



UJI AKTIVITAS EKSTRAK DAUN JAMBON
[*Syzygium microcymum* (Koord. & Valetton) Amshoff]
SEBAGAI ANTIDIABETIK DAN ANTIOKSIDAN

SKRIPSI

Oleh :

Yeni Kartikasari

161810301038

JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS JEMBER

2020



**UJI AKTIVITAS EKSTRAK DAUN JAMBON
[*Syzygium microcymum* (Koord. & Valetton) Amshoff]
SEBAGAI ANTIDIABETIK DAN ANTIOKSIDAN**

SKRIPSI

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

Oleh :

Yeni Kartikasari

161810301038

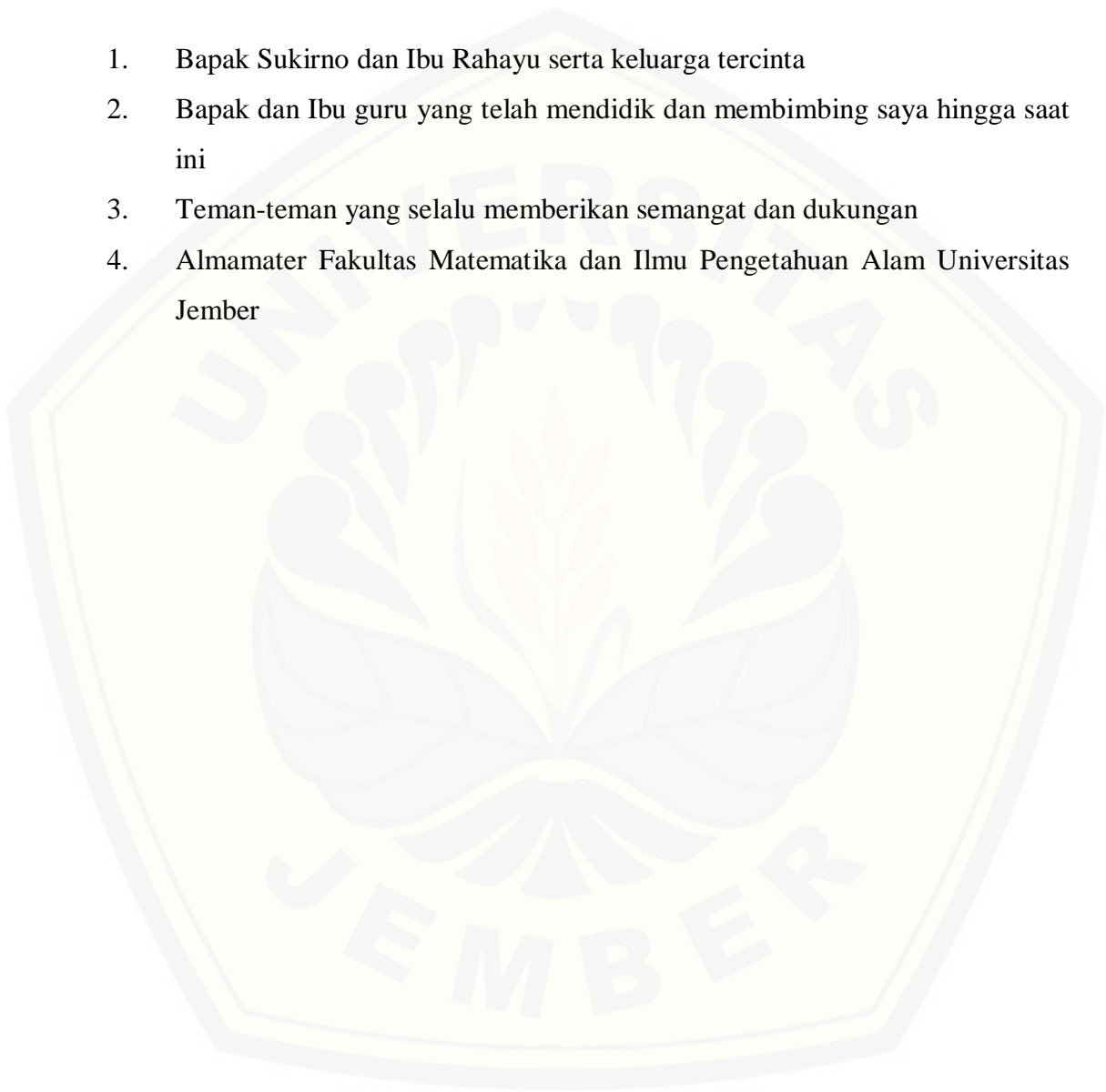
**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS JEMBER**

2020

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Bapak Sukirno dan Ibu Rahayu serta keluarga tercinta
2. Bapak dan Ibu guru yang telah mendidik dan membimbing saya hingga saat ini
3. Teman-teman yang selalu memberikan semangat dan dukungan
4. Almamater Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember



MOTTO

Sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan, maka apabila kamu telah selesai (dari suatu urusan), kerjakanlah dengan sungguh-sungguh (urusan) yang lain, dan hanya kepada Allah lah hendaknya kamu berharap. (terjemahan Surat *Al-Insyira* ayat 6-8)^{*)}

Boleh jadi kamu membenci sesuatu namun ia amat baik bagimu dan boleh jadi engkau mencintai sesuatu namun itu amat buruk bagimu, Allah Maha Mengetahui sedangkan kamu tidak mengetahui. (terjemahan Surat *Al-Baqarah* ayat 216)^{**)}

*) *Q.S. Al-Insyira: 6-8*

***) *Q. S. Al-Baqarah: 216*

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Yeni Kartikasari

NIM : 161810301038

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Uji Aktivitas Ekstrak Daun Jambon [*Syzygium microcymum* (Koord. & Valetton) Amshoff] Sebagai Antidiabetik dan Antioksidan” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi manapun, dan 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, 27 Agustus 2020

Yang menyatakan,



Yeni Kartikasari

NIM. 161810301038

SKRIPSI

**UJI AKTIVITAS EKSTRAK DAUN JAMBON
[*Syzygium microcymum* (Koord. & Valetton) Amshoff]
SEBAGAI ANTIDIABETIK DAN ANTIOKSIDAN**

Oleh
Yeni Kartikasarii
NIM 161810301038

Pembimbing

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

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

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Uji Aktivitas Ekstrak Daun Jambon [*Syzygium microcymum* (Koord. & Valetton) Amshoff] Sebagai Antidiabetik dan Antioksidan” telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember pada:

hari, tanggal :

tempat : Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Tim Penguji:

Ketua (DPU),

Sekretaris (DPA),

Dr. A. A. I. Ratnadewi, S.Si., M.Si
NIP. 197012251997022001

Ari Satia N, S.F., GdipSc., MSc-res., PhD., Apt
NIP. 197807212003121001

Penguji I,

Penguji II,

Ika Oktavianawati S.Si, M.Sc
NIP. 198010012003122001

I Nyoman Adi Winata, S.Si. M. Si
NIP. 197105011998021002

Mengesahkan,
Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Jember

Drs. Achmad Sjaifullah, M.Sc., Ph.D.
NIP. 195910091986021001

RINGKASAN

Uji Aktivitas Ekstrak Daun Jambon [*Syzygium microcymum* (Koord. & Valetton) Amshoff] Sebagai Antidiabetik dan Antioksidan; Yeni Kartikasari, 161810301038; 2020: 108 halaman; Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

Pola hidup tidak sehat dapat menimbulkan berbagai macam penyakit, salah satunya diabetes. Kondisi diabetes terjadi ketika kadar glukosa dalam darah berada di atas angka normal. Pengobatan terhadap diabetes sangat beragam, diantaranya adalah pemberian insulin, menggunakan inhibitor DPP-IV, dan menggunakan obat sintetik. Namun metode tersebut diketahui menimbulkan efek samping. Jalur pengobatan lain yang dapat dilakukan adalah dengan menghambat enzim kerja α -amilase. Inhibitor sintesis, seperti akarbosa terbukti dapat menurunkan kadar gula dalam darah. Namun akarbosa juga dapat menimbulkan efek samping seperti diare, kembung, nyeri, bahkan hepatitis. Kondisi ini menyebabkan penelitian mengenai inhibitor α -amilase alami sangat menarik untuk dilakukan.

Daun Jambon atau [*Syzygium microcymum* (Koord. & Valetton) Amshoff] diketahui merupakan salah satu tanaman yang memiliki potensi sebagai antidiabetik menurut Inventaris Tanaman Obat Indonesia. Simplisia daun tanaman ini akan diekstrak menggunakan metode maserasi dalam pelarut metanol. Crude ekstrak tersebut selanjutnya dilarutkan dalam metanol 10% dan difraksinasi melalui metode ekstraksi cair-cair dengan pelarut heksana, diklorometana, dan etil asetat. Tiap ekstrak dan fraksi diuji terhadap aktivitas antidiabetik. Aktivitas antidiabetik diketahui melalui aktivitas ekstrak sebagai inhibitor enzim α -amilase dan dinyatakan dalam persen peredaman. Sampel dengan aktivitas antidiabetik terbaik akan digunakan untuk mengetahui jenis inhibisi yang dilakukan melalui pengukuran kinetika reaksi. Uji kinetika reaksi dilakukan dengan melibatkan kurva Michaelis-Menten, dan jenis inhibisi diketahui melalui nilai V_{max} dan K_M yang dihasilkan.

Ekstrak juga akan diuji aktivitasnya sebagai antioksidan. Uji antioksidan dilakukan mengingat penderita diabetes sangat rentan mengalami komplikasi akibat adanya radikal bebas hasil reaksi autooksidasi glukosa. Sedangkan untuk aktivitas antioksidan, ekstrak akan diuji terhadap radikal DPPH, superoksida, dan hidroksil. Uji DPPH dilakukan untuk mengetahui potensi antioksidan secara umum, sedangkan superoksida dan hidroksil merupakan radikal yang dihasilkan dari autooksidasi glukosa. Aktivitas antioksidan terhadap DPPH akan diketahui melalui nilai IC_{50} , sedangkan superoksida dan hidroksil melalui persen peredaman.

