanan, lemak dapat diperoleh dari metabolisme tubuh yang diproduksi oleh hati (LIPI, 2009). Lemak dalam tubuh dihidrolisis oleh lipase pankreas untuk menghasilkan asam lemak. Asam lemak hasil hidrolisis trigleserida oleh lipase pankreas diangkut menuju permukaan mikrovili lalu diserap ke dalam pembuluh darah (Shin *et al.*, 2003). Peningkatan aktivitas lipase pankreas akan menimbulkan penumpukan asam lemak dalam darah. Penurunan resiko penyakit hiperlipidemia dapat dilakukan dengan penghambatan aktivitas lipase pankreas sehingga penumpukan asam lemak dalam darah akan berkurang.

Pengobatan yang digemari oleh masyarakat saat ini adalah pengobatan secara herbal atau menggunakan bahan alami daripada obat modern dikarenakan efek samping yang dihasilkan lebih sedikit. Beberapa penelitian telah menunjukkan bahwa ekstrak daun seledri (*Apium graveolens L*) (Idris, 1990), daun salam (*Eugenia poliantha*) (Lajuck, 2012) dapat menghambat aktivitas lipase pankreas. Hasil yang didapat dalam penelitian tersebut bahwa tanaman tersebut mengandung senyawa metabolit sekunder berupa alkaloid, pektin, flavonoid, steroid, tanin, atau saponin.

Cinnamomum merupakan genus tanaman pepohonan *evergreen* aromatik. Kulit kayu genus tanaman ini sering digunakan sebagai rempah-rempah dan obat. Menurut Kadam *et al.* (2013), senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam genus *cinnamomum* adalah alkaloid, flavonoid, terpenoid tanin dan lain-lain. Tanaman sintok sebagai salah satu spesies dari genus *cinnamomum* ini, bagian kulit batangnya sering digunakan sebagai obat. Berdasarkan penelitian dari Alfira (2014) kulit batang sintok mengandung alkaloid, flavonoid, fenolik dan lain-lain, sedangkan Tarigan (2014) berhasil mengisolasi minyak atsiri pada kulit batang tanaman ini. Berdasarkan uraian di atas, penelitian ini dilakukan untuk mengetahui golongan senyawa yang terkandung dalam daun sintok serta potensinya sebagai antioksidan dan antihiperlipidemia.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, maka yang menjadi rumusan masalah pada penelitian ini adalah:

- a. Apa saja golongan senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam daun sintok (*Cinnamomum sintoc* Bl)?
- b. Bagaimana potensi ekstrak daun sintok (*Cinnamomum sintoc* Bl) terhadap aktivitas antioksidan dan antihiperlipidemia?

1.3 Batasan Masalah

Batasan masalah dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

- a. Sampel daun sintok diambil di kawasan Taman Nasional Meru Betiri Jember.
- b. Ekstraksi menggunakan pelarut heksana, etil asetat dan metanol.
- c. Senyawa metabolit sekunder yang diidentifikasi melalui *screening* antara lain: flavonoid, alkaloid, terpenoid, steroid dan tannin.
- d. Uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode perendaman radikal DPPH.
- e. Uji aktivitas antihiperlipidemia dilakukan dengan cara *in vitro* menggunakan lipase pankreas.

1.4 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah sebagai berikut:

- a. Mengetahui golongan senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam daun sintok (*Cinnamomum sintoc* Bl).
- b. Mengetahui potensi daun sintok (*Cinnamomum sintoc* Bl) terhadap aktivitas antioksidan dan antihiperlipidemia.

1.5 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberi manfaat untuk:

- a. Memberikan informasi terhadap masyarakat dan peneliti tentang golongan senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam daun sintok (*Cinnamomum sintoc* Bl).

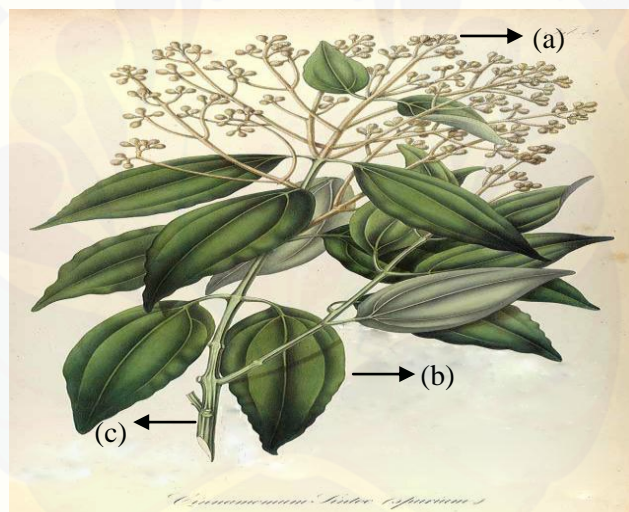
- b. Memberikan informasi terhadap masyarakat dan peneliti akan potensi daun sintok (*Cinnamomum sintoc Bl*) terhadap aktivitas antioksidan dan antihiperlipidemia.



BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Deskripsi Tanaman Sintok (*Cinnamomum sintoc Bl*)

Sintok merupakan sejenis tanaman cemara besar yang dapat tumbuh hingga setinggi 39 meter. Tanaman ini memiliki bentuk morfologi berupa batangnya bulat kasar dan berkayu dengan diameter berkisar 90 cm. Daun menjari tiga berbentuk oval dengan ujung yang runcing dan berwarna merah-ungu kehijauan mengkilat. Bunga yang dimiliki oleh tanaman ini terletak di ujung berukuran kecil. Buah berbentuk bulat dan berbulu berwarna hijau dengan biji bulat kecil berwarna hijau dan akan merah apabila matang. Penampakan tanaman kayu kuning dapat dilihat pada Gambar 2.1.



(a) bunga; (b) daun; (c) tangkai

Gambar 2.1 Sketsa tanaman Sintok (Plantamor, 2012)

Taksonomi tanaman sintok berdasarkan Plantamor (2012) adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Tracheobionta
Super Divisi	: Spermatophyta
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Sub Kelas	: Magnoliidae
Ordo	: Laurales

Famili : Lauraceae
Genus : *Cinnamomum*
Spesies : *Cinnamomum sintoc* Bl.

Species lain yang satu genus tanaman ini telah diteliti komponen kimia yang ada di dalamnya seperti *Cinnamomum verum* yang terdapat alkaloid, flavonoid, terpenoid, dan senyawa lain yang berfungsi sebagai antikanker, antioksidan serta antimikroba (Kadam *et al.*, 2013). Menurut Vangalapati *et al.* (2012), genus *cinnamomum* dapat menjadi obat salah satunya sebagai penurun kolesterol.

2.2 Senyawa Metabolit Sekunder

Senyawa metabolit sekunder merupakan senyawa bioaktif yang merupakan hasil dari proses metabolisme. Setiap organisme memiliki variasi jenis dan jumlah metabolit sekunder tersendiri. Senyawa bioaktif ini memberikan manfaat berlebih terhadap kelangsungan hidup manusia, antara lain sebagai antioksidan, antikanker, antibiotik dan penghambatan efek karsinogenik (Lenny, 2006).

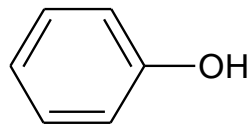
Senyawa metabolit sekunder dapat digolongkan berdasarkan ada tidaknya kandungan nitrogen di dalamnya, antara lain:

- a. Senyawa tanpa atom nitrogen dalam strukturnya, contohnya golongan terpenoid, saponin, flavonoid, dll.
- b. Senyawa dengan atom nitrogen dalam strukturnya, contohnya golongan alkaloid, glikosida, amina, dll.

(Wink, 1999).

2.2.1 Fenolik

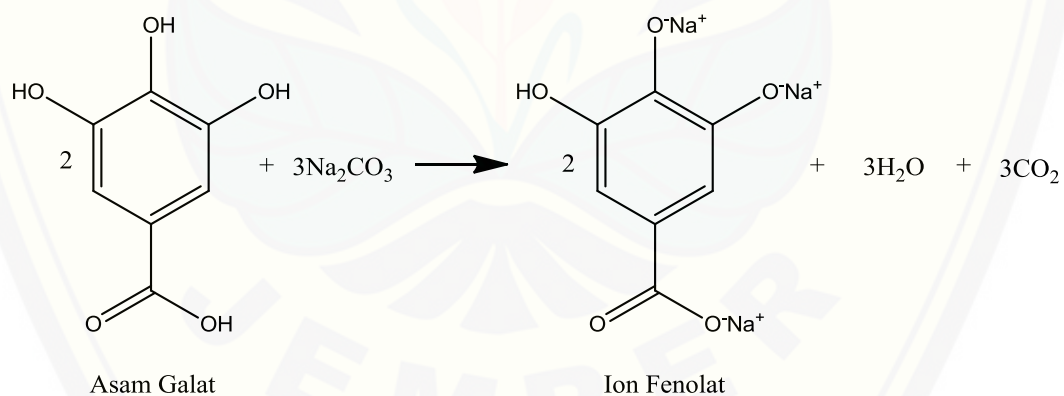
Fenolik merupakan salah satu kelompok besar senyawa metabolit sekunder yang umumnya dijumpai pada tanaman tingkat tinggi. Kelompok senyawa ini menarik banyak perhatian karena potensinya sebagai antioksidan dan efeknya dalam mencegah berbagai penyakit. Fenolik adalah kelompok senyawa yang memiliki satu atau lebih gugus hidroksil yang terikat pada cincin aromatik (Vermeris & Nicholson, 2006).



Gambar 2.2 Struktur kimia fenol (Vermerris & Nicholson, 2006)

Banyaknya variasi gugus yang mungkin tersubstitusi pada kerangka utama fenol menyebabkan kelompok fenolik memiliki banyak sekali anggota. Menurut Marinova *et al.* (2005), terdapat lebih dari 8000 jenis senyawa yang termasuk dalam golongan senyawa fenolik mulai dari yang paling sederhana dengan berat molekul kecil hingga senyawa yang kompleks dengan berat molekul lebih dari 30.000 Da.

Total fenolik digunakan sebagai satuan dasar pengukuran antioksidan dan antihiperlipidemia dengan menggunakan asam galat sebagai standar pengukuran. Asam galat akan bereaksi dengan natrium karbonat membentuk ion fenolat dimana ion ini akan mereduksi satu atom atau lebih oksigen dari reagen Folin-Ciocalteu yang berwarna kuning menjadi senyawa baru berwarna biru (Rayner dan Raynel, 2011).