Hasil uji ekstrak terhadap inhibisi α -amilase menunjukkan bahwa ekstrak metanol (EM) menunjukkan aktivitas terbaik dengan nilai persen peredaman sebesar $93,350 \pm 1,931\%$. Hasil tersebut merupakan nilai tertinggi jika dibandingkan dengan fraksi heksana (EH) $24,615 \pm 0,381\%$, fraksi diklorometana (ED) $17,875 \pm 0,671\%$, fraksi etil asetat (EE) $6,309 \pm 0,295\%$, fraksi metanol berair $85,563 \pm 2,959$. Hasil ini menunjukkan bahwa EM berpotensi sebagai antidiabetik karena memiliki persen peredaman yang tidak jauh dari standar akarbosa yang digunakan. Persen inhibisi yang dihasilkan akarbosa sebesar $94,365 \pm 0,700\%$. Hasil uji kinetika reaksi menunjukkan bahwa EM memiliki jenis inhibisi non-kompetitif. Hal ini diketahui dari gradien dan intersept yang mengalami peningkatan ketika ditambah inhibitor. Selain itu garis linier kontrol dan sampel bertemu di sumbu x. Inhibisi non-kompetitif juga didukung dari nilai V_{max} dan K_M yang dihasilkan. Tipe inhibisi tersebut menyebabkan terjadinya penurunan v_{max} dari $31,270 \pm 0,978$ ppm/menit menjadi $3,639 \pm 0,127$ ppm/menit, sedangkan nilai K_M tidak jauh berbeda, yaitu dari $0,239 \pm 0,012$ g/mL menjadi $0,222 \pm 0,008$ g/mL.

Hasil analisis terhadap aktivitas antioksidan menunjukkan bahwa ekstrak EM menunjukkan aktivitas terbaik terhadap DPPH dan superoksida. Aktivitas EM terhadap DPPH menghasilkan nilai IC_{50} sebesar $12,280 \pm 0,283$ μ g/mL dimana hasil ini tertinggi jika dibandingkan dengan, EH $242,774 \pm 2,486$ μ g/mL, ED $222,498 \pm 3,261$ μ g/mL, EE $23,125 \pm 1,128$ μ g/mL, dan EA $29,008 \pm 1,236$ μ g/mL. Uji terhadap peredaman superoksida menunjukkan bahwa ekstrak yang aktif hanya EM dan EE, dengan nilai persen peredaman EM sebesar $26,333 \pm 1,084\%$

dan EE sebesar $9,353 \pm 0,261\%$. Sedangkan EH, ED, dan EA tidak menunjukkan adanya aktivitas peredaman superoksida. Sampel juga diuji kemampuan peredamannya terhadap radikal hidroksil. Hasil menunjukkan bahwa EA memiliki aktivitas peredaman sebesar $32,127 \pm 1,483\%$, dan lebih tinggi jika dibandingkan dengan EM sebesar $21,491 \pm 0,685\%$, EH $8,553 \pm 0,329\%$, ED $7,127 \pm 0,190\%$, dan EE $16,009 \pm 1,483\%$. Hasil uji terhadap antioksidan menunjukkan bahwa EM berpotensi sebagai antioksidan terhadap DPPH dan superoksida meskipun tidak sebaik standar vitamin C, dimana uji terhadap vitamin C menghasilkan aktivitas sebesar $4,331 \pm 0,054 \mu\text{g/mL}$ terhadap DPPH, sebesar $79,921 \pm 2,581\%$ terhadap superoksida. EA menjadi fraksi terbaik dalam peredaman radikal hidroksil dengan persen peredaman sebesar $38,048 \pm 0,50\%$.

PRAKATA

Puji syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT., karena atas limpahan rahmat dan karunia-Nya skripsi dengan judul “Uji Aktivitas Ekstrak Daun Jambon [*Syzygium microcymum* (Koord. & Valetton) Amshoff] Sebagai Antidiabetik dan Antioksidan” dapat diselesaikan. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

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

1. Dr. Bambang Piluharto, S.Si., M.Si, selaku ketua Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember;
2. Dr. A. A. I. Ratnadewi, S.Si., M.Si., selaku Dosen Pembimbing Utama, dan Bapak Ari Satia Nugraha S.F., GdipSc., MSc-res., PhD., Apt., selaku Dosen Pembimbing Anggota, yang telah meluangkan waktu, tenaga, pikiran dan perhatian selama membimbing proses penelitian dan penyusunan skripsi ini;
3. Ika Oktavianawati S.Si, M.Sc., selaku Dosen Penguji I dan I Nyoman Adi Winata, S.Si. M. Si., selaku Dosen Penguji II yang telah menguji serta memberikan kritik dan saran demi kesempurnaan skripsi ini;
4. Dr. A. A. I. Ratnadewi, S.Si., M.Si., selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah memberikan bimbingan dan arahan selama penulis menjadi mahasiswa Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.
5. Prof. Tri Agus Siswoyo, SP., M.Agr., Ph.D., yang telah memberikan kritik dan saran, serta bantuan sehingga penelitian ini dapat berjalan lancar;
6. seluruh dosen FMIPA terutama dosen Jurusan Kimia Universitas Jember yang telah membimbing dan memberikan ilmu yang bermanfaat;
7. Kebun Raya Cibodas yang telah membantu dalam penyediaan sampel Daun Jambon [*Syzygium microcymum* (Koord. & Valetton) Amshoff], sehingga penelitian ini dapat terlaksana;

8. teman-teman EXTASY'16 yang selalu memberikan bantuan, dukungan dan semangat;
9. teman-teman di Laboratorium *Center for Development of Advance Science* (CDAST) Universitas Jember yang telah memberikan bantuan, masukan, dan dukungan selama proses penelitian;
10. keluarga Ibu Sulis Styowati dan Maulina Fina Anjalsari yang telah membantu kelancaran selama proses pengambilan sampel;
11. semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu

Penulis menerima semua kritik dan saran demi kesempurnaan skripsi ini. Penulis juga berharap agar skripsi ini dapat memberikan informasi dan bermanfaat baik masa kini maupun di masa yang akan datang.

Jember, 27 Agustus 2020

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSEMBAHAN	ii
HALAMAN MOTTO	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
HALAMAN PEMBIMBING	v
HALAMAN PENGESAHAN	vi
RINGKASAN	vii
PRAKATA	x
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Batasan Masalah	5
1.4 Tujuan	5
1.5 Manfaat	5
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Diabetes	6
2.1.1 Diabetes tipe 1	7
2.1.2 Diabetes tipe 2	7
2.1.3 Diabetes gestasional	7
2.2 Enzim α-Amilase	8
2.3 Kebun Raya Cibodas	9
2.4 Jambon [<i>Syzygium microcymum</i> (K.&V.) Amshoff]	9
2.5 Ekstraksi	14
2.5.1 Maserasi	15

2.5.2	Ekstraksi Cair-Cair	16
2.6	Senyawa Metabolit Sekunder	16
2.6.1	Flavonoid	17
2.6.2	Tanin	18
2.6.3	Alkaloid.....	19
2.6.4	Saponin	19
2.6.5	Glikosida	20
2.7	Inhibitor Enzim α-Amilase	20
2.8	Kinetika Enzim.....	22
2.8.1	Persamaan Michaelis-Menten	22
2.8.2	Kurva Lineweaver-Burk	24
2.8.3	Jenis Inhibisi Enzim.....	24
2.9	Antioksidan	26
2.9.1	Uji Antioksidan dengan DPPH.....	27
2.9.2	Uji Aktivitas Antioksidan dengan Superoksida	27
2.9.3	Uji Aktivitas Antioksidan dengan Hidroksil.....	28
BAB 3.	METODOLOGI PENELITIAN	31
3.1	Waktu dan Tempat.....	31
3.2	Alat dan Bahan.....	31
3.2.1	Alat	31
3.2.2	Bahan	31
3.3	Rancangan Penelitian	32
3.3.1	Diagram Alir Penelitian	32
3.3.2	Prosedur Pelaksanaan Penelitian	33
3.4	Tabulasi Data.....	37
3.4.1	Kadar Air Simplisia	37
3.4.2	Persen Rendemen Ekstrak.....	38
3.4.3	Persen Inhibisi α -Amilase	38
3.4.4	Kinetika Reaksi Sampel Terbaik	38
3.4.5	Peredaman Radikal DPPH	39
3.4.6	Peredaman Radikal Superoksida	39

3.4.7 Peredaman Radikal Hidroksil.....	40
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	41
4.1 Ekstrak dan Fraksi Daun Jambon.....	41
4.2 Potensi Antidiabetik Daun Jambon	43
4.2 Potensi Antioksidan Daun Jambon.....	47
4.2.1 Hasil Uji Antioksidan terhadap Radikal DPPH	47
4.2.2 Hasil Uji Antioksidan terhadap Radikal Superoksida	50
4.2.3 Hasil Uji Antioksidan terhadap Radikal Hidroksil.....	52
4.2.4. Perbandingan Hasil Uji Antioksidan terhadap tiga Radika ...	53
4.3 Hasil Uji Kinetika Inhibisi Enzim α-Amilase	54
BAB 5. PENUTUP	59
5.1 Kesimpulan	59
5.2 Saran	60
DAFTAR PUSTAKA.....	61
LAMPIRAN.....	68

DAFTAR TABEL

	Halaman
2.1 Kriteria diagnostik diabetes	6
2.2 Struktur senyawa aktif ekstrak heksana <i>S.cumini</i>	11
2.3 Hasil pengukuran aktivitas antidiabetik ekstrak <i>S. aqueum</i>	12
2.4 Senyawa bioaktif dalam ekstrakdaun <i>S. polyanthum</i> beserta perannya	14
3.1 Tabulasi data kadar air simplisia.....	37
3.2 Tabulasi data persen rendemen ekstrak.....	38
3.3 Tabulasi data absorbansi sampel dan standar uji inhibisi α -amilase.....	38
3.4 Tabulasi dataabsorbansi tiap konsentrasi amilum.....	38
3.5 Tabulasi data penentuan v_0 kontrol dan sampel.....	38
3.6 Tabulasi data penentuan v_{max} dan K_M	39
3.7 Tabulasi data absorbansi peredaman radikal DPPH	39
3.8 Tabulasi IC_{50} peredaman radikal DPPH.....	39
3.9 Tabulasi data absorbansi peredaman radikal superoksida	39
3.10 Tabulasi data absorbansi peredaman radikal hidroksil	40
4.1 Hasil uji kadar air simplisia	42
4.2 Massa hasil maserasi dan fraksinasi.....	43
4.3 Nilai v_{max} dan K_M	56
4.4 Nilai K_{cat} dan η kontrol dan sampel.....	58

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Reaksi Hidrolisis Amilum	8
2.2 Tanaman <i>Syzygium microcymum</i> (K.&V.) Amshoff	10
2.3 Struktur Molekul Flavonoid	17
2.4 Struktur molekul tanin.....	18
2.5 Ricinine.....	19
2.6 Asparanin B	20
2.7 Salicin.....	20
2.8 Reduksi DNS oleh glukosa.....	22
2.9 Grafik hubungan konsentrasi substrat dengan kecepatan enzim	23
2.10 Kurva Lineweaver-Burk.....	24
2.11 Kurva Lineweaver-Burk jenis inhibisi enzim (Sumber:.....	26
2.12 Reaksi radikal DPPH dengan antioksidan	27
2.13 Reaksi oksidasi pirogalol.....	28
2.14 Reaksi peredaman radikal superoksida oleh kuersetin.....	28
2.15 Reaksi reduksi ion Fe ³⁺ menjadi Fe ²⁺ oleh asam askorbat	29
2.16 Reaksi radikal hidroksil dengan 2-deoksi-D-ribosa.....	29
2.17 Reaksi pembentukkan MDA-ATB <i>adduct</i>	30
2.18 Reaksi peredaman hidroksil oleh kuersetin	30
4.1 Diagram persen inhibisi sampel terhadap enzim α -amilase	45
4.2 Struktur kuersetin dan rutin (Sumber:	46
4.3 Hasil uji IC ₅₀ sampel teradap radikal DPPH	48
4.4 Hasil uji persen perdaman sampel terhadap radikal superoksida	51
4.5 Hasil uji Persen Perdaman sampel terhadap radikal Hidroksil.....	52
4.6 Perbandingan aktivitas antioksidan DPPH, superoksida, dan, hidroksil.....	54
4.7 Kurva Lineweaver-Burk uji kinetika reaksi	55
4.8 Mekanisme Inhibisi Non-kompetitif (Nelson & Cox, 2004).....	57

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Bukti Pengambilan Sampel Tanaman di Kebun Raya Cibodas.....	68
Lampiran 2. Perhitungan Kadar Air Simplisia	69
Lampiran 3. Perhitungan Persen Inhibisi Sampel Terhadap Enzim α -Amilase	69
Lampiran 4. Perhitungan Kinetika Reaksi Inhibisi Enzim α -Amilase.....	71
Lampiran 5. Perhitungan IC ₅₀ Sampel Terhadap Peredaman Radikal DPPH	92
Lampiran 6. Perhitungan Persen Peredaman Radikal Superoksida.....	102
Lampiran 7. Perhitungan Persen Peredaman Radikal Hidroksil	103
Lampiran 8. Dokumentasi Penelitian.....	104

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Perkembangan zaman yang semakin modern, secara tidak langsung membawa dampak terhadap pola hidup masyarakat. Pola hidup tidak sehat dapat menimbulkan berbagai macam penyakit, salah satunya diabetes. Diabetes menurut Kemenkes RI (2014) merupakan jenis penyakit tidak menular yang disebabkan tubuh tidak dapat memproduksi atau merespon insulin dengan baik, sehingga kadar glukosa dalam darah berada di atas angka normal. *World Health Organization* (WHO) dalam *International Diabetes Federation* atau IDF (2017) menyatakan bahwa suatu individu dinyatakan menderita diabetes ketika kadar glukosa darah puasa mencapai lebih dari 126 mg/dl atau plasma glukosa lebih dari 200 mg/dl. Jumlah penderita diabetes di dunia menurut IDF, (2017) mencapai sekitar angka 451 juta. Prevalensi penderita diabetes pada tahun 2017 menunjukkan bahwa Asia tenggara berada pada urutan ketiga dunia, sedangkan Indonesia berada pada urutan keenam dunia dengan jumlah penderita diabetes mencapai 10,3 juta jiwa. Data di atas menunjukkan bahwa diabetes sangat perlu untuk ditangani mengingat survei yang dilakukan oleh IDF (2015) menunjukkan bahwa diabetes tidak hanya menyerang orang dewasa, melainkan juga anak-anak.

Jenis diabetes yang paling sering ditemui adalah diabetes tipe 1 dan diabetes tipe 2. Diabetes tipe 1 menurut IDF (2015) terjadi akibat rusaknya sel beta pankreas sehingga insulin tidak bisa diproduksi, sedangkan diabetes tipe 2 disebabkan tubuh resisten terhadap insulin. Pengobatan terhadap diabetes sangat beragam. Penanganan diabetes yang paling umum adalah dengan pemberian insulin untuk mengurangi kadar gula dalam darah, namun menurut BPOM (2008) metode ini dapat menyebabkan efek samping seperti udema sementara, reaksi lokal, dan hipertrofi lemak. Cara lain dalam pengobatan diabetes menurut IDF (2015) adalah dengan meningkatkan produksi insulin dalam tubuh menggunakan inhibitor DPP-IV. Perawatan ini telah terbukti dapat menyebabkan efek hipoglikemik, namun data keamanan mengenai penggunaan jangka panjang masih belum diketahui.

Jalur pengobatan lain yang dapat dilakukan adalah dengan menghambat enzim α -amilase, dimana menurut Katzung (2002) enzim tersebut berfungsi menghidrolisis pati agar dapat diserap tubuh melalui epitalium. Penghambatan enzim ini dapat menyebabkan proses hidrolisis pati menurun, sehingga dapat menurunkan kadar glukosa dalam darah. Inhibitor tersebut dapat diperoleh secara sintesis, misalnya akarbosa. Namun menurut BPOM (2015) akarbosa menimbulkan efek samping seperti flatulensi, diare, kembung, nyeri, bahkan hepatitis. Kondisi ini menyebabkan penelitian mengenai inhibitor α -amilase alami sangat menarik untuk dilakukan, dimana kemampuan inhibitor suatu senyawa terhadap enzim α -amilase diketahui melalui persen inhibisi yang dihasilkan. Berbagai penelitian juga telah menunjukkan bahwa sumber inhibitor α -amilase alami dapat diperoleh dari berbagai jenis tanaman di Indonesia.

Aktivitas inhibisi suatu tanaman dapat disebabkan oleh adanya senyawa aktif yang terkandung di dalamnya. Metode pengambilan senyawa aktif dari tanaman dapat dilakukan dengan menggunakan metode ekstraksi. Leba (2017) menyatakan bahwa ekstraksi bekerja berdasarkan perbedaan sifat kelarutan suatu analit dalam pelarutnya atau prinsip "*like dissolve like*". Penelitian ini dilakukan dengan melibatkan dua jenis metode ekstraksi, yaitu maserasi dan ekstraksi cair-cair. Maserasi akan dilakukan dengan menggunakan pelarut metanol dan *crude* ekstrak yang diperoleh selanjutnya akan difraksinasi menggunakan metode ekstraksi cair-cair. Pelarut akan ditambahkan sesuai dengan urutan indeks polaritasnya, yaitu heksana (0,1), diklorometana (3,1), dan etil asetat (4,4) (Razali *et al.*, 2017).

Jambon (Gelam, Ki tambaga) atau *Syzygium microcymum* (Koord. & Valetton) Amshoff merupakan salah satu jenis tanaman dari suku Myrtaceae yang berkhasiat sebagai antidiabetik menurut Inventaris Tanaman Obat Indonesia. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan (1997) menyatakan bahwa Jambon dapat berperan sebagai antidiabetik melalui daunnya. Tanaman ini secara tradisional diolah dengan cara merebus bagian daun tanaman dalam air sampai mendidih, kemudian ekstraknya diminum sebanyak dua kali sehari. Penelitian mengenai aktivitas antidiabetik tanaman ini secara ilmiah belum pernah

dilakukan, namun telah banyak penelitian yang telah dilakukan terhadap tanaman satu marga *Syzygium*. Beberapa tanaman yang telah diteliti aktivitas antidiabetiknya antara lain *Syzygium cumini* (Hilario, 2018), *S. Aqueum* (Palanisamy dan Manaharan, 2015), dan *S. Polyanthum* (Widyawati *et al.*, 2015). Juanda *et al.* (2018) juga melakukan uji antidiabetik terhadap ekstrak etanol *S. polycephalum* dan diperoleh nilai aktivitas inhibisi enzim α -glukosidase sebesar IC_{50} 2,97 μ g/mL dan lebih baik dari akar bosa dengan nilai IC_{50} 9,68 μ g/mL. Penelitian tersebut juga menunjukkan bahwa ekstrak mengandung flavonoid dan polifenol (0,889 dan 14,493 mg kuersetin ekuivalen/100 mg ekstrak).

Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan (1997) menyebutkan bahwa kandungan kimia yang terdapat didalam *S. microcymum* (Koord. & Valetton) Amshoff meliputi flavonoid, tanin, dan polifenol. Pernyataan ini juga didukung oleh tumbuhan satu marga *Syzygium*, misalnya *S. polyanthum*. Penelitian yang dilakukan oleh Widyawati *et al.* (2015) mengungkapkan bahwa ekstrak metanol daun *S. polyanthum* mengandung flavonoid, tanin, dan senyawa lainnya seperti alkaloid, saponin, dan glikosida.

Flavonoid, tanin, dan polifenol merupakan senyawa aktif yang dapat digunakan sebagai agen antidiabetik dan antioksidan. Poongunran *et al* (2015) menyatakan bahwa senyawa flavonoid dan tanin merupakan inhibitor enzim α -amilase. Piparo *et al.* (2008) juga telah membuktikan bahwa senyawa flavonoid mampu menghambat enzim α -amilase. Selain itu, menurut Ratnadewi *et al.* (2018) flavonoid dan senyawa fenolik diketahui berperan sebagai senyawa antioksidan.

Antioksidan juga menjadi senyawa yang dibutuhkan oleh penderita diabetes. Winarsi (2007) menyatakan bahwa antioksidan merupakan senyawa pendonor elektron yang dapat mencegah terbentuknya radikal. Kombinasi antidiabetik dengan antioksidan akan lebih efektif untuk pengobatan diabetes. Penyakit diabetes ditandai dengan adanya kondisi hiperglikemia atau berlebihnya kadar glukosa dalam tubuh. Kelebihan glukosa tersebut dapat menyebabkan terjadinya autooksidasi glukosa yang mengakibatkan terbentuknya radikal. Keberadaan radikal dalam tubuh dapat menyebabkan terjadinya stres oksidatif yang memicu

terjadinya komplikasi (Shibano *et al.*, 2008). Oleh karena itu, antioksidan sangat dibutuhkan oleh penderita diabetes. Kemampuan antioksidan Jambon didukung oleh salah satu tanaman satu marganya, yaitu *S. Polycephalum*. Nurmalasari *et al.* (2016) menunjukkan bahwa ekstrak etanol *S. Polycephalum* berpotensi sebagai antioksidan dengan nilai IC_{50} 60,187 ppm terhadap radikal DPPH. Uji antioksidan tanaman Jambon akan dipelajari lebih lanjut dengan melakukan uji terhadap tiga jenis senyawa oksidan, yaitu DPPH, superoksida, dan hidroksil.

Uji DPPH dilakukan karena menurut (Soler-rivas, 2000) DPPH merupakan radikal stabil, dimana aktivitas inhibisi dapat diketahui melalui nilai IC_{50} yang dihasilkan. Uji terhadap inhibisi superoksida dan hidroksil dilakukan karena merupakan jenis radikal yang diproduksi akibat reaksi autooksidasi glukosa dalam tubuh. Aktivitas antioksidan terhadap superoksida dan hidroksil diketahui dari persen peredaman radikal yang dihasilkan (Guigliano *et al.*, 1996).