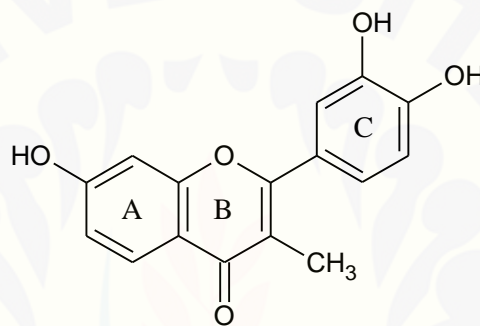
Gambar 2.3 Reaksi pembentukan ion fenolat (Rayner & Raynel, 2011)

2.2.2 Flavonoid

Flavonoid merupakan golongan senyawa polifenol yang dapat ditemukan di tanaman. Flavonoid pada tanaman memberikan fungsi tersendiri pada tanaman itu sendiri, diantaranya sebagai antioksidan, antimikroba, fotoreseptor dan skrining cahaya. Pada tanaman mangrove flavonoid berperan sebagai antioksidan dengan

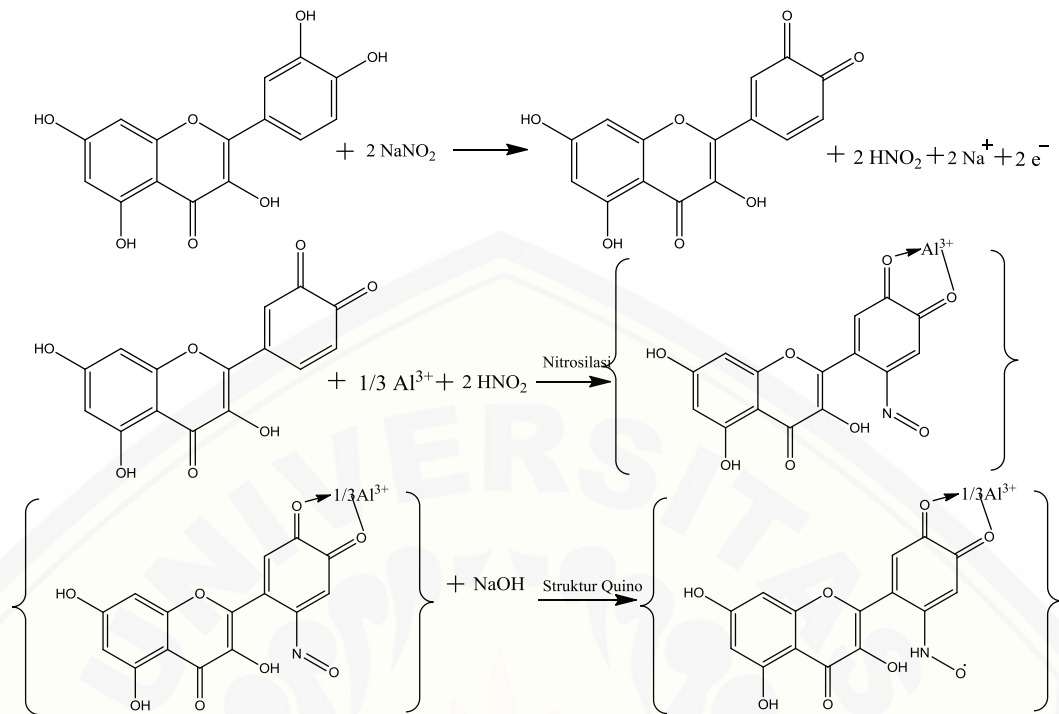
menghambat peroksidasi dari lipid dan berpotensi menonaktifkan oksigen triplet (Samsudin, 2008).

Flavonoid memberikan dampak positif bagi manusia yang mengkonsumsinya. Flavonoid berperan sebagai antioksidan dengan mentransfer sebuah elektron ke senyawa radikal bebas dan membentuk kompleks dengan logam. Efek dari mekanisme tersebut berupa peroksidasi lipid terhambat, kerusakan jaringan dapat dicegah, dan beberapa aktivitas enzim terhambat (Harbone, 1987). Berikut struktur dasar dari senyawa flavonoid dapat dilihat pada Gambar 2.4.



Gambar 2.4. Struktur kimia flavonoid (Ikan, 1991)

Total flavonoid digunakan untuk mengetahui jumlah flavonoid dalam fenolik dengan menggunakan kuersetin yang memiliki gugus katekol (1,2-dihidroksibenzena) sebagai standar pengukuran. Gambar 2.5 menjelaskan tahapan penentuan total flavonoid. Kuersetin bereaksi dengan natrium nitrat, dan dimana gugus katekol akan dioksidasi menjadi keton. Gugus keton yang terbentuk akan mengompleks dengan kation alumunium (Al^{3+}) yang berasal dari $AlCl_3$ dan dilanjutkan dengan nitrosilasi oleh asam nitrit hasil reduksi dari natrium nitrat sebelumnya. Senyawa tersebut kemudian direduksi oleh natrium hidroksida dan menghasilkan struktur quino (Zhu *et al.*, 2009)

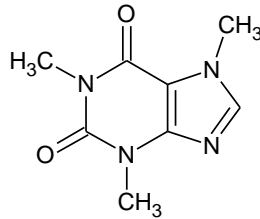


Gambar 2.5 Reaksi tahapan total flavonoid (Zhu *et al.*, 2009)

2.2.3 Alkaloid

Alkaloid adalah golongan senyawa organik bersifat basa karena kandungan atom nitrogen dalam sikliknya yang paling banyak ditemukan di alam. Cincin yang dimiliki alkaloid berupa heterosiklik yang bersifat aktif dan memiliki efek fisiologis. Sifat fisik alkaloid yaitu biasanya tidak berwarna, berbentuk kristal terkadang berupa cairan pada suhu ruang, dan berasa pahit (Harbone, 1996). Alkaloid banyak terdapat pada bagian-bagian tanaman seperti batang, daun, serta buah.

Kemampuan senyawa alkaloid berperan untuk menghentikan reaksi radikal bebas secara efisien (antioksidan). Alkaloid memiliki aktivitas fisiologis pada kesehatan manusia meskipun sebagian dari alkaloid bersifat racun (Harbone, 1987). Berikut struktur dari senyawa kafein yang merupakan golongan dari alkaloid dapat dilihat pada Gambar 2.6.

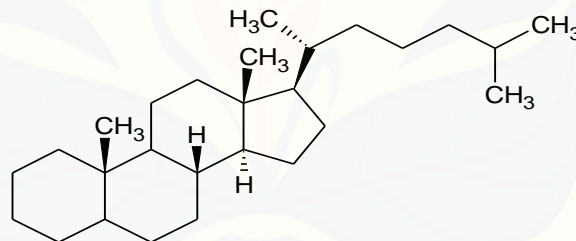


Gambar 2.6 Struktur kimia kafein (Ikan, 1991)

2.2.4 Steroid

Steroid merupakan golongan senyawa organik turunan triterpenoid. Senyawa ini dapat ditemui pada beberapa jenis tanaman. Senyawa ini secara alami berasal dari transformasi kimia triterpena yaitu lanosterol dan saikloartenol. Golongan ini memiliki banyak manfaat yaitu sebagai antiradang, antiinflamasi, antikarsinogenik dan lain-lain. Sehingga steroid sering digunakan sebagai bahan dasar pembuatan obat (Harbone, 1987).

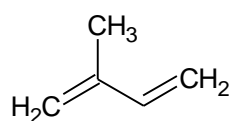
Steroid memiliki empat siklik yang terdiri dari tiga sikloheksana dan satu siklopentana. Berikut struktur utama dari senyawa steroid:



Gambar 2.7 Struktur kimia steroid (Anonim, 2009)

2.2.5 Terpenoid

Terpenoid merupakan senyawa organik yang tersusun dua atau lebih kerangka karbon C-5 (isoprene). Senyawa ini berupa minyak atsiri yang berasal dari tumbuhan yang dapat diisolasi dengan metode penyulingan. Golongan ini memiliki manfaat antara lain berupa antidiabetik, antioksidan, antimalaria, dan lain-lain (Wili, 2010). Berikut struktur kimia dari terpenoid:



Gambar 2.8 Struktur kimia terpenoid (Wili, 2010)

2.3 Ekstraksi Bioaktif

Ekstraksi adalah pemisahan senyawa bioaktif pada jaringan tanaman dan hewan menggunakan pelarut selektif melalui prosedur standar. Produk yang diperoleh dari tanaman berupa campuran metabolit kompleks, dalam keadaan cair atau semipadat maupun bubuk kering (Tiwari *et al.*, 2011). Metode ekstraksi yang digunakan di dunia farmasi biasanya melibatkan pemisahan bagian aktif *medicinally* dari jaringan tanaman yang aktif dengan menggunakan pelarut selektif. Selama ekstraksi, pelarut berdifusi ke dalam bahan tanaman padat dan melarutkan senyawa dengan polaritas yang sama (Ncube *et al.*, 2008). Maserasi merupakan salah satu metode dalam ekstraksi yang menggunakan suhu ruang. Pada metode ini simplisia di rendam dengan pelarut selama 3 hari sambil digerakkan sehingga pelarut akan mengekstrak secara maksimal.

Menurut Ncube *et al.* (2008) terdapat hal-hal penting yang harus diperhatikan dalam ekstraksi untuk menghasilkan kualitas ekstrak dan senyawa metabolit sekunder yang akan diambil. Parameter dasar yang mempengaruhi kualitas ekstrak antara lain berupa tanaman yang digunakan sebagai bahan awal atau sampel, pelarut yang digunakan untuk ekstraksi, dan prosedur ekstraksi. Pelarut dapat menentukan sifat kepolaran senyawa metabolit sekunder yang diambil mengikuti prinsip *like dissolve like*. Prosedur ekstraksipun bermacam-macam dari yang sederhana dengan peredaman (maserasi) atau dengan cara modern seperti soxhlet.

Pengaruh fitokimia yang diekstraksi pada tanaman tergantung pada sifat dari bahan tanaman, asal-usul tanaman, tingkat pengolahan, kadar air, ukuran partikel. Variasi dalam metode ekstraksi akan mempengaruhi kuantitas dan komposisi metabolit sekunder dalam ekstrak yang diperoleh tergantung pada jenis ekstraksi, waktu ekstraksi, suhu, sifat pelarut, konsentrasi pelarut, polaritas

2.4 Spektrofotometri UV-Vis

Spektrofotometer merupakan alat yang digunakan untuk mengukur absorbansi larutan berwarna yang menggunakan monokromator sebagai selektor panjang gelombangnya. Instrumen spektrofotometer yang paling sederhana

memiliki *single beam*. Penentuan konsentrasi sampel dengan spektrofotometer UV-Vis didasarkan pada absorpsi radiasi ultraviolet atau visibel oleh salah satu senyawa standar. Persamaan Lambert-Beer digunakan untuk mengkonversi absorbansi ke konsentrasi (Harvey, 2000). Berikut adalah persamaan Lambert-Beer:

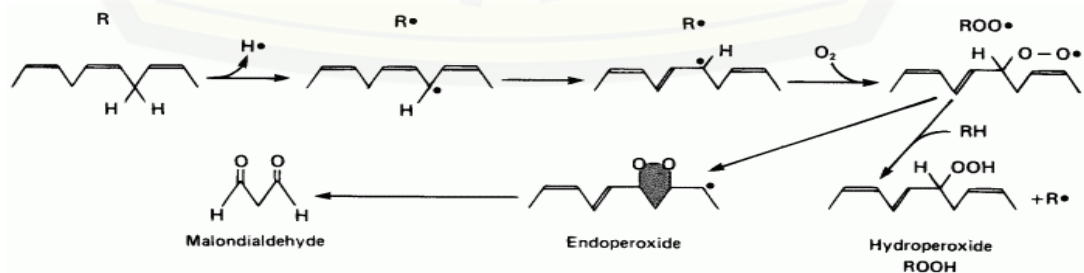
$$A = \epsilon bC \quad (\text{Persamaan 2.1})$$

Dimana A adalah absorbansi analit, ϵ absorptivitas molar ($\text{cm}^{-1}\text{M}^{-1}$), b adalah ketebalan kuvet, dan C adalah konsentrasi dalam molaritas. Analisis peredaman radikal bebas dan penghambatan enzim dapat dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Radikal bebas yang dianalisis seperti *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl* direaksikan dengan senyawa tertentu sehingga menghasilkan warna. Produk reaksi hidrolisis lipase pankreas juga direaksikan dengan pereaksi tertentu sehingga menghasilkan warna.