Kinetika reaksi menjadi hal yang sangat penting untuk menentukan jenis inhibisi ekstrak Jambon terhadap enzim α -amilase. Jenis inhibisi menurut Atkins dan Paula (2010) terdiri dari inhibisi kompetitif, un-kompetitif, dan campuran (non-kompetitif). Penentuan jenis inhibisi dilakukan berdasarkan nilai v_{max} dan K_M yang dapat diperoleh dari persamaan Michaelis-Menten. Hasil tersebut juga dapat dievaluasi lebih lanjut dengan cara memplotkan data yang diperoleh ke dalam Plot Lineweaver-Burk. Uji kinetika reaksi dalam penelitian ini hanya akan dilakukan terhadap ekstrak dengan aktivitas inhibisi terbaik.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini, antara lain:

1. Bagaimana aktivitas antidiabetik ekstrak Jambon [*S. microcymum* (Koord. & Valetton) Amshoff] dengan pelarut metanol, heksana, diklorometana, etil asetat dan metanol berair?
2. Bagaimana aktivitas antioksidan ekstrak Jambon [*S. microcymum* (Koord. & Valetton) Amshoff] dengan pelarut metanol, heksana, diklorometana, etil asetat dan metanol berair?

3. Apa jenis inhibisi dari ekstrak antidiabetik terbaik berdasarkan data kinetika reaksi?

1.3 Batasan Masalah

Batasan masalah yang digunakan dalam penelitian terdiri dari:

1. Tanaman Jambon [*S. microcymum* (Koord. & Valeton) Amshoff] yang digunakan berasal dari Kebun Raya Cibodas
2. Tanaman Jambon [*S. microcymum* (Koord. & Valeton) Amshoff] yang diekstrak hanya pada bagian daun
3. Uji antidiabetik hanya dilakukan terhadap inhibisi enzim α -amilase
4. Ekstrak yang ditentukan jenis inhibisinya adalah ekstrak yang menghasilkan aktivitas inhibisi enzim α -amilase terbaik diantara ekstrak lainnya

1.4 Tujuan

Tujuan dari penelitian ini, antara lain:

1. Mengetahui aktivitas antidiabetik ekstrak Jambon [*S. microcymum* (Koord. & Valeton) Amshoff] dengan pelarut metanol, heksana, diklorometana, etil asetat, dan metanol berair
2. Mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak Jambon [*S. microcymum* (Koord. & Valeton) Amshoff] dengan pelarut metanol, heksana, diklorometana, etil asetat, dan metanol berair
3. Mengetahui jenis inhibisi dari ekstrak antidiabetik terbaik berdasarkan data kinetika reaksi

1.5 Manfaat

Manfaat yang diperoleh dari penelitian ini, antara lain :

1. Memberikan informasi mengenai potensi tumbuhan Jambon [*S. microcymum* (Koord. & Valeton) Amshoff] sebagai obat alternatif antidiabetik secara ilmiah
2. Mengetahui cara kerja tumbuhan Jambon dalam menghambat enzim α -amilase melalui uji kinetika reaksi

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Diabetes

Diabetes menurut Kemenkes RI (2014) merupakan jenis penyakit tidak menular yang disebabkan sel pankreas dalam tubuh tidak dapat memproduksi atau merespon insulin dengan baik. Insulin merupakan hormon yang bertugas mengatur keseimbangan kadar gula dalam darah, sehingga ketika hormon ini tidak berfungsi maka kadar glukosa dalam darah akan berada di atas angka normal atau dalam kondisi hiperglikemia. *World Health Organization* (WHO) dalam *International Diabetes Federation* atau IDF (2017) menyatakan bahwa suatu individu dinyatakan menderita diabetes ketika kadar glukosa darah puasa mencapai lebih dari 126 mg/dl atau plasma glukosa lebih dari 200 mg/dl. Kelebihan gula dalam darah ini selanjutnya akan dibuang bersama urin, sehingga jenis penyakit ini juga biasa disebut sebagai kencing manis. IDF (2017) menyatakan bahwa kriteria diagnostik diabetes menurut WHO adalah dari peningkatan kadar gula darah, seperti yang dijelaskan pada tabel 2.1.

Tabel 2.1 Kriteria diagnostik diabetes

Kriteria	Glukosa Plasma Puasa	Glukosa Plasma 2 Jam	Glukosa Acak
Diabetes	$\geq 7,0$ mmol/L (126mg/dL)	$\geq 11,1$ mmol/L (200mg/dL) dengan glukosa oral 75 g	$> 11,1$ mmol/L (200mg/dL) atau HbA1c ≥ 48 mmol/mol (setara dengan 6,5%)
<i>Impaired Glucose Tolerance</i> (IGT)	$< 7,0$ mmol/L (126 mg/dL)	$\geq 7.8 < 11.1$ mmol/L (≥ 140 hingga < 200 mg/dL) dengan glukosa oral 75g	
<i>Impaired Fasting Glucose</i> (IFG)	6.1-6.9 mmol/L (110 hingga 125 mg/dL)	$< 7,8$ mmol/L (140mg/dL) dengan glukosa oral 75g	

(Sumber: IDF, 2017)

Diabetes menurut IDF (2015) dan IDF (2017) secara terdiri dari tiga tipe utama, antara lain :

2.1.1 Diabetes tipe 1

Diabetes tipe ini disebabkan rusaknya sel beta pankreas akibat reaksi autoimun, sehingga tubuh tidak dapat memproduksi insulin. Tipe diabetes ini paling sering menyerang anak-anak dan remaja. Diabetes tipe 1 menyerang secara tiba-tiba dan penderitanya mutlak membutuhkan insulin dari luar untuk menjaga keseimbangan kadar glukosa darah.

2.1.2 Diabetes tipe 2

Diabetes tipe 2 menjadi diabetes yang paling umum diderita oleh penderita diabetes, yaitu mencapai 90% dari jumlah total penderita diabetes. Diabetes tipe ini disebabkan karena tubuh resisten terhadap insulin. Tubuh tidak dapat merespon insulin dengan baik sehingga insulin tidak dapat bekerja secara efektif. Kondisi resistensi ini awalnya akan menyebabkan produksi insulin meningkat untuk mengurangi kadar glukosa, namun hal ini juga dapat menyebabkan sel tidak lagi mampu memproduksi insulin. Diabetes ini sering menyerang orang lanjut usia, orang dewasa, bahkan remaja. Penyebab penyakit ini dapat berasal dari obesitas, pola hidup tidak sehat, bertambahnya usia, dan faktor keturunan. Diabetes tipe 2 sering tidak terdiagnosis, dan selama waktu tersebut dapat menyebabkan timbulnya komplikasi hiperglikemia yang kronis seperti ulkus kaki, perubahan penglihatan, dan gagal ginjal. Diabetes tipe 2 bersifat tidak tergantung pada insulin, sehingga dapat diobati menggunakan metode lain seperti pemberian inhibitor DPP-IV atau inhibitor enzim α -glukosidase dan α -amilase.

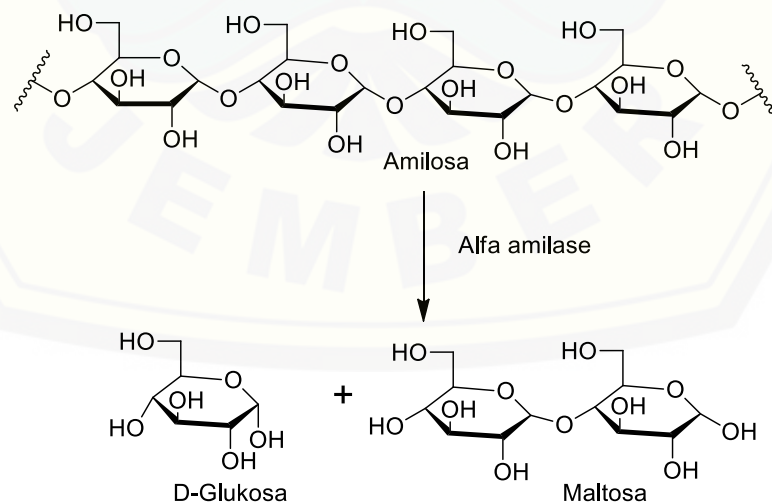
2.1.3 Diabetes gestasional

Diabetes jenis ini muncul selama proses kehamilan, yaitu pada trimester kedua dan ketiga. Diabetes selama proses kehamilan dapat menyebabkan risiko kesehatan yang fatal bagi ibu dan anak. Penyakit ini disebabkan tubuh resisten terhadap insulin karena produksi hormon oleh plasenta, umur, obesitas, dan faktor keturunan.

2.2 Enzim α -Amilase

Enzim merupakan salah satu biomolekul yang berperan sebagai unit fungsional dalam suatu metabolisme sel. Enzim menurut Lehninger (1993) merupakan protein tersier dengan aktivitas katalitik yang besar bahkan lebih besar dari katalisator sintetik, sehingga mampu mempercepat suatu reaksi dengan cara menurunkan energi aktivasi. Enzim bekerja pada kondisi tertentu dan secara teratur mengkatalis reaksi penguraian nutrisi, menyimpan dan mengubah energi kimiawi, serta menguraikan makromolekul menjadi molekul yang lebih sederhana. Tingkat selektivitas enzim terhadap substratnya sangat tinggi, sehingga setiap enzim memiliki spesifikasi untuk mengkatalis reaksi tertentu.

Pati atau amilum merupakan polisakarida yang terkandung dalam makanan dan biasa dijadikan bahan untuk konsumsi sehari-hari. Jenis karbohidrat ini tidak dapat langsung dimanfaatkan oleh tubuh dalam proses metabolisme, melainkan harus dipecah terlebih dahulu menjadi molekul yang lebih sederhana. Proses pemecahan makromolekul ini tidak lepas dari peran enzim α -amilase sebagai katalisatornya. Enzim α -amilase menurut Lehninger (1993) biasanya terdapat dalam air liur, pankreas, dan akan bekerja dengan cara menghidrolisis ikatan glikosida $\alpha(1\rightarrow4)$ menghasilkan D-glukosa, maltosa, dan oligosakarida. Reaksi hidrolisis amilum oleh enzim α -amilase seperti pada gambar 2.1.