2.5 Radikal Bebas dan Antioksidan

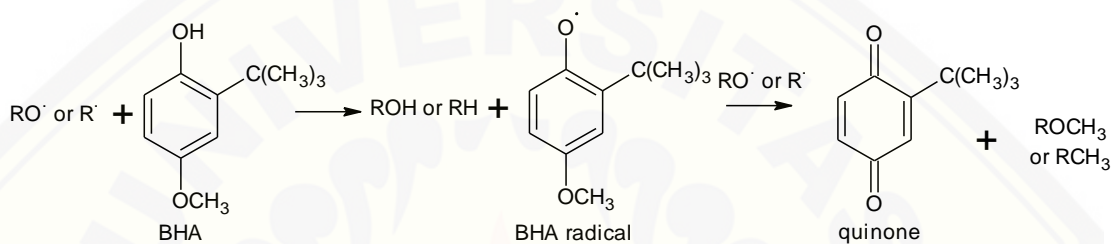
Lipid salah satu molekul yang sensitif terhadap radikal bebas sehingga terbentuk lipid peroksida. Pembentukan tersebut terjadi akibat reaksi peroksidasi lipid yang merupakan reaksi antara asam lemak tak jenuh majemuk dengan radikal bebas (Halliwell *et.al.*, 1987). Radikal bebas yang memiliki sifat sangat reaktif sehingga mudah bereaksi dengan zat disekitarnya termasuk lipid.

Peroksidasi lipid merupakan rantai reaksi beruntun, dikarenakan hasil reaksi ini membentuk radikal lipid bebas yang lain sehingga reaksi ini berkelanjutan (Halliwell *et.al.*, 1987). Berikut reaksi yang terjadi pada peroksidasi lipid dapat dilihat pada Gambar 2.9.



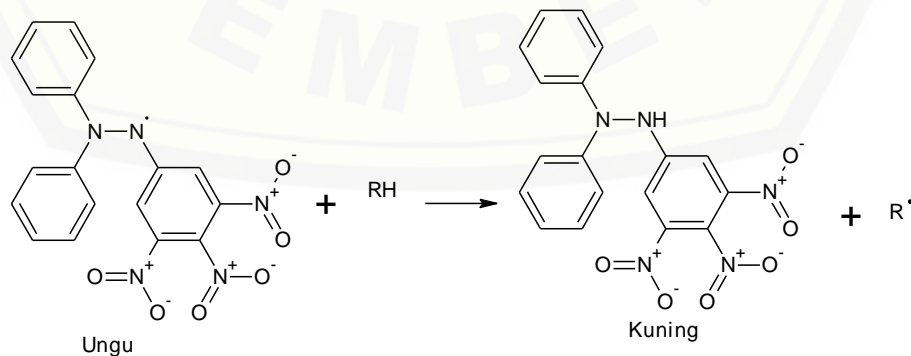
Gambar 2.9 Reaksi peroksidasi lipid (Murray *et.al.*, 2001)

Antioksidan merupakan senyawa pemberi elektron, sehingga antioksidan dapat meredam radikal bebas maka bahaya dari radikal bebas dapat diminimalisir. Antioksidan dapat ditemui secara alami pada senyawa metabolit sekunder tanaman. Antioksidan bekerja melalui 3 mekanisme antara lain dengan mencegah pembentukan radikal bebas yang baru, menginaktivasi radikal yang terbentuk dengan pemutusan rantai reaksi dan memperbaiki kerusakan akibat radikal bebas (Winarsi, 2007). Gambar 2.10 menerangkan reaksi antioksidan BHA dalam meredam radikal bebas.



Gambar 2.10 Reaksi BHA dengan radikal bebas (Wade, 2006)

Uji antioksidan dapat menggunakan metode analisis peredaman radikal DPPH didasarkan pada kemampuan senyawa fenolik mereduksi radikal buatan DPPH yang sifatnya lebih stabil daripada radikal alami. Senyawa fenolik akan mereduksi radikal DPPH menjadi *2,2-diphenyl-1-picrylhydrazine* (DPPH-H) yang berwarna kuning. Panjang gelombang maksimum radikal DPPH dalam metanol adalah 515 nm (Soler-Rivas *et al.*, 2000). Reaksi antara radikal DPPH dengan suatu antioksidan ditunjukkan pada Gambar 2.11 berikut.

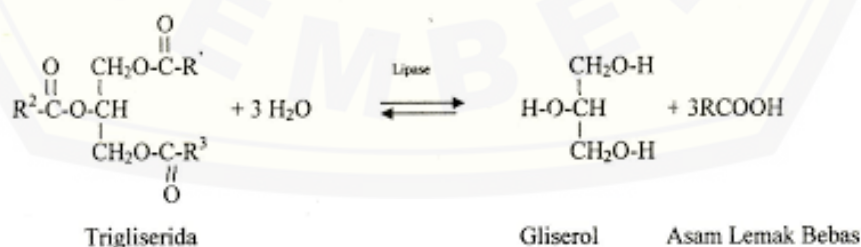


Gambar 2.11 Reaksi radikal DPPH dengan antioksidan

Analisis ini dilakukan secara spektrofometri dengan *microplate reader*. Semakin tinggi konsentrasi dan semakin reaktif senyawa fenolik, maka semakin banyak molekul DPPH yang dapat direduksi sehingga menyebabkan terjadinya penurunan absorbansi. Fenomena ini yang dimanfaatkan untuk menentukan persen peredaman radikal DPPH pada berbagai konsentrasi sehingga dapat ditentukan nilai IC_{50} . Nilai IC_{50} menunjukkan konsentrasi senyawa fenolik yang dibutuhkan untuk menurunkan 50% aktivitas radikal DPPH.

2.6 Hiperlipidemia

Hiperlipidemia adalah kelainan metabolisme lipid yang ditandai dengan meningkatnya kadar lemak berupa kolesterol, trigliserida, LDL (*Low Density Lipoprotein*), dan penurunan HDL (*High Density Lipoprotein*) di dalam serum. Hiperlipidemia akibat dari penumpukan asam lemak dalam darah dan dapat diminimalisir melalui penghambatan enzim – enzim yang terlibat dalam reaksi metabolisme lemak. Metabolisme lemak dapat dilihat pada gambar 2.10. Lemak yang berasal dari makanan berupa trigliserida (tersusun atas gliserol dan tiga rantai asam lemak) (Gyuton & Hall, 2007). Metabolisme tersebut terjadi di dalam usus halus dibantu oleh enzim hidrolitik, yaitu lipase yang menghidrolisis triasilgliserol dan fosfolipase yang menghidrolisis fosfolipid. Hidrolisis triasilgliserol menghasilkan 2-monoasilgliserol dan 2 molekul asam lemak dengan memutus ikatan pada esternya (Kuchel & Gregory, 2006).



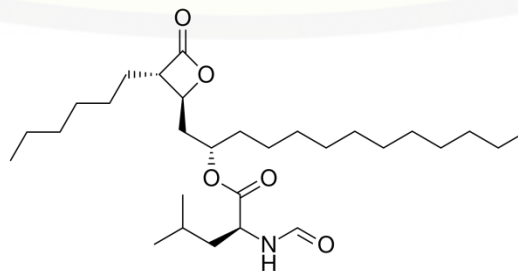
Gambar 2.12 Reaksi hidrolisis oleh lipase (Nigam and Archana, 2008)

2.7 Lipase

Lipase dihasilkan oleh kelenjar pankreas dan dikirim ke usus duodenum (dua belas jari). Lipase memecah molekul lipid membentuk asam lemak dan gliserol dimana bersifat larut dalam air seperti pada gambar 2.12 tentang mekanisme kerja lipase, sehingga kedua jenis senyawa tersebut diangkut oleh cairan getah bening (Nigam and Archana, 2008). Aktivitas lipase mempengaruhi penimbunan asam lemak, semakin tinggi aktivitas lipase maka semakin banyak pula asam lemak yang tertimbun dalam tubuh.

Inhibitor enzim adalah molekul yang dapat mengganggu proses katalisis, memperlambat atau menghentikan reaksi enzimatik. Inhibitor dapat menghambat reaksi enzimatik melalui beberapa mekanisme. Pertama, inhibitor dapat berkompetisi dengan substrat untuk menempati sisi aktif enzim. Hal ini terjadi karena inhibitor memiliki struktur yang mirip dengan substrat. Ketika inhibitor sudah menempati sisi aktif enzim maka substrat tidak dapat masuk sehingga tidak terjadi reaksi enzimatik dan tidak terbentuk produk. Kedua, inhibitor dapat membentuk ikatan kovalen dan mengubah konformasi gugus aktif enzim yang merupakan penentu aktivitas enzim, atau membentuk interaksi nonkovalen yang stabil, sehingga enzim kehilangan aktivitasnya (Nelson & Cox, 2008).

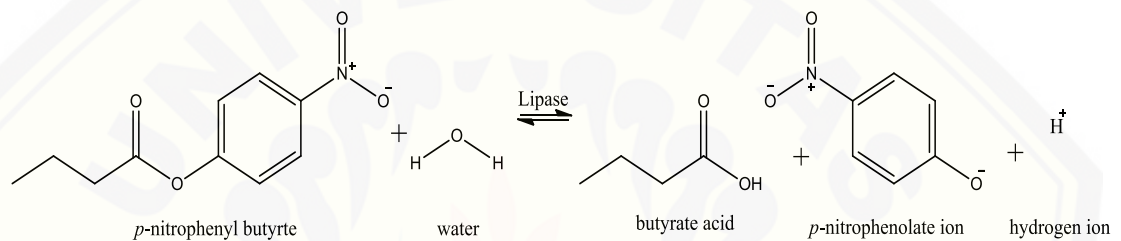
Inhibitor lipase pankreas merupakan salah satu agen antihiperlipidemia yang bekerja dengan cara menghambat kerja enzim ini. Pengurangan penyerapan lemak dari makanan oleh usus merupakan sebuah pendekatan terapeutik untuk mengontrol kadar lemak dalam darah. Inhibitor sintesis untuk lipase pankreas seperti orlistat telah banyak digunakan untuk penanganan hiperlipidemia, namun obat ini juga dilaporkan menyebabkan berbagai efek samping (Aschenbrenner and Samantha, 2009).



Gambar 2.13 Struktur kimia orlistat (Aschenbrenner and Samantha, 2009)

Beberapa studi melaporkan bahwa efek senyawa fenolik dapat menghambat enzim yang menghidrolisis lemak. Pradono dkk (2011) melaporkan adanya aktivitas inhibitor lipase pankreas karena adanya senyawa flavonoid di daun asam jawa dan rimpang kunci pepet.

Analisis penghambatan lipase pankreas didasarkan pada penurunan produk reaksi (asam lemak) ketika dilakukan penambahan inhibitor. Pliego *et al.* (2015), menggunakan *p*-nitrophenyl butirat (p-NPB) sebagai substrat lipase pankreas. Lipase pancreas akan menghidrolisis p-NPB menjadi asam butirat dan ion nitrofenolat (Gambar 2.14).



Gambar 2.14 Reaksi hidrolisis p-NPB

Ion *p*-nitrofenolat yang telah dilepaskan dari reaksi di atas dapat diketahui dengan metode spektrofotometri. Ion *p*-nitrofenolat direaksikan dengan aseton, aseton sebagai agen pereduksi merubah ion *p*-nitrofenolat menjadi *p*-nitrofenol yang menghasilkan warna kuning dan memiliki panjang gelombang maksimum 415 nm. Semakin tinggi absorbansi yang maka semakin banyak ion –nitrofenolat yang dihasilkan hal tersebut menandakan semakin tinggi pula aktivitas lipase tersebut (Pliego *et al.*, 2015).

BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini telah dilakukan pada bulan Juni – Desember 2016 di Laboratorium Biokimia Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam dan Laboratorium *Center for Development of Advance Science and Technology* (CDAST) Universitas Jember.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

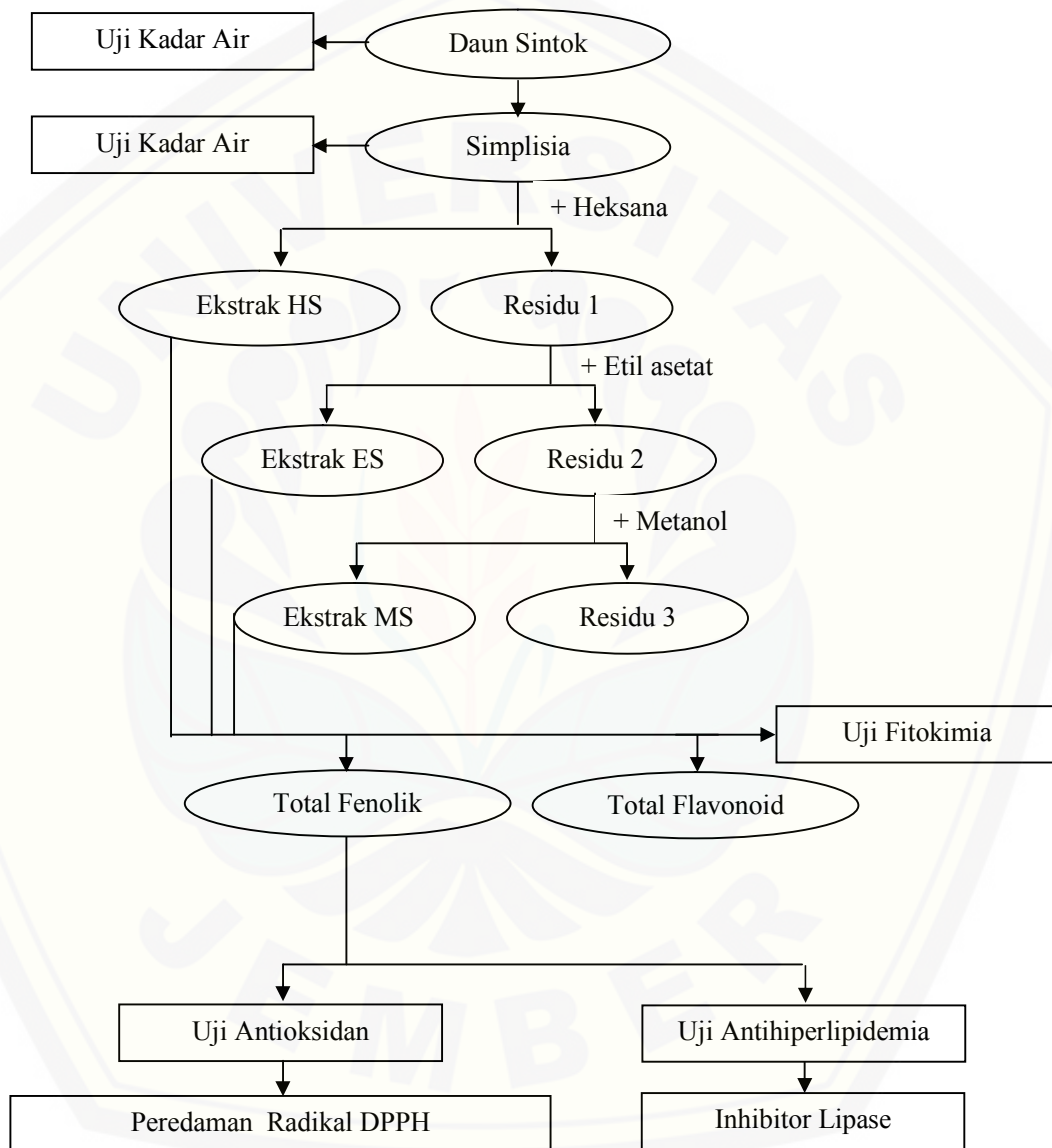
Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini digolongkan menjadi peralatan gelas, bukan gelas, dan instrumen. Peralatan gelas seperti pipet tetes, tabung reaksi, erlenmeyer 50 mL; 500 mL; 1 L, gelas ukur 10 mL; 50 mL; 500 mL, labu ukur, gelas beker 50 mL; 100 mL; 250 mL, dan kolom kromatografi. Peralatan bukan gelas antara lain cawan porselen, ayakan 60 mesh dan tabungmikro. Peralatan instrumen meliputi oven, blender, timbangan analitik (ES 2255M-DR), rotary evaporator (Steroglass Strike 300), corong Buchner, pendingin, pipet mikro, inkubator (Stuart SBS 40), satu set alat spektrofotometer UV-Vis (Hitachi U-2900), *shaker*, *96-well plates*, *microplate reader*.

3.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi: daun Sintok (*Cinnamomum Sintoc Bl*); plastik sampel; kertas label; kertas saring; alumunium foil; akuades; n-heksana (Merck); etil asetat (Merck); metanol (Merck); FeCl₃ (Merck); HCl (Merck); NaOH (Merck); reagen Dragendorff (Merck); reagen Dragendroff; kloroform (Merck); asetat anhidrat (Merck); asam sulfat (Merck); reagen *Folin-Ciocalteu* (Merck); Alumunium (III) klorida (Merck); natrium hidroksida (Merck); natrium asetat (Merck); Triton X-100 (Merck); asam asetat (Merck); aseton (Merck); natrium karbonat (Brataco); natrium nitrit (Brataco); asam galat (Sigma-Aldrich); ρ -NPB (Sigma-Aldrich); *lipase porcine pancreas* (Sigma-Aldrich); *quercetin* (nacalai tasque); *1,1-diphenyl-2-picryl-*

hydrazil (DPPH) (nacalai tasque); asam askorbat (nacalai tasque); dan orlistat (Roche S. p. A. Milan).

3.3 Diagram Alir Penelitian



Keterangan:

HS = Heksana Sintok (Ekstrak sintok yang berasal dari pelarut n-heksana)

ES = Etil asetat Sintok (Ekstrak sintok yang berasal dari pelarut etil asetat)

MS = Metanol Sintok (Ekstrak sintok yang berasal dari pelarut metanol)

3.4 Prosedur Kerja

3.4.1 Pengambilan Sampel

Daun sintok diperoleh di Taman Nasional Meru Betiri Jember. Pengambilan daun dengan cara dipetik dari tangkainya dan dimasukkan dalam wadah sampel yang telah disiapkan. Daun yang telah diambil dilakukan validasi terlebih dahulu oleh Lembaga Taman Nasional Meru Betiri untuk menghasilkan hasil yang konsisten pada sampel yang digunakan dalam penelitian ini. Daun dikeringkan pada suhu ruang selama beberapa hari. Daun yang telah kering disortir untuk memilah daun yang masih bagus kualitasnya untuk dilakukan penelitian. Hasil sortiran dihaluskan menggunakan blender dan kemudian diayak dengan ayakan 60 *mesh* untuk mendapatkan ukuran simplisia yang diinginkan yaitu simplisia dengan ukuran kurang dari 0,250 mm.

3.4.2 Uji Kadar Air

Berdasarkan Sudarmadji (2003) Uji kadar air dilakukan pada daun dan pada simplisia. Pengukuran kadar air dilakukan dengan pemanasan menggunakan oven pada suhu 110 °C hingga beratnya konstan. Perhitungan untuk kadar air dapat dilihat dari persamaan di bawah ini:

$$\text{Kadar air} = \frac{\text{massa awal} - \text{massa akhir}}{\text{massa awal}} \times 100\% \quad (\text{Persamaan 3.1})$$

3.4.3 Uji Fitokimia

Uji fitokimia Harbone (1996) analisis fitokimia dilakukan untuk mengetahui keberadaan senyawa bioaktif secara kualitatif yang berada pada daun sintok. Analisis fitokimia ditunjukkan untuk mengetahui ada tidaknya senyawa bioaktif seperti flavonoid, alkaloid, terpenoid, steroid dan tanin.

a. Uji Flavonoid

Sejumlah sampel ditambah 1 mL NaOH. Hasil uji dinyatakan positif apabila terbentuk warna kuning. Warna kuning akan hilang apabila dilakukan penamabahan HCl (Tiwari *et al.*, 2011).

b. Uji Alkaloid

Sejumlah sampel ditambahkan beberapa tetes HCl dikocok dan didiamkan sebentar kemudian difiltrasi. Filtrat diuji dengan pereaksi Dregendroff. Hasil uji dinyatakan positif apabila menghasilkan endapan coklat apabila ditetesi dengan reagen Dragendroff (Tiwari *et al.*, 2011).

c. Uji Terpenoid dan Steroid

Sampel sebanyak 2 mL diuapkan dalam cawan porselen. Residu dimasukkan dalam tabung reaksi dan dilarutkan dengan 0,5 mL kloroform, lalu ditambahkan 0,5 mL asam asetat anhidrat. Asam sulfat pekat sebanyak 2 mL ditambahkan lewat dinding tabung untuk pembentukan lapisan warna biru hingga hijau sebagai penunjuk bahwa sampel positif memiliki steroid, serta warna merah hingga coklat penunjuk positif terhadap terpenoid (Tiwari *et al.*, 2011).

d. Uji Tanin

Sampel sebanyak 0,5 gram dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan 10 mL aquades mendidih ditambahkan ke dalamnya. Selanjutnya dilakukan filtrasi, filtrat sebanyak 2 mL ditambahkan beberapa tetes larutan FeCl_3 0,1%, hasil positif tanin ditunjukkan terbentuknya warna hijau kecoklatan atau biru kehitaman (Ayoola *et al.*, 2008).