Gambar 2.1 Reaksi Hidrolisis Amilum (Sumber: Suarni dan Patong, 2007)

2.3 Kebun Raya Cibodas

Kebun Raya Cibodas merupakan balai konservasi yang telah berdiri sendiri menjadi Unit Pelaksanaan Teknis Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Bogor dalam kediputi Ilmu Pengetahuan Hayati dan Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI). Kebun Raya ini berdiri sejak tanggal 11 April 1852 yang awalnya merupakan bagian dari Kebun Raya Bogor. Kebun Raya Cibodas-LIPI terletak berjarak sekitar 80 km dari Bandung dan berada di kaki Gunung Gede dan Gunung Pangrango dengan ketinggian sekitar 1.300-1.425 m di atas permukaan laut. Luas kebun raya ini mencapai sekitar 84,99 hektar dengan temperatur rata-rata 20,06 °C, kelembaban 80,82%, dan rata-rata curah hujan 2.950 mm per tahun. Kebun Raya Cibodas memiliki jumlah koleksi tanaman yang sangat melimpah, yaitu lebih dari 20.000 jenis tanaman. Salah satu koleksi Kebun Raya Cibodas adalah *Syzygium microcymum* (K.&V.) Amshoff a tau Jambon, dimana menurut Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan (1997) berperan sebagai obat tradisional, termasuk antidiabetik. Koleksi tanaman Kebun Raya Cibodas mulai dari jenis yang mudah ditemui sampai yang sangat terancam punah. Kebun raya ini mencatat sekitar 338 jenis tanaman yang terancam punah dan 38 tanaman yang sangat terancam punah (Kebun Raya Cibodas, 2019).

2.4 Jambon [*Syzygium microcymum* (K.&V.) Amshoff]

Proses pemilihan daun Jambon sebagai sampel dilakukan dengan melakukan *tracking* terhadap jenis tanaman yang terdaftar pada Buku Inventaris Tanaman Obat I (Jilid I–II), II, III, IV, V, dan VI (Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan; 2000, 2001, 1993, 1997, 1999, 2006). Tanaman diseleksi dan diambil tanaman yang tercatat berperan sebagai antidiabetik, dan menunjukkan terdapat sebanyak 22 tanaman yang sesuai dengan klasifikasi tersebut. Tanaman-tanaman tersebut selanjutnya *ditracking* kembali dengan cara melakukan eksplor jurnal untuk memperoleh informasi mengenai publikasi potensinya sebagai tanaman antidiabetik. Hasil ini menunjukkan bahwa terdapat sebanyak 4 tanaman yang belum pernah diteliti potensinya sebagai antidiabetik,

salah satunya Jambon. Persebaran daun Jambon sangat terbatas, dan informasi tentang keberadaan Jambon hanya dapat ditemukan di Kebun Raya Cibodas.

Syzygium microcymum (K.&V.) Amshoff atau jambon adalah tanaman asal Indonesia dengan ciri batang tegak, berkayu, permukaan besar dan berwarna coklat. Jambon memiliki daun tunggal, lonjong dengan ujung yang runcing, tulang menyirip, permukaan licin dan berwarna hijau. Tanaman ini memiliki bunga majemuk, buah berbentuk lonceng berwarna kuning, dan biji berbentuk bola, agak keras, dengan akar tunggang berwarna coklat. Wujud fisik tanaman Jambon dapat dilihat pada gambar 2.2.



Gambar 2.2 Tanaman *Syzygium microcymum* (K.&V.) Amshoff (Sumber: Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, 1997).

Klasifikasi tanaman *Syzygium microcymum* (K.&V.) Amshoff menurut Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan (1997) adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Sub divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledoneae
Bangsa	: Myrtales
Suku	: Myrtaceae
Marga	: Syzygium
Jenis	: <i>Eugenia microcymum</i> (K. & V.) Amshoff
Sinonim	: <i>Syzygium microcymum</i> (K.&V.) Amshoff

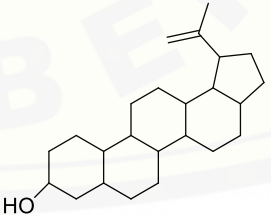
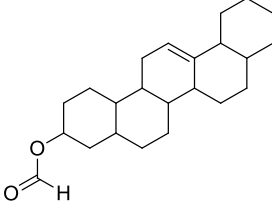
Tanaman ini juga memiliki nama daerah diantaranya Jambon (Jawa), Gelam dan Ki tambaga (Sunda). Menurut buku Inventaris Tanaman Obat Indonesia (IV), Jambon secara tradisional sering digunakan sebagai obat sakit gula dengan cara

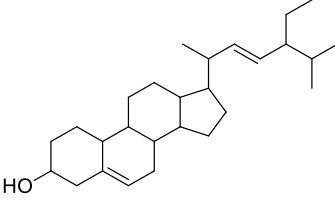
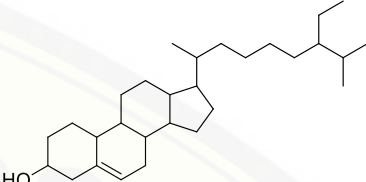
meminum air rebusan daunnya. Buku tersebut juga menyatakan bahwa daun dan kulit batang tanaman ini mengandung flavonoid, tanin, dan polifenol.

Penelitian yang menjelaskan potensi ekstrak tanaman Jambon sebagai antidiabetik dan antioksidan belum pernah dilakukan. Namun penelitian terhadap tanaman satu marga *Syzygium* terhadap antidiabetik dan antioksidan telah banyak dilakukan. Penelitian terhadap tanaman satu marga dapat digunakan sebagai faktor pendukung, karena tanaman satu marga biasanya memiliki aktivitas dan senyawa metabolit sekunder yang hampir sama. Penelitian yang dilakukan oleh Hilario (2008) terhadap ekstrak metanol daun *S. cumini* menunjukkan adanya aktivitas antidiabetik. Penelitian dilakukan secara *in vivo* dengan menggunakan tikus sebagai objeknya. Hasil menunjukkan bahwa ekstrak tersebut memiliki sifat yang dapat menurunkan kadar glukosa dalam darah secara signifikan seperti glibenclamide.

Penelitian terhadap *S. cumini* juga dilakukan oleh Alam *et al.* (2012), dimana penelitian tersebut melakukan isolasi menggunakan kromatografi dan identifikasi senyawa dengan NMR. Hasil menunjukkan bahwa ekstrak heksana *S. cumini* mengandung lupeol, *12-oleanen-3-ol-3 β -acetate*, stigmasterol, β -sitosterol. Senyawa tersebut merupakan senyawa telah diketahui memiliki antidiabetik pada penelitian sebelumnya. Struktur keempat senyawa tersebut dapat dilihat pada tabel 2.2.

Tabel 2.2 Struktur senyawa aktif ekstrak heksana *S. cumini*

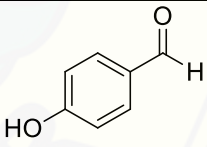
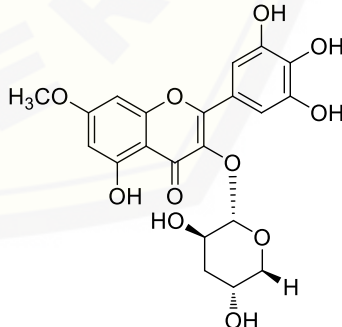
Senyawa	Struktur Molekul
Lupeol	
<i>12-oleanen-3-ol-3β-acetate</i>	

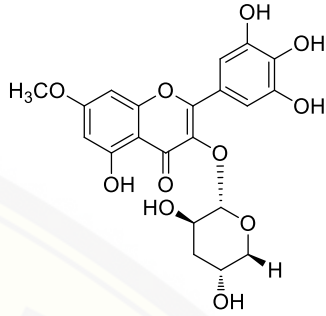
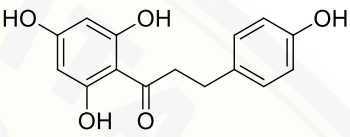
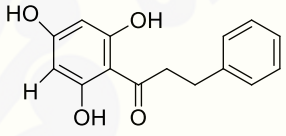
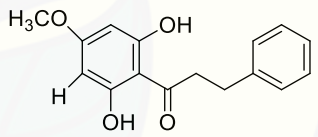
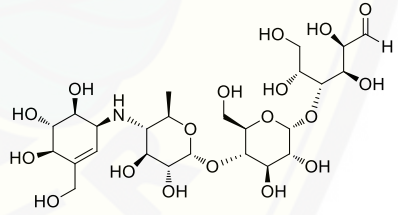
Senyawa	Struktur Molekul
Stigmasterol	
β -sitosterol	

(Sumber: Alam *et al.*, 2012)

Penelitian lain juga dilakukan oleh Manaharan *et al.*, (2012) terhadap daun *S. aqueum* secara *in vitro* terhadap inhibisi enzim α -amilase dan α -glukosidase. Hasil menunjukkan bahwa ekstrak tanaman ini memiliki aktivitas antidiabetik dengan cara berperan sebagai inhibitor α -glukosidase dan α -amilase. Penelitian ini, dilanjutkan dengan isolasi senyawa dan ditemukan enam jenis senyawa flavonoid dengan aktivitas antidiabetik. Jenis senyawa dan hasil pengukuran EC_{50} dapat dilihat pada tabel berikut 2.3.

Tabel 2.3 Hasil pengukuran aktivitas antidiabetik ekstrak *S. aqueum*

Sampel	EC_{50} μ M		Struktur molekul
	α -glukosidase	α -amilase	
4-hydroxy benzaldehyde	9 ± 4.9	20 ± 8.2	
Myricetin-3-O-rhamnoside	1.1 ± 0.06	1.9 ± 0.02	

Sampel	EC ₅₀ μM		Struktur molekul
	α-glukosidase	α-amilase	
Europetin-3-O-rhamnoside	1.9 ± 0.06	2.3 ± 0.04	
Phloretin	20 ± 2.2	31 ± 5.5	
Myrigalone-G	7 ± 1.4	33 ± 6.6	
Myrigalone-B	19 ± 1.0	8.3 ± 1.3	
Akarbosa	43 ± 1.6	19 ± 1.6	

(Sumber: Manaharan *et al.*, 2012)

Penelitian terhadap sampel yang sama yaitu *S. aqueum* dikembangkan oleh Palanisamy dan Manaharan (2015) untuk menguji aktivitasnya sebagai antioksidan terhadap radikal DPPH. Hal tersebut dikarenakan pada penelitian sebelumnya uji *S. aqueum* hanya difokuskan pada aktivitasnya sebagai antidiabetik. Hasil menunjukkan bahwa ekstrak berpotensi sebagai antioksidan dengan nilai IC₅₀ sebesar 0,21±0,02 mg/ml atau lebih kecil dari standar dengan nilai 0,27 ± 0,1 mg/ml.

Penelitian lain terhadap tanaman satu marga juga dilakukan oleh Rahim *et al.* (2018) dimana daun *S. polyanthum* digunakan sebagai sampelnya. Penelitian melibatkan proses ekstraksi bertingkat menggunakan UAE (*Ultrasound-Assisted Extraction*) dalam pelarut metanol, heksana, dan etil asetat. Fraksi ekstrak yang diperoleh, selanjutnya diidentifikasi kandungan senyawanya menggunakan GC-MS. Hasil menunjukkan terdapat beberapa senyawa bioaktif yang berperan sebagai antidiabetik dan antioksidan, seperti pada tabel 2.4.