3.4.4 Ekstraksi Senyawa Metabolit Sekunder dari Simplisia

Ekstraksi senyawa metabolit sekunder dilakukan dengan cara maserasi. Maserasi merupakan ekstraksi dengan cara perendaman. Pada ekstraksi ini peneliti menggunakan metode maserasi bertingkat dengan tingkat kepolaran pelarut yaitu heksana, etil asetat dan metanol. Maserasi dilakukan dengan cara simplisia sebanyak ± 50 g dimasukkan ke dalam Erlenmeyer 500 mL. Pelarut heksana sebanyak 250 mL ditambahkan pada Erlenmeyer yang berisi simplisia tersebut dan *dishaker* selama 3 hari pada suhu ruang dengan kecepatan 150 *rotation per minutes* (rpm). Hasil rendaman difiltrasi dengan corong vakum untuk memperoleh filtrat dan residu. Residu diekstrak kembali dengan heksana dan

dipisahkan residu dengan filtrat. Aktivitas ini diulang sebanyak ± 9 kali. Filtrate dari heksana dicampur dan dilakukan evaporasi dengan evaporator vakum pada suhu $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ untuk menghasilkan ekstrak (HS). Residu sisa heksana diuapkan untuk menghilangkan larutan heksana, selanjutnya dilakukan ekstraksi serupa dengan pelarut yang berbeda yaitu etil asetat dan metanol.

3.4.5 Pembuatan Larutan *Stock*

Ekstrak kental HS, ES dan MS diambil $\pm 20,00$ mg dan dimasukkan ke dalam vial. Ekstrak HS, ES dan MS yang telah ditimbang, ditambah 10 mL methanol. Larutan *stock* dikocok hingga homogen. Larutan *stock* digunakan sebagai pengujian.

3.4.6 Analisa Total Fenolik

Analisa total fenolik mengikuti metode Taga *et al.* (1984) dengan menggunakan standar dari asam galat. Ekstrak HS, ES dan MS sebanyak 50 μL dimasukkan dalam tabung reaksi yang berbeda. Setiap tabung reaksi ditambahkan 1 mL Na_2CO_3 2% (w/v) lalu diinkubasi selama 2 menit. Setelah diinkubasi ditambahkan 50 μL reagen Folin-Ciocalteu 50% (v/v) dan diinkubasi kembali selama 30 menit. Larutan diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 750 nm. Total fenolik dari ekstrak-ekstrak tersebut ditentukan dalam mg asam galat *equivalent* (AGE) per gram dengan menggunakan hasil persamaan dari kurva standar asam galat.

3.4.7 Analisa Total Flavonoid

Analisa total flavonoid mengikuti metode Chang *et al.* (2002) dengan menggunakan standar dari kuersetin. Ekstrak HS, ES dan MS sebanyak 150 μL dimasukkan dalam tabung reaksi yang berbeda. Setiap tabung reaksi ditambahkan 400 μL akuades dan 30 μL NaNO_2 5% (w/v) lalu diinkubasi selama 5 menit. Setelah diinkubasi ditambahkan 3 μL AlCl_3 10% (v/v) dan diinkubasi kembali selama 6 menit. Setelah diinkubasi ditambahkan kembali 200 μL NaOH 1 M dan

240 μL akuades. Larutan diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 415 nm. Total flavonoid dari ekstrak-ekstrak tersebut ditentukan dalam mg kuersetin *equivalent* (KE) per gram dengan menggunakan hasil persamaan dari kurva standar kuersetin.

3.4.8 Uji Antioksidan (Perendaman Radikal DPPH)

Analisis peredaman radikal DPPH mengacu pada metode yang dikemukakan Soler-Rivas *et al.* (2000). Sebanyak 200 μL ekstrak dengan 5 konsentrasi yang berbeda ($\mu\text{g AGE/mL}$) dimasukkan ke dalam 96-well plates. Setelah itu, ditambahkan 100 μL reagen DPPH 90 μM (dalam metanol) dan diinkubasi selama 30 menit. Absorbansi masing-masing larutan diukur dengan *Microplate reader* pada panjang gelombang 515 nm. Vitamin C digunakan sebagai pembanding. Persen peredaman radikal DPPH pada masing-masing konsentrasi ekstrak dihitung menggunakan persamaan berikut:

$$\text{Persen peredaman (\%)} = \frac{(A_0 - A_1)}{A_0} \times 100\% \quad (\text{Persamaan 3.2})$$

Keterangan:

A_0 = Absorbansi kontrol

A_1 = Absorbansi ekstrak

Kontrol adalah larutan uji tanpa sampel. Hasil perhitungan persen peredaman pada tiap-tiap konsentrasi digunakan untuk membuat kurva linier dengan memplotkan persen peredaman dan log konsentrasinya. Persamaan linier yang dihasilkan adalah $y = mx + c$ dan persamaan tersebut digunakan untuk menghitung nilai IC_{50} masing-masing ekstrak dengan persamaan berikut:

$$\text{IC}_{50} = 10^{\frac{y-c}{m}} \quad (\text{Persamaan 3.3})$$

Nilai IC_{50} menunjukkan konsentrasi ekstrak yang dibutuhkan untuk meredam 50% aktivitas DPPH.

3.4.9 Uji Antihiperlipidemia (Inhibitor Lipase)

Pengujian antihiperlipidemia dengan menggunakan penghambat lipase pankreas yang mengacu pada Nakaku (2002). Tahapan awal dari pengujian ini

yaitu pembuatan substrat. Subtrat yang digunakan adalah p-NPB, p-NPB sebanyak 1,61 mg dimasukan ke dalam tabung reaksi dan ditambah triton X-100 4% (w/v) sebanyak 1,0 mL. Setelah itu dipanaskan pada suhu 55-60 °C hingga larut. Selanjutnya ditambah 0,1 mL buffer asetat 1 M (pH 5,61) dan diinkubasi pada suhu ruang selama 5 menit lalu ditambah dengan akuades sebanyak 0,8 mL.

Subtrat yang telah terbentuk diambil sebanyak 300,0 µL dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 5 menit. Sampel (20 µg AGE), blanko (buffer asetat) dan orlistat (kontrol positif) ditambahkan ke dalam substrat sebanyak 50 µL. Selanjutnya 80,0 µL lipase ditambahkan dan diinkubasi kembali pada suhu 37 °C selama 15 menit. Dilakukan penambahan aseton sebanyak 670,0 µL untuk menghentikan reaksi yang terjadi. Absorbansinya diukur pada panjang gelombang 412 nm sebagai A_S dan A_0 . Karena pengaruh warna ekstrak daun, maka dilakukan kontrol warna dengan cara menggantikan enzim dengan buffer asetat dan diberi notasi sebagai absorbansi B_0 . Pengujian ini dilakukan replikasi sebanyak 3 kali.

Presentase penghambatan lipase pankreas dihitung dengan persamaan berikut:

$$A = A_S - B_0 \quad (\text{Persamaan 3.4})$$

$$\% \text{Penghambatan} = \frac{A_0 - A}{A_0} \times 100\% \quad (\text{Persamaan 3.5})$$

Keterangan:

A = Absorbansi sample bersih

A_S = Absorbansi sample dengan enzim

B_0 = Absorbansi sample tanpa enzim

A_0 = Absorbansi blanko

BAB 5. PENUTUP

5.1 Kesimpulan

1. Senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak HS adalah steroid, pada ekstrak ES adalah flavonoid dan steroid sedangkan pada ekstrak MS memiliki kandungan flavonoid, alkaloid, steroid, terpenoid, dan tanin.
2. Ekstrak MS berpotensi sebagai antioksidan dibandingkan vitamin C sebagai standar sedangkan HS dan ES tidak berpotensi. Ekstrak Sintok berpotensi sebagai antihiperlipidemia dibandingkan orlistat sebagai standar. Ekstrak ES paling berpotensi sebagai antihiperlipidemia karena memiliki nilai persen penghambatan lipase yang paling tinggi.

5.2 Saran

1. Ekstrak MS dalam meredam radikal DPPH tertinggi sehingga diperlukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui senyawa aktif yang berperan.
2. Ekstrak ES dalam menghambat lipase sangat baik sehingga diperlukan isolasi senyawa untuk mengetahui senyawa aktif yang berperan.

DAFTAR PUSTAKA

- Alfira, A. 2014. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak dan Fraksi Aktif Kulit Batang Sintok. *Skripsi*. Jakarta: UIN Syarif Hidayatullah.
- Anonim. 2009. Steroid Numbering.png. <http://id.wikipedia.org>. [Diakses pada 20 April 2016].
- Aschenbrenner, D. S. dan Samantha, J. V. 2009. *Drug Therapy in Nursing Third Edition*. China: Wolters Kluwer Health.
- Ayoola, G. A., Coker, H. A. B., Adesegun, S. A., Adepoju-Bello, A. A., Obaweya, K., Ezennia, E. C., dan Atangbayila, TO. 2008. Phytochemical Screening and Antioxidant Activities of Some Selected Medicinal Plants Used for Malaria Therapy in Southwestern Nigeria. *Trop J Pharm Res*. 7(3): 1019-1024.
- Biesaga, M. dan Pyrzynska, K. 2013. Stability of bioactive polyphenols from honey during different extraction method. *Food Chem*. Vol. 136: 46-54.
- Chang, W. C., Kim, S. C., Hwang, S. S., Choi., B. K., Ahn, H. J., Lee, M. Y., Park, S. H., dan Kim., S. K. 2002. Antioxidant activity and free radical scavenging capacity between Korean medicinal Plants and flavonoids by assay-guided comparison. *Plant Sci*. 163: 1161-1168.
- Gyuton, A. C., dan Hall, J. E. 2007. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran Edisi 11*. Jakarta: EGC.
- Halliwel, B., Gutteridge, J. M. C., dan Arouma, O. I. 1987. The Deoxyribose Method: A Simple Test Tube Assay for The Determination of Rate Constants for Reactions of Hydroxyl Radical. *Anal Biochem*. 165: 215-219
- Harbone, J. B. 1987. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Bandung: ITB.
- Harbone, J. B. 1996. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan Cetakan Kedua*. Bandung: ITB.
- Harvey, D. 2000. *Modern Analytic Chemistry*. New York: McGraw-Hill.
- Haslam, E. 1974. Polyphenol-protein interactions. *Biochemical Journal*.139: 285-288.

- Idris, N. S. 1990. *Penelitian Pendahuluan Pengaruh Pemberian Rebusan Daun Seledri (Apium graveolus L) terhadap Kadar Kolesterol Tikus Putih*. Jakarta: Universitas Nasional
- Ikan, R. 1991. *Natural Products A Laboratory Guide*. Second Edition. San Diego: Academic Press Inc.
- Jin, L., Zhang, Y., Yan, L., Guo, Y., dan Niu, L. 2012. Phenolic Compounds and Antioxidant Activity of Bulb Extracts of Six Liliun Species Native to China. *Molecule*. 17: 9361-9378.
- Kadam, D. D., Mane, P. C., dan Chaundhari, R. D. 2013. Phytochemical Screening and Pharmacological Applications of Some Selected Indian Species. *International Journal of Science and Research*. 4 (3): 704-706.
- Kuchel, P., dan Gregory, B. R. 2006. *Biokimia Schaum's Easy Outlines*. Alih bahasa oleh Eva Laelasari. 2006. Jakarta: Erlangga.
- Lajuck, P. 2012. Ekstrak Daun Salam (Eugenia Poliantha) Lebih Efektif Menurunkan Kadar Kolesterol Total dan LDL Dibandingkan Statin Pada Penderita Dislipidemia. *Tesis*. Denpasar: Universitas Udayana.
- Lenny, S. 2006. Senyawa Terpenoida dan Steroid. Makalah. Medan: Universitas Sumatera Utara.
- LIPI. 2009. *Kolesterol Tinggi*. Bandung: LIPI.
- Marinova, D., Ribarova, F., dan Atanassova, M. 2005. Total Phenolic And Total Flavonoids in Bulgarian Fruits and Vegetables. *Journal of The University of Chemical Technology and Metallurgy*. 40(3): 255-260.
- McDaugall, G. J., Kulkarni, N. N., dan Stewart, D. 2008. Berry polyphenols inhibit pancreatic lipase activity *in vitro*. *Food Chemistry*. 155: 193-199.
- Merken, H. M. dan Beecher, G. R. 2000. Measurement of Food Flavonoids by High-Performance Liquid Chromatography. *J Agric Food Chem*. 48(3): 577-599.
- Molyneux, P. 2004. The use of the stable free radical diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin J. Sci. Technol*. 26: 211-219.
- Muchtadi, D. 2013. *Antioksidan dan Kiat Sehat di Usia Produktif*. Bandung: Alfabeta.

- Murray, R. K., Granner, D. K., Mayes, P. A., dan Rodwell, V. W. 2001. *Biokimia Harper*. Edisi 24. Jakarta: EGC.
- Nakaku, N. 2002. *Amano Enzyme for Diagnostic*. Japan: Amano Enzyme Inc.
- Ncube N. S., Afolayan A. J., dan Okoh A. I. 2008. Assessment techniques of antimicrobial properties of natural compounds of plant origin: current methods and future trends. *African Journal of Biotechnology*. 7 (12): 1797-1806.
- Nelson, D. L. dan Cox, M. M. 2008. *Lehninger: Principles of Biochemistry*. Fifth Edition. New York: W.H. Freeman and Company.
- Nigam, A. dan Archana, A. 2008. *Lab Manual in Biochemistry, Immunology and Biotechnology*. New Delhi: Tata McGraww-Hill Publishing.
- Plantamor. 2012. Sintok (Cinnamomum sintoc Bl). <http://www.plantamor.com/index.php?plant=335>. [15 April 2016].
- Pliego, J., Mateos, J. C., Rodriguez, J., Valero, F., Baeza, M., Femat, R., Camacho, R., Sandoval, G., dan Herrera-Lopez, E. J. 2015. Monitoring Lipase/Esterase Activity by Stopped Flow in a Sequential Injection Analysis System Using *p*-Nitrophenyl Butyrate. *Sensors*. 15: 2798-2811.
- Pradono, D. I., Latifah K. D., dan Ai, S. 2011. Penghambatan Lipase Pankreas secara In vitro oleh Ekstrak Air dan Etanol Daun Asam Jawa (*Tamarindus Indica*) dan Rimpang Kunci Pepet (*Kaempferia rotunda*). *Jurnal Natur Indonesia*. 13(2): 146-154.
- Prakash, A., Rigelhof, F., dan Miller, E. 2001. Antioxidant Activity. *Medalion Labs*.
- Rayner, C. M dan Raynel, G. R. J. F. 2011. Process for the capture of carbon dioxide. <http://www.google.com/patents/WO2011135378A1?cl=en>. [Diakses pada 15 April 2016].
- Reynetson, K. A. 2007. Phytochemical Analysis of Bioactive Constituents from Edible Myrtaceae Fruit. *Dissertation*. New York: The City University of New York.
- Samsudin, H. 2008. *Pengendalian Hama Dengan Insektisida Botani*. <http://www.pertaniansehat.or.id/index.php?pilih=news&mod=yes&aksi=lihat&id=20>. [Diakses pada 15 April 2016].
- Setyowati, W. A. K., Ariani, S. R. D., Ashadi., Mulyani, B., dan Rahawati, C. P. 2014. Skrining Fitokimia dan Identifikasi Komponen Utama Kulit Durian


- (*Durio zibethinus* Murr.) Varietas Petruk. *Seminar Nasional Kimia dan Pendidikan Kimia VI*. 21 Juni. 2014. *Universitas Negeri Surakarta*: 271-280.
- Shin, J. E., Han M. J., dan Kim D. H. 2003. 3-methylethergalangin Isolated from *Alpinia Officinarum* Inhibits Pancreatic Lipase. *J Biol Pharma*. 26(6): 854-857.
- Soler-Rivas, C., Espín, J. C., dan Wichers, H. J. 2000. An easy and fast test to compare total free radical scavenger capacity of food stuffs. *Phytochem. Anal.* 11: 330-338.
- Sudarmadji, Slamet. 2003. *Analisa Bahan Makanan dan Pertanian* (Edisi ke 2 ed., Vol. III). Yogyakarta, DIY, Indonesia: Liberty Yogyakarta.
- Svehla, G. 1990. *Analisis Anorganik Kualitatif Makro dan Semimakro*. Edisi II. Jakarta: Kalman Media Pustaka.
- Taga, M. S., Miller, E. E., dan Prat, D. E. 1984. Chia seeds as a source of nature lipid antioxidants. *J. Am. Oil. Chem. Soc.* 61: 928-931.
- Tarigan, K. B. 2014. Isolasi Minyak Atsiri dari Simplisia Kulit Kayu Sintok (*Cinnamomum Sintoc Blume*) dengan Metode Destilasi Uap dan Air serta Analisis Komponennya Menggunakan GC MS. *Skripsi*. Sumatera Utara: Universitas Sumatera Utara.
- Tiwari, P., Kumar, B., Kaur, M., Kaur G., dan Kaur, H. 2011. Phytochemical Screening and Extraction: A Review. *International Pharmaceutica Scientia*. 1(1): 98-106.
- Vangalapati, M., N, S. S., DV, S. P., dan AvaniGadda, S. 2012. A Review on Pharmacological Activities and Clinical Effects of Cinnamon Species. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*. 3(1): 653-663.
- Vermerris, W., dan Nicholson, R. 2006. Phenolic compound biochemistry. <http://www.springer.com/us/book/9781402051630>. [Diakses pada 20 April 2016].
- Wade, L. G. 2006. *Organic Chemistry*. Sixth Edition. United States of America: Pearson Prentice Hall.
- Wahyudi, L. P. 2012. Potensi Ekstrak Fenolik Tanaman Obat Taman Nasional Meru Betiri: Bidara Upas (*Merremia mammosa*) dan Kayu Kuning (*Arcangelisia flava*) sebagai Antidiabetik dan Antioksidan. *Skripsi*. Jember: Universitas Jember.

- Wili, P. 2010. Terpenoid I (Pendahuluan dan Sintesis). <http://www.ipb.ac.id/>. [Diakses pada 21 April 2016].
- Winarsi, H. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Yogyakarta: Kanisius.
- Wink. 1999. *Metabolit Sekunder Manfaat dan Perkembangannya dalam Dunia Farmasi*. <http://lib.ugm.ac.id/>. [Diakses pada 20 April 2016].
- Zhu, H., Wang, Y. Z., Liu, Y. X. dan 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: 90-97.



LAMPIRAN

LAMPIRAN 4.1 Validasi Tanaman Sintok



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. /BTNMB-1/2017

-----Pada hari ini Kamis, tanggal Dua bulan Maret tahun Dua ribu Tujuh Belas, berdasarkan SIMAKSI Nomor : SL2996/BTNMB/TU/PPI/2/2017 tanggal 28 Februari 2017 dan Surat Mahasiswa Peneliti Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember Nomor : 596/UN25.1.9./PI/2017 tanggal 21 Februari 2017 yang bertanda tangan di bawah ini -----

1. Nama/NIP : Nur Rohmah Syarif S.Si. MP. / 197209051999032001-----
 Pangkat / Gol. : Penata Tk. I / (III/d) -----
 Jabatan : PEH Muda -----


2. Nama/NIP : Iva Tri Lindasari / 198310222002122002 -----
 Pangkat / Gol. : Pengatur Tk. I / (II/d) -----
 Jabatan : PEH Pelaksana Lanjutan -----

Dengan ini telah melakukan pemeriksaan sampel tumbuhan untuk keperluan penelitian oleh Mahasiswa Peneliti Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember, dengan hasil sebagai berikut :


No.	Nama / Jenis	Jumlah (sampel)	Keterangan
1.	Sampel Tumbuhan Sintok (<i>Cinnamomum sintoc</i>)	1 kg	-
2.	Sampel Tumbuhan Garu (<i>Antidesma montanum</i>)	1 kg	-
3.	Sampel Tumbuhan Kragean (<i>Litsea cubeba</i>)	1 kg	-
4.	Sampel Tumbuhan Bidara upas (<i>Merremia mammosa</i>)	1 kg	-
	Jumlah	4 kg	


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


Jember, 2 Maret 2017


Yang diperiksa,
 Pemohon,

 Ardine Kumalasari

Yang memeriksa,

1. Nur Rohmah Syarif S.Si MP
 NIP. 197209051999032001 ()

2. Iva Tri Lindasari
 NIP. 198310222002122002 ()

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

 Sulistrianto S.Si M.Si
 NIP. 196805101995031002



LAMPIRAN 4.2 Kadar Air Tanaman Sintok

$$\text{Kadar air} = \frac{\text{massa awal} - \text{massa akhir}}{\text{massa awal}} \times 100\%$$

Bahan	Pengulangan	Massa Awal (g)	Massa Akhir (g)	Kadar Air (%)
Daun	x1	3,00	1,38	54,0
	x2	3,00	1,35	55,0
	x3	3,00	1,34	55,3
		\bar{x}		54,7±0,69
Simplisia	x1	4,00	3,56	11,0
	x2	4,00	3,56	11,0
	x3	4,00	3,58	10,5
		\bar{x}		10,8±0,29