Tabel 2.4 Senyawa bioaktif dalam ekstrak heksana, etil asetat, dan metanol daun *S. polyanthum* beserta perannya

Senyawa bioaktif	Jenis fraksi ekstrak			Aktivitas
	Heksana	Etil asetat	Metanol	
Linalool	+	+	-	Antidiabetik (More <i>et al.</i> , 2014)
Farnesol	+	+	+	Antioksidan (Jahangir <i>et al.</i> , 2005)
Phytol	+	+	+	Antioksidan (Bastos <i>et al.</i> , 2009)
Squalene	+	+	+	Antioksidan (Kim dan Karadeniz, 2012)
β -Tocopherol	+	+	+	Antioksidan (Flohe, 2006)
α -Tocopherol	+	+	+	Antioksidan (Traber dan Atkinson, 2007)
β -Sitosterol	+	+	+	Antidiabetik (Sujatha <i>et al.</i> , 2010)

(Sumber: Rahim *et al.*, 2018)

2.5 Ekstraksi

Ekstraksi merupakan metode pemisahan yang digunakan untuk menarik senyawa kimia tertentu dari suatu sampel dengan menggunakan pelarut. Ekstraksi bekerja berdasarkan perbedaan kelarutan suatu analit terhadap pelarut tertentu, sehingga pelarut yang digunakan harus tepat agar analit dapat diambil secara maksimal. Kelarutan suatu analit dalam pelarutnya akan bekerja sesuai dengan prinsip “*like dissolve like*”, dimana senyawa polar akan larut dalam pelarut polar, dan sebaliknya (Leba, 2017).

Keberhasilan ekstraksi sangat dipengaruhi oleh beberapa hal, seperti sifat kepolaran, konsentrasi, dan struktur senyawa target yang meliputi jumlah cincin aromatik serta gugus hidroksil. Kandungan senyawa yang terekstrak juga dapat dipengaruhi oleh suhu, waktu ekstraksi, jumlah pengulangan, serta jenis pelarut yang digunakan. Kandungan senyawa dalam sampel juga sangat mempengaruhi hasil ekstraksi (Gracia-Salas *et al.*, 2010).

Ekstraksi yang dilakukan pada penelitian ini meliputi maserasi sampel kering dalam pelaut metanol hingga diperoleh *crude* ekstrak. Hasil tersebut selanjutnya dilanjutkan dengan ekstraksi bertingkat berdasarkan sifat kepolaran pelarut menggunakan metode ekstraksi cair-cair. Tingkat kepolaran pelarut yang digunakan diurutkan berdasarkan nilai indeks polaritasnya, yaitu dari yang kecil ke besar atau dari pelarut yang bersifat non polar ke pelarut polar. Urutan pelarut dan indeks polaritasnya yang digunakan dalam percobaan ini antara lain heksana (0,1), diklorometana (3,1), dan etil asetat (4,4) (Razali *et al.*, 2017).

2.5.1 Maserasi

Maserasi menurut Rusmiati (2010) merupakan teknik pengambilan ekstrak paling sederhana yang dilakukan dengan merendam sampel simplisia dalam pelarut tertentu dan selama waktu tertentu. Voight (1994) menyatakan bahwa pelarut akan menarik analit dengan cara menembus dinding sel dan kemudian masuk ke dalam bagian sel yang mengandung zat aktif atau analit. Pelarutan analit dalam sel terjadi melalui mekanisme transpor pasif akibat perbedaan konsentrasi analit di dalam dan luar sel. Analit akan berdifusi dari sel karena konsentrasi analit di dalam sel lebih tinggi daripada di luar sel. Hal tersebut akan terus terjadi sampai mencapai kesetimbangan. Teknik ini biasanya digunakan untuk mengekstraksi sampel dengan kandungan analit yang cukup tinggi dan pelarut yang digunakan harus sesuai agar dapat melarutkan seluruh analit tersebut. Pelarut yang digunakan juga sebaiknya tidak bersifat volatil karena biasanya didiamkan dalam waktu yang lama. Rusmiati (2010) menyatakan bahwa keuntungan metode ini adalah memerlukan alat yang sederhana dan mudah untuk dikerjakan.

2.5.2 Ekstraksi Cair-Cair

Ekstraksi cair-cair menurut (FaggidaE, 2013) merupakan salah satu jenis ekstraksi pelarut yang dilakukan dengan menggunakan dua jenis fase cair yang tidak saling melarutkan. Metode ini memisahkan suatu senyawa dari fase satu ke fase lain berdasarkan tingkat kelarutan relatifnya. Kontak antara fase umpan yang mengandung analit dengan pelarut lainnya akan menyebabkan perpindahan analit dari fase umpan ke pelarut. Gandjar dan Rohman (2007) menyatakan bahwa ekstraksi cair-cair bekerja sesuai dengan Hukum Distribusi Nernst, dimana analit dalam dua pelarut yang tidak saling bercampur akan terdistribusi dalam jumlah yang rata dan perbandingannya dinyatakan sebagai koefisien partisi. Teknik ekstraksi cair-cair yang sering digunakan adalah dengan menggunakan corong pisah. Pelarut ditambahkan ke dalam fase umpan, kemudian dikocok, didiamkan, dan dipisahkan. Teknik ini dilakukan secara berulang agar analit dapat terkestrak secara maksimal (Khopkar, 1990).

2.6 Senyawa Metabolit Sekunder

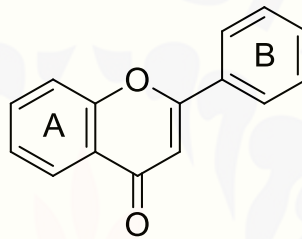
Metabolit sekunder menurut Saifudin (2014) adalah senyawa yang terbentuk akibat adanya proses biosintesis yang dilakukan oleh tumbuhan, mikroba, atau hewan tertentu. Senyawa ini tidak bersifat vital atau esensial, sehingga tidak akan menyebabkan kematian ketika senyawa ini tidak disintesis. Metabolit sekunder hanya berperan sebagai penunjang hidup organisme, misalnya untuk upaya pertahanan tubuh terhadap musuh atau kondisi lingkungannya. Senyawa metabolit sekunder secara garis besar dibagi menjadi tiga kelompok, yaitu terpenoid, alkaloid, dan fenolik (Nugroho, 2017).

Harborne (1987) menyatakan bahwa senyawa fenolik merupakan jenis metabolit sekunder yang berasal dari tumbuhan dengan ciri memiliki cincin aromatik dengan satu atau lebih gugus hidroksil. Senyawa ini umumnya mudah larut dalam air dan biasanya terletak di vakuola sel. Senyawa fenolik sangat beragam, dan termasuk didalamnya fenil propanoid, flavonoid dan tanin. Senyawa fenolik yang sebagian besar telah teridentifikasi menunjukkan adanya aktivitas

antioksidan dan beberapa juga menunjukkan adanya aktivitas antidiabetik (Sarker dan Nahar, 2007).

2.6.1 Flavonoid

Flavonoid menurut Rajalakshmi dan Narasimhan (1966) merupakan senyawa metabolit sekunder dari golongan fenolik yang paling sering ditemukan pada tanaman. Struktur dasar flavonoid memiliki 15 atom karbon dengan struktur kimia berupa C₆-C₃-C₆, yaitu terdiri dari dua cincin aromatik yang disimbolkan dengan huruf A dan B yang dihubungkan oleh tiga rantai karbon alifatik, seperti pada gambar 2.3.



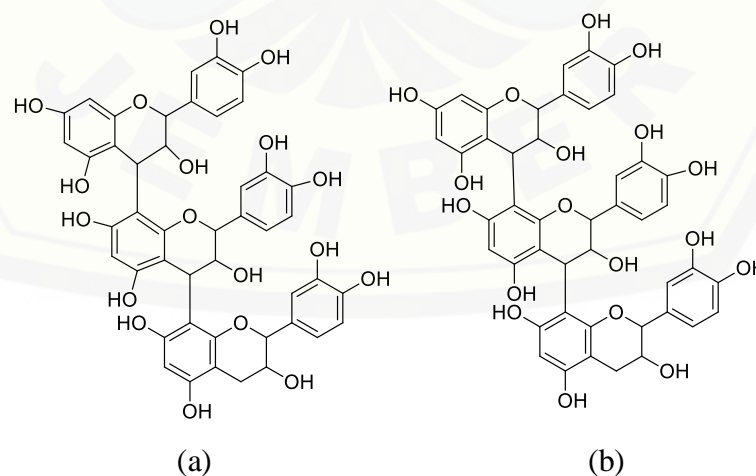
Gambar 2.3 Struktur Molekul Flavonoid (Sumber: Parwata,2016)

Flavonoid sebagian besar ditemukan pada tumbuhan dengan persebaran yang tidak merata antara bagian batang, daun, akar, buah, dan bunga tergantung jenis tanamannya. Flavonoid dikenal sebagai senyawa antioksidan yang berperan mencegah kerusakan sel dengan cara menangkap radikal bebas. Menurut Cuppett *et al.* (1954) flavonoid bekerja dengan mendonorkan atom hidrogennya atau melalui kemampuannya dalam mengkelat logam.

Penelitian yang dilakukan oleh Piparo *et al.* (2008) menunjukkan kemampuan flavonoid sebagai inhibitor enzim α -amilase. Salah satu contoh flavonoid inhibitor α -amilase adalah kuersetagenin. Senyawa tersebut akan menghambat α -amilase melalui mekanisme yang sama dengan akarbosa, dimana flavonoid akan menghambat kerja enzim melalui ikatan hidrogen dengan residu katalitik enzim. Mekanisme ini juga dijelaskan pada penelitian lain yang dilakukan oleh Poongunran *et al.* (2015) menjelaskan bahwa inhibisi α -amilase terjadi akibat adanya ikatan hidrogen yang terbentuk antara gugus hidroksil ligan polifenol dengan sisi aktif enzim. Penelitian tersebut juga menyebutkan bahwa aktivitas inhibisi sebanding dengan jumlah gugus hidroksil pada cincin B.