LAMPIRAN 4.3 Skreening Fitokimia Daun Sintok

Jenis Senyawa	Hasil Uji		
	HS	ES	MS
Flavonoid	-	+	+
Alkaloid	-	-	+
Steroid	+	+	+
Terpenoid	-	-	+
Tanin	-	-	+

(*) Keterangan: + = ada senyawa

- = tidak ada senyawa

LAMPIRAN 4.4 Rendemen Ekstrak yang Diperoleh

$$\% \text{ Rendemen} = \left(\frac{\text{Berat Ekstrak}}{\text{Berat Simplisia}} \right) \times 100\%$$

Pelarut	Berat simplisia (g)	Berat ekstrak (g)	Rendemen (%)
n-heksana	50,04	1,49	2,98
etil asetat	49,70	1,70	3,42
metanol	47,52	3,38	7,11

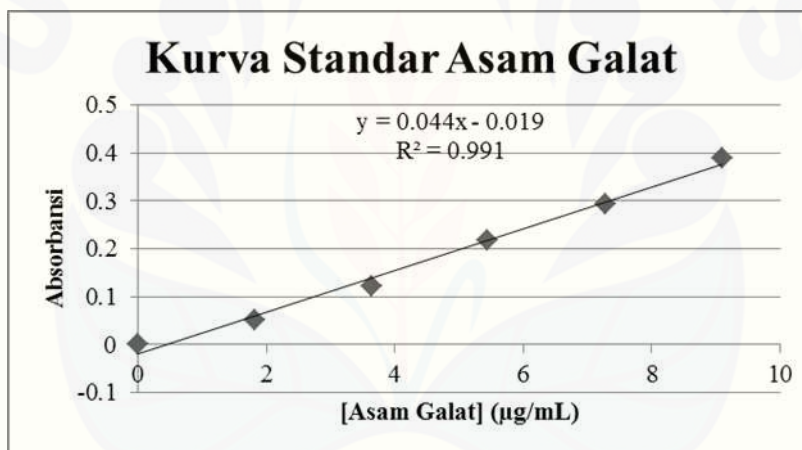
LAMPIRAN 4.5 Konsentrasi Ekstrak untuk Analisa Total Fenolik

$$[\text{Ekstrak}] = \frac{\text{Berat Ekstrak}}{\text{Volume Metanol}}$$

Nama Ekstrak	Berat ekstrak (mg)	Volume metanol (mL)	[Ekstrak] (mg/mL)
HS	22,65	10	2,26
ES	22,14	10	2,21
MS	22,30	10	2,23

LAMPIRAN 4.6 Perhitungan Analisa Total Fenolik

1. Kurva Standar Asam Galat



2. Total Fenolik

$$y = 0,044x - 0,019$$

$$x_1 = \frac{\text{Abs} + 0,019}{0,044} \rightarrow \mu\text{g AGE/mL}$$

$$x_2 = x_1 \times \text{FP} \rightarrow \mu\text{g AGE/mL}$$

$$x_3 = \frac{x_2}{[\text{Ekstrak}]} \rightarrow \text{mg AGE/g}$$

$$[\text{Fenolik}] \rightarrow \text{mg AGE/g}$$

Volume Ekstrak (μL)	Absorbansi	x_1	FP	x_2	x_3	[Fenolik]
HS 50 μL	0.156	4.02	22	88.50	39.161	39.23 \pm 2.79
	0.169	4.32	22	95.06	42.063	
	0.144	3.75	22	82.45	36.48	
ES 20 μL	0.178	4.53	55	249.01	112.67	110.77 \pm 2.37
	0.170	4.34	55	238.92	108.10	
	0.176	4.48	55	246.49	111.53	
MS 20 μL	0.479	11.43	55	628.71	281.93	283.63 \pm 3.96
	0.477	11.38	55	626.19	280.80	
	0.490	11.68	55	642.59	288.15	

Keterangan:

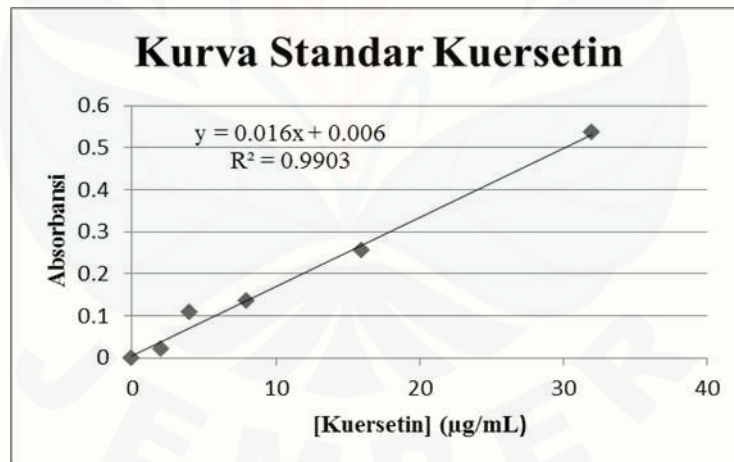
x_1 = konsentrasi larutan uji

x_2 = konsentrasi larutan stock

x_3 = konsentrasi ekstrak

LAMPIRAN 4.7 Perhitungan Analisa Total Flavonoid

1. Kurva Standar Kuersetin



2. Total Flavonoid Ekstrak

$$y = 0,016x + 0,006$$

$$y = 0,016x + 0,006$$

$$x_1 = \frac{\text{Abs.} - 0,006}{0,016} \longrightarrow \mu\text{g KE/mL}$$

$$x_2 = x_1 \times \text{FP} \longrightarrow \mu\text{g KE/mL}$$

$$x_3 = \frac{x_2}{[\text{Ekstrak}]} \longrightarrow \text{mg KE/g}$$

$$[\text{Flavonoid}] \longrightarrow \text{mg KE/g}$$

Volume Ekstrak (μL)	Absorbansi	x1	FP	x2	x3	[Flavonoid]
HS 32 μL	0,306	18,29	32,8	600,2	265,57	258,79 \pm 6,02
	0,296	17,69	32,8	580,2	256,72	
	0,293	17,51	32,8	574,2	254,07	
ES 32 μL	0,407	24,45	32,8	802,2	362,98	363,89 \pm 1,56
	0,410	24,64	32,8	808,2	365,70	
	0,407	24,45	32,8	802,2	362,98	
MS 32 μL	0,237	14,09	32,8	462,2	207,26	208,16 \pm 2,37
	0,236	14,03	32,8	460,2	206,36	
	0,241	14,33	32,8	470,2	210,85	

Keterangan:

x1 = konsentrasi larutan uji

x2 = konsentrasi larutan stock

x3 = konsentrasi ekstrak

LAMPIRAN 4.8 Perhitungan Analisa Peredaman Radikal DPPH

[Fenolik] $\rightarrow \mu\text{g AGE/mL}$

$$\% \text{Peredaman} = \left(\frac{A_0 - A_s}{A_0} \right) \times 100\%$$

A_0 = Absorbansi \rightarrow [Fenolik] = 0

A_s = Absorbansi \rightarrow [Fenolik] > 0

$$\text{IC}_{50} = 10^{\left(\frac{y-c}{m} \right)}$$

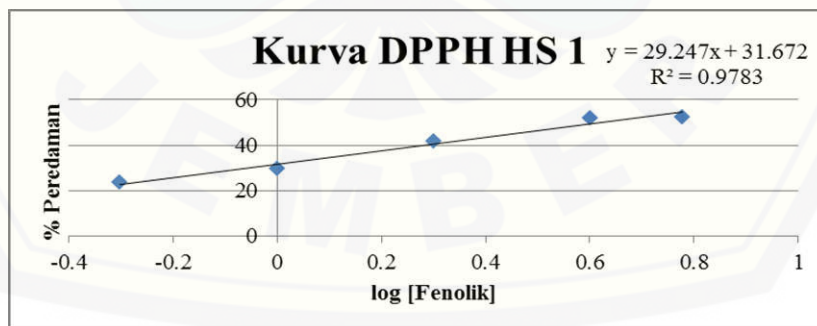
Keterangan:

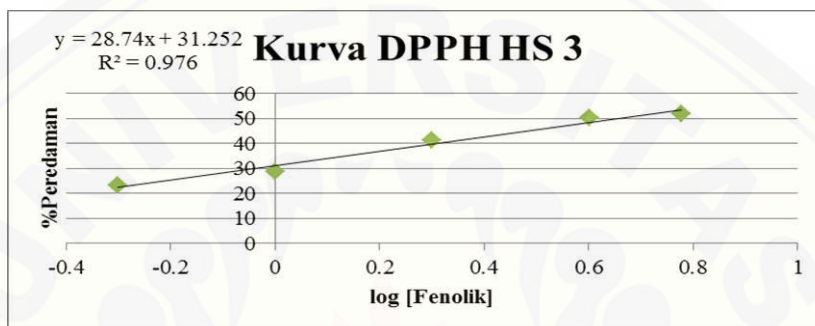
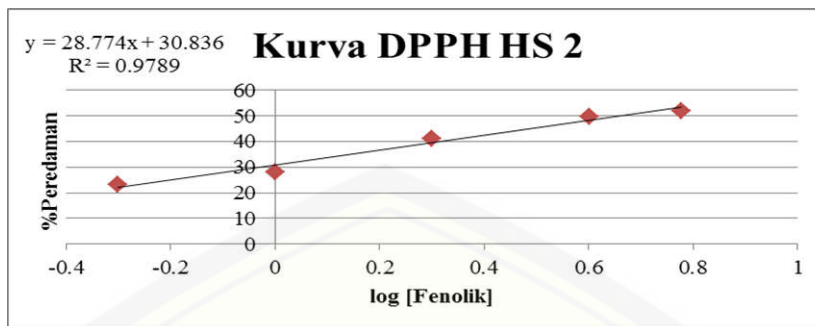
y = %Peredaman (50%)

c = konstanta persamaan

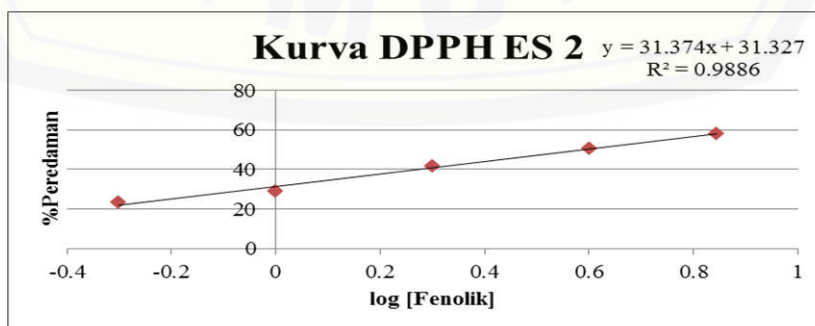
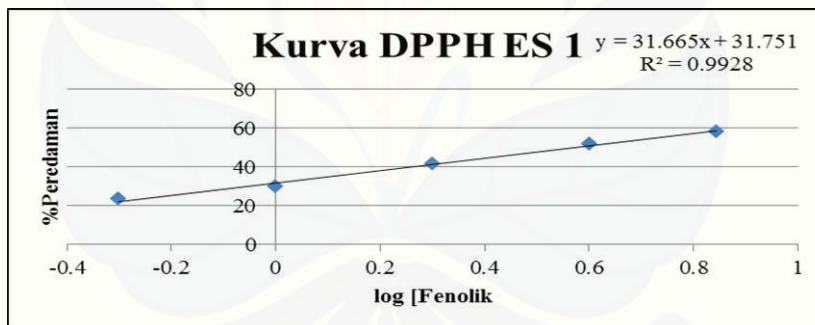
m = gradient persamaan

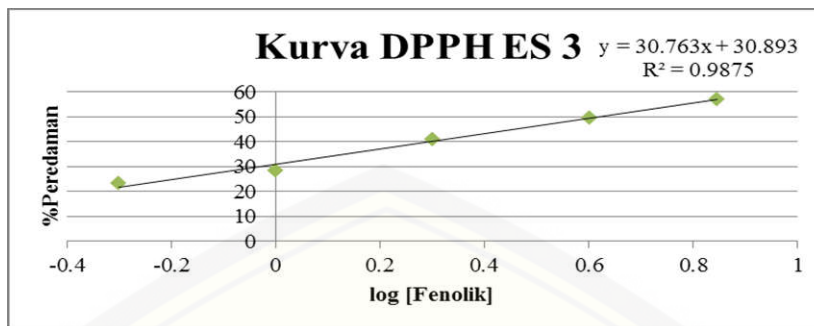
Ekstrak	[Fenolik]	Absorbansi			log [Fenolik]	%Peredaman			Y	IC ₅₀
		1	2	3		1	2	3		
HS	0	0,393	0,393	0,393	0	0	0	0	$y=29.24x+31.67$ $y=28.77x+30.83$ $y=28.74x+31.25$	4,45±0,20
	0,5	0,301	0,302	0,301	-0,30	23,41	23,15	23,41		
	1	0,276	0,282	0,280	0	29,77	28,24	28,75		
	2	0,230	0,232	0,230	0,30	41,47	40,96	41,47		
	4	0,190	0,198	0,195	0,60	51,65	49,62	50,38		
	6	0,187	0,189	0,189	0,78	52,41	51,91	51,91		
ES	0	0,393	0,393	0,393	0	0	0	0	$y=31.66x+31.75$ $y=31.37x+31.32$ $y=30.76x+30.89$	3,96±0,20
	0,5	0,301	0,301	0,302	-0,30	23,41	23,41	23,15		
	1	0,276	0,280	0,282	0	29,77	28,75	28,24		
	2	0,230	0,230	0,232	0,30	41,47	41,47	40,96		
	4	0,19	0,195	0,198	0,60	51,65	50,38	49,62		
	7	0,164	0,165	0,169	0,84	58,27	58,01	56,99		
MS	0	0,393	0,393	0,393	0	0	0	0	$y=37.98x+43.66$ $y=40.71x+41.94$ $y=41.83x+40.91$	1,56±0,09
	0,5	0,264	0,278	0,286	-0,30	32,82	29,26	27,22		
	1	0,232	0,234	0,234	0	40,96	40,46	40,46		
	2	0,168	0,170	0,173	0,30	57,25	56,74	55,98		
	4	0,122	0,123	0,125	0,60	68,95	68,70	68,19		
	6	0,115	0,115	0,116	0,78	70,74	70,74	70,48		
Viamin C	0	0,393	0,393	0,393	0	0	0	0	$y=58.89x+23.76$ $y=57.34x+22.74$ $y=57.09x+21.33$	2,98±0,19
	0,5	0,369	0,370	0,375	-0,30	6,11	5,85	4,58		
	1	0,311	0,312	0,315	0	20,86	20,61	19,85		
	2	0,22	0,229	0,237	0,30	44,02	41,73	39,69		
	4	0,144	0,161	0,172	0,60	63,36	59,03	56,23		
	7	0,119	0,120	0,122	0,84	69,72	69,46	68,95		



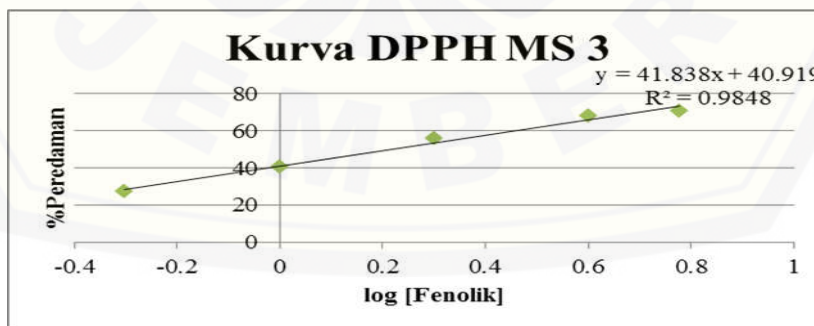
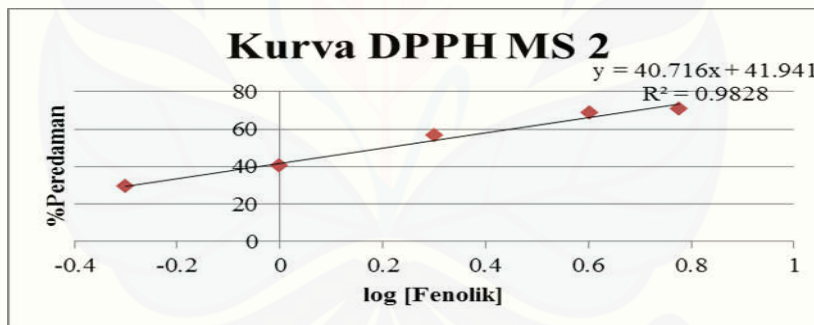
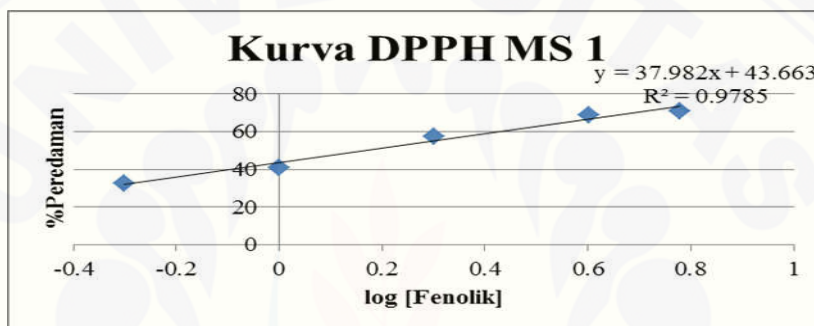


Kurva peredaman DPPH ekstrak HS

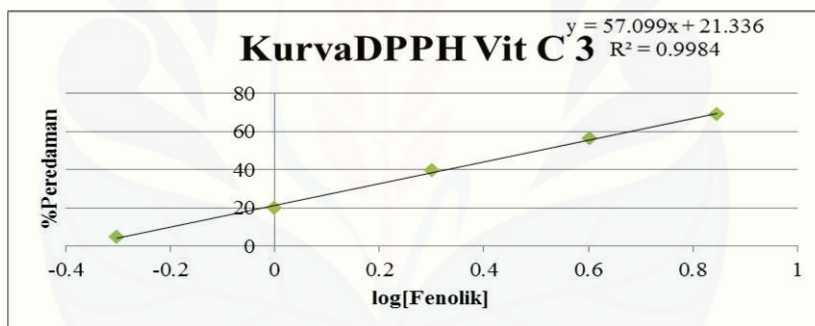
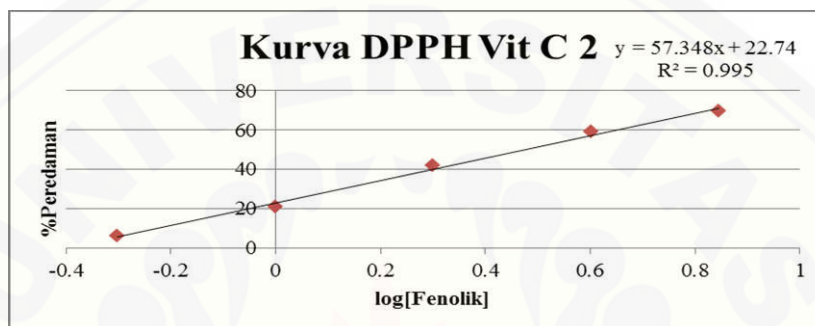
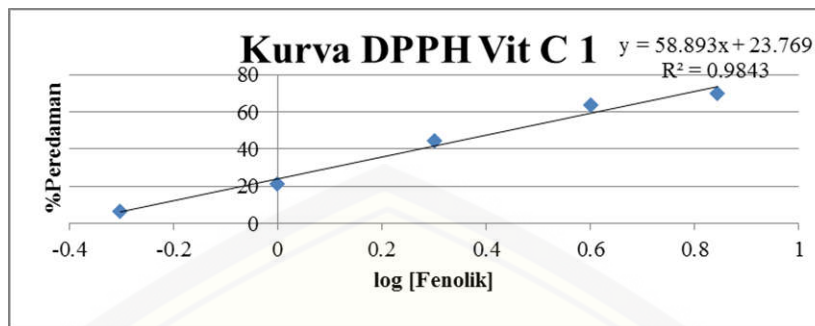




Kurva peredaman DPPH ekstrak ES



Kurva peredaman DPPH ekstrak MS



Kurva peredaman DPPH Vitamin C

LAMPIRAN 4.9 Perhitungan %Penghambatan Lipase

[Fenolik] → 20 μg AGE

$$\%Peredaman = \left(\frac{A_0 - A_s}{A_0} \right) \times 100\%$$

A_0 = Absorbansi → [Fenolik] = 0

A_s = Absorbansi → [Fenolik]

B_0 = Absorbansi → [Fenolik] = A_s tanpa substrat

$$A = A_s - B_0$$

	A_0	A_s	B_0	A	%Penghambatan	
HS	0.206	0.353	0.221	0.132	35.92	33.50±8.75
	0.206	0.378	0.221	0.157	23.79	
	0.206	0.343	0.221	0.122	40.78	
ES	0.206	0.243	0.153	0.090	56.31	55.18±1.56
	0.206	0.244	0.153	0.091	55.83	
	0.206	0.249	0.153	0.096	53.40	
MS	0.206	0.204	0.054	0.150	27.18	24.60±2.29
	0.206	0.213	0.054	0.159	22.82	
	0.206	0.211	0.054	0.157	23.79	
orlistat	0.206	0.176	0	0.176	14.56	17.15±2.44
	0.206	0.166	0	0.166	19.42	
	0.206	0.17	0	0.17	17.48	