2.6.2 Tanin

Tanin merupakan senyawa organik yang berasal dari kelompok polifenol dan dapat membentuk kompleks dengan protein menjadi senyawa yang tidak larut dalam air. Tanin dapat ditemukan hampir disetiap bagian tanaman, yaitu pada daun, biji, akar, atau batang. Tanin memiliki rasa pahit dan dalam tumbuhan berperan sebagai pertahanan terhadap serangan mikroba, serangga, dan hama. Krause *et al.* (2005) menyatakan bahwa tanin diklasifikasikan menjadi tanin terhidrolisis dan tanin terkondensasi. Tanin terhidrolisis akan pecah menjadi molekul sederhana setelah penambahan asam atau enzim tertentu, sedangkan tanin terkondensasi akan membentuk kompleks yang tidak larut dalam air. Jeronimo *et al.* (2016) menyatakan bahwa tanin terhidrolisis terbentuk dari karbohidrat yang teresterifikasi dengan asam galat (gelotantin), sedangkan tanin terkondensasi adalah oligomer atau polimer dari unit flavanol yang dihubungkan melalui ikatan karbon-karbon. Tanin terhidrolisis lebih mudah larut dalam air, dengan berat molekul yang lebih rendah, dan kerentanan yang lebih tinggi terhadap hidrolisis jika dibandingkan tanin terkondensasi. Tanin terhidrolisis hanya ditemukan pada tumbuhan dikotil, sedangkan tanin terkondensasi ditemukan di angiospermae dan gymnospermae, namun tidak menutup kemungkinan mereka ditemukan dalam satu tanaman. Jenis tanin yang paling umum ditemukan pada daun pohon adalah tanin terkondensasi. Struktur kedua tanin tersebut seperti pada Gambar 2.4.



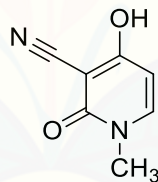
(a) tanin terhidrolisis; (b) tanin terkondensasi

Gambar 2.4 Struktur molekul tanin terkondensasi (Sumber: Krause *et al.*, 2005)

Tanin menurut Mabruroh (2015) dapat berperan sebagai antioksidan, astringen, anti diare dan antibakteri. Tanin juga berperan sebagai antidiabetik dengan menghambat kerja inhibitor α -amilase. Tanin akan berinteraksi dengan enzim α -amilase melalui ikatan hidrogen, dimana kemampuan tanin sebagai inhibitor enzim sebanding dengan jumlah gugus hidroksil bebas yang terdapat pada tanin (Poongunran *et al.* 2015).

2.6.3 Alkaloid

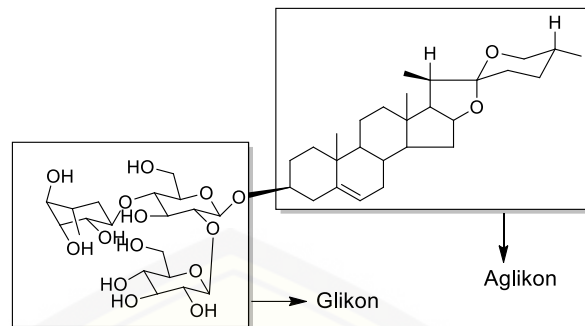
Seigler (1998) menyatakan alkaloid merupakan sekelompok senyawa metabolit sekunder dengan ciri khusus memiliki atom nitrogen (N) dalam keadaan oksidasi negatif pada rantainya. Nitrogen tersebut secara umum berasal dari asam amino, dimana jumlah nitrogen berperan dalam sifat kebasaannya. Alkaloid dapat membentuk garam yang larut dalam air dengan mineral asam. Persebaran alkaloid dalam makhluk hidup bersifat terbatas. Alkaloid biasanya diekstraksi dengan pelarut nonpolar seperti kloroform. Contoh molekul alkaloid seperti pada Gambar 2.5



Gambar 2.5 Ricinine (Sumber: Félix-silva *et al.*, 2014)

2.6.4 Saponin

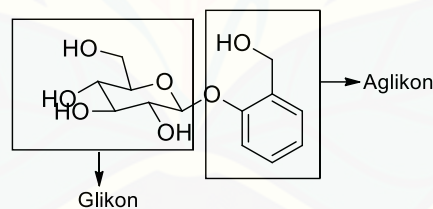
Saponin merupakan jenis senyawa yang memiliki gugus aglikon polisiklik dengan struktur steroid (C_{27}) atau triterpenoid (C_{30}) yang melekat dengan unit karbohidrat (glikon). Unit karbohidrat tersebut dapat berupa monosakarida atau oligosakarida. Unit gula penyusunnya dapat berupa heksosa, pentosa, atau asam uronat. Saponin dibagi menjadi dua kelompok besar, yaitu steroidal saponin dan triterpenoid saponin. Pembagian dilakukan berdasarkan struktur aglikon atau dikenal sebagai saponin. Steroidal saponin biasanya memiliki 27 atom karbon, sedangkan saponin triterpenoid mengandung 30 atom karbon. Salah satu contoh molekul saponin seperti pada Gambar 2.6.



Gambar 2.6 Asparanin B(Sumber: Seigler, 1998).

2.6.5 Glikosida

Senyawa yang terikat dengan satu atau lebih gula disebut dengan glikosida. Glikosida terdiri dari dua bagian, yaitu bagian gula (glikon) dan bagian non-gula (aglikon atau genin). Glikosida yang ditemukan pada tumbuhan memiliki bagian aglikon yang beragam. Glikosida berdasarkan komponen gula penyusunnya dibagi menjadi glukosida, fruktosida, dan galaktosida. Glikosida juga dapat diklasifikasikan berdasarkan komponen aglikonnya, misalnya flavonoid, lignan, dan iridoid. Glikosida yang memiliki sifat seperti sabun disebut saponin. Contoh salah satu glikosida seperti Gambar 2.7.

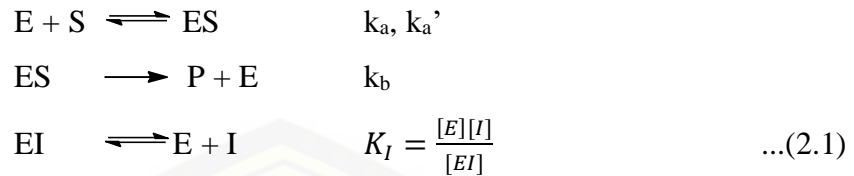


Gambar 2.7 Salicin (Sumber: Sarker dan Nahar, 2007)

2.7 Inhibitor Enzim α -Amilase

Inhibitor menurut Lehninger (1993) adalah senyawa kimia tertentu yang dapat menghambat kerja enzim, sehingga dapat menurunkan aktivitas enzim. Inhibitor dapat menghambat kerja enzim dengan cara menempati sisi aktif enzim atau dengan membentuk suatu ikatan stabil dengan enzim, baik secara kovalen maupun non-kovalen yang dapat merubah konformasi sisi aktif enzim. Sisi aktif enzim merupakan penentu aktivitas enzim, sehingga ketika sisi aktif rusak maka reaksi enzimatik tidak dapat terjadi. Selain itu, menurut Atkins dan Paula (2010)

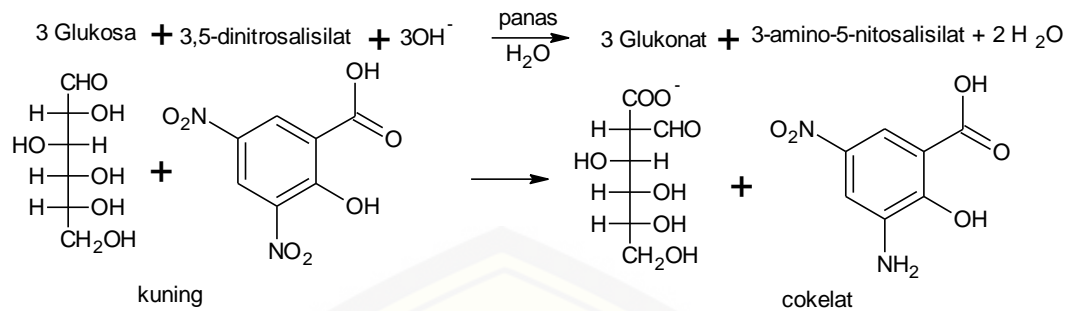
inhibitor dapat terikat langsung dengan enzim, kompleks enzim-substrat (ES), atau enzim dan kompleks ES, seperti pada persamaan berikut:



Efisiensi inhibitor dapat diketahui melalui nilai K_I dan K_I' , dimana semakin kecil nilai K_I dan K_I' , maka inhibitor semakin efisien.

Enzim α -amilase merupakan enzim yang bekerja dalam proses pemecahan karbohidrat menjadi molekul sederhana yang dapat dimanfaatkan oleh tubuh. Kerja enzim ini dapat dihambat oleh suatu inhibitor dengan cara mengikat atau menginaktifkan enzim α -amilase, sehingga memperlambat proses pencernaan karbohidrat. Hal ini menyebabkan terjadinya penurunan laju absorpsi glukosa, sehingga mencegah adanya peningkatan plasma glukosa postprandial. Inhibitor jenis enzim dapat berasal dari senyawa alami yang diperoleh dari berbagai jenis tanaman herbal, seperti penelitian yang dilakukan oleh Sasidharan *et al.* (2012) yang menyatakan inhibitor α -glukosidase dapat diperoleh dari tanaman *Terminalia chebula*.

Kerja suatu inhibitor yang digunakan dalam menghambat enzim α -amilase dapat dilakukan dengan menghitung kadar produk hasil hidrolisis enzim. Produk yang dihasilkan semakin kecil, maka kerja inhibitor semakin maksimal. Amilum akan dihidrolisis menjadi maltosa dan glukosa, dimana kedua senyawa ini menurut Lehninger (1993) termasuk ke dalam golongan gula pereduksi. Identifikasi kadar gula pereduksi menurut Ratnadewi *et al.* (2018) dapat dilakukan dengan melibatkan reagen dinitrosalisilat (DNS). Wahyudi (2015) menyatakan bahwa reaksi enzimatik oleh α -amilase dapat dihentikan melalui pemanasan. Sampel kemudian ditambah DNS sebagai pewarna, dimana DNS akan direduksi oleh gula pereduksi yang dihasilkan selama proses enzimatik dengan bantuan proses pemanasan. Reaksi tersebut menghasilkan senyawa 3-amino-5-nitrosalisilat, sesuai dengan gambar 2.8.



Gambar 2.8 Reduksi DNS oleh glukosa (Sumber: Timerman, Tanpa Tahun)

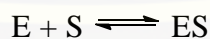
Senyawa yang terbentuk menyebabkan warna larutan berubah menjadi oranye sampai kecoklatan dengan panjang gelombang 540 nm. Tingkat kepekatan warna yang dihasilkan sebanding dengan jumlah gula pereduksi dalam sampel.

2.8 Kinetika Enzim

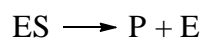
Enzim yang merupakan biokatalisator dapat mempercepat reaksi, sehingga akan berdampak pada kinetika suatu enzim. Kinetika enzim berhubungan dengan proses berjalannya enzim dalam mengikat substrat untuk membentuk produk. Pembahasan kinetika enzim akan melibatkan istilah enzim (E), substrat (S), dan laju (v).

2.8.1 Persamaan Michaelis-Menten

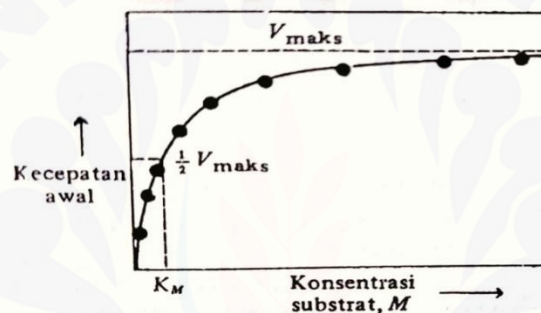
Enzim dalam mengkatalisis suatu reaksi bekerja melalui dua tahap. Lehninger (1993) menyatakan bahwa Leonor Michaelis dan Maud L. Menten pada tahun 1913 mengemukakan mengenai mekanisme kerja enzim. Enzim (E) akan mengikat substrat melalui sisi katalitiknya membentuk kompleks enzim-substrat (ES) dengan reaksi yang bersifat *reversible*. Reaksi ini berlangsung relatif cepat. Reaksi yang terjadi menurut Atkins dan Paula (2010) adalah sebagai berikut



Kompleks ES kemudian akan terurai menjadi enzim bebas (E) dan produk (P). Reaksi ini berjalan relatif lebih lambat, sehingga sebagai penentu laju reaksi. Reaksi yang terjadi sesuai dengan persamaan reaksi sebagai berikut



Kecepatan reaksi enzimatik yang terjadi sebanding dengan konsentrasi kompleks enzim-substrat yang terbentuk. Enzim dalam reaksi ini akan selalu berada dalam kondisi dua bentuk, yaitu enzim bebas (E) atau kompleks enzim-substrat (ES). Kecepatan enzim akan menjadi maksimum ketika semua enzim berada dalam bentuk kompleks ES, sehingga dengan kata lain konsentrasi enzim bebas berada dalam keadaan minimum. Keadaan ini akan tercapai ketika konsentrasi substrat tinggi, karena sesuai dengan hukum aksi massa pada kesetimbangan reaksi pertama akan bergeser ke arah ES ketika S ditingkatkan. Kondisi diatas menunjukkan bahwa konsentrasi substrat dapat mempengaruhi kecepatan reaksi enzimatik, seperti yang ditunjukkan pada gambar 2.9.



Gambar 2.9 Grafik hubungan konsentrasi substrat dengan kecepatan enzim
(Sumber: Lehninger, 1993)

Grafik di atas menunjukkan bahwa ketika substrat terus ditambahkan, maka kecepatan akan semakin meningkat. Tetapi ketika konsentrasi substrat cukup tinggi, maka enzim bebas termasuk enzim hasil reaksi akan berikatan dengan substrat yang lain. Enzim akan berada dalam kondisi jenuh sehingga keadaan menjadi setimbang dan kecepatan awal bernilai konstan. Pada saat tersebut reaksi reaksi dikatakan telah mencapai kecepatan maksimum (v_{\max}) (Lehninger, 1993).

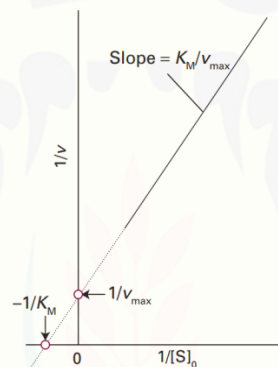
Wiseman (1989) menyatakan bahwa kinetika enzim juga dapat ditentukan melalui parameter lain, yaitu konstanta Michaelis-Menten (K_M). Harga K_M menyatakan konsentrasi substrat pada reaksi mencapai setengah kecepatan maksimal (v_{\max}). Michaelis-Menten menyatakan grafik kejenuhan substrat menjadi persamaan berikut

$$v = \frac{v_{maks} [S]}{[S] + K_M} \quad \dots(2.3)$$

Nilai K_M dapat digunakan untuk menentukan efektivitas enzim karena berhubungan dengan kekuatan ikatan enzim-substrat (ES). Nilai K_M semakin kecil berarti efektivitas enzim tinggi, dan sebaliknya.

2.8.2 Kurva Lineweaver-Burk

Nilai v_{max} dan K_M merupakan variabel yang harus diketahui agar tipe inhibisi suatu inhibitor dapat diketahui. Lehninger (1993) mengungkapkan bahwa nilai v_{max} dan K_M secara lebih akurat dapat diperoleh dengan cara memplotkan data kecepatan awal (v_0) terhadap konsentrasi substrat dalam kurva Lineweaver-Burk. Kurva Lineweaver-Burk seperti pada gambar 2.10.



Gambar 2.10 Kurva Lineweaver-Burk (Sumber: Atkins dan Paula, 2010)

Kurva tersebut diperoleh dari hasil transformasi lebih lanjut persamaan Michaelis-Menten hingga diperoleh persamaan sebagai berikut

$$\frac{1}{v_0} = \frac{1}{v_{max}} + \left(\frac{K_M}{v_{max}} \right) \frac{1}{[S]_0} \quad \dots(2.4)$$

Persamaan di atas menunjukkan bahwa untuk menyusun Lineweaver-Burk diperlukan data v_0 , dimana data ini diperoleh dari gradien kurva konsentrasi produk terhadap waktu inkubasi. Data tersebut diplotkan terhadap konsentrasi substrat hingga diperoleh persamaan linier. Intersept yang dihasilkan dapat digunakan untuk menentukan v_{max} , kemudian data tersebut digunakan untuk menentukan nilai K_M dengan melibatkan nilai dari gradien garis yang dihasilkan (Lehninger, 1993).

2.8.3 Jenis Inhibisi Enzim

Senyawa bioaktif yang dihasilkan oleh tumbuhan dapat berperan sebagai inhibitor. Inhibitor merupakan senyawa yang dapat menurunkan laju reaksi.

Mekanisme inhibisi enzim dapat dilihat pada persamaan (2.1) dan (2.2), dimana semakin kecil nilai K_I dan K_I' , maka inhibitor semakin efisien. Persamaan inhibisi enzim adalah sebagai berikut

$$\frac{1}{v_0} = \frac{\alpha'}{v_{max}} + \left(\frac{\alpha K_M}{v_{max}}\right) \frac{1}{[S]_0} \quad \dots(2.5)$$

dimana : $\alpha = \frac{[I]}{K_I}$ dan $\alpha' = \frac{[I]}{K_I'}$

Berdasarkan persamaan tersebut, mekanisme inhibisi oleh inhibitor terhadap suatu reaksi menurut Atkins dan Paula (2010) dibagi menjadi tiga, yaitu kompetitif, un-kompetitif, dan campuran (non-kompetitif).

a. Inhibisi kompetitif

Inhibitor dalam jenis ini akan mengikat hanya pada sisi aktif enzim, sehingga akan menghambat terbentuknya kompleks enzim-substrat (ES). Pada kondisi ini nilai $\alpha > 1$ dan $\alpha' = 1$, karena kompleks ES tidak terbentuk. Persamaan yang dihasilkan adalah

$$\frac{1}{v_0} = \frac{1}{v_{max}} + \left(\frac{\alpha K_M}{v_{max}}\right) \frac{1}{[S]_0} \quad \dots(2.6)$$

Persamaan tersebut menunjukkan bahwa pada inhibisi kompetitif nilai intersept tidak berubah, tetapi nilai gradien lebih tinggi dari enzim tanpa inhibitor.

b. Inhibisi un-kompetitif

Inhibitor jenis ini akan terikat pada bagian selain sisi aktif enzim, dan hanya terjadi ketika enzim sudah berikatan dengan substrat. Inhibisi terjadi karena keberadaan ESI dapat menurunkan kompleks ES yang terbentuk. Jenis inhibisi ini memiliki nilai $\alpha = 1$ dan $\alpha' > 1$, sehingga diperoleh persamaan seperti berikut

$$\frac{1}{v_0} = \frac{\alpha'}{v_{max}} + \left(\frac{K_M}{v_{max}}\right) \frac{1}{[S]_0} \quad \dots(2.7)$$

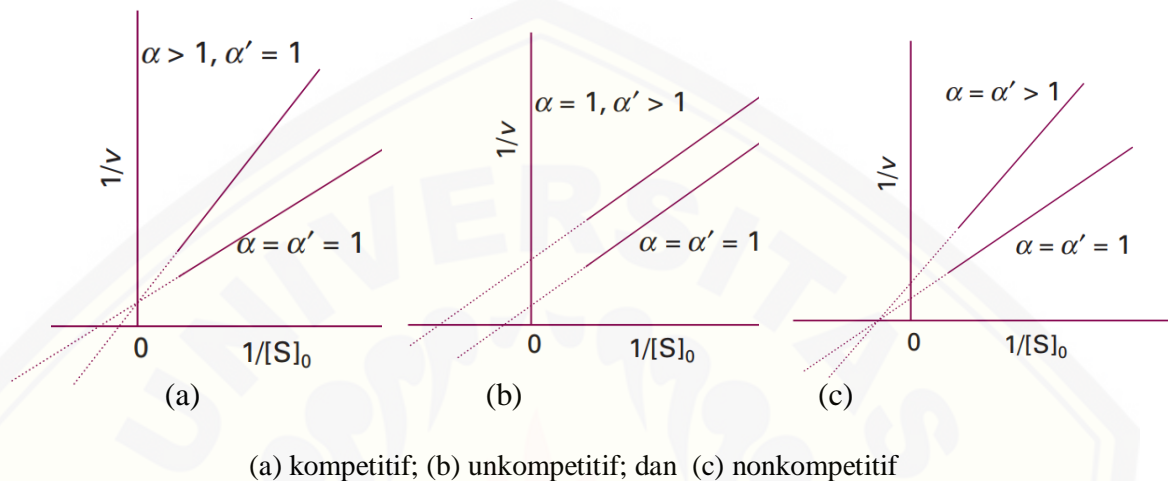
Persamaan menunjukkan bahwa suatu mekanisme inhibisi dikatakan unkompetitif ketika nilai interseptnya meningkat, sedangkan gradiennya tetap.

c. Inhibisi campuran (non-kompetitif)

Jenis inhibisi ini juga disebut sebagai inhibisi campuran, dimana inhibitor terikat pada bagian selain sisi aktif enzim dan mengurangi kemampuan enzim untuk berikatan dengan substrat. Inhibisi terjadi pada E dan ES. Jenis inhibisi ini

memiliki nilai $\alpha > 1$ dan $\alpha' > 1$, sehingga intersept dan gradien mengalami peningkatan.

Jenis inhibisi di atas juga dapat digambarkan dalam bentuk kurva, seperti pada gambar 2.11.



Gambar 2.11 Kurva Lineweaver-Burk jenis inhibisi enzim (Sumber: Atkins dan Paula, 2010).

2.9 Antioksidan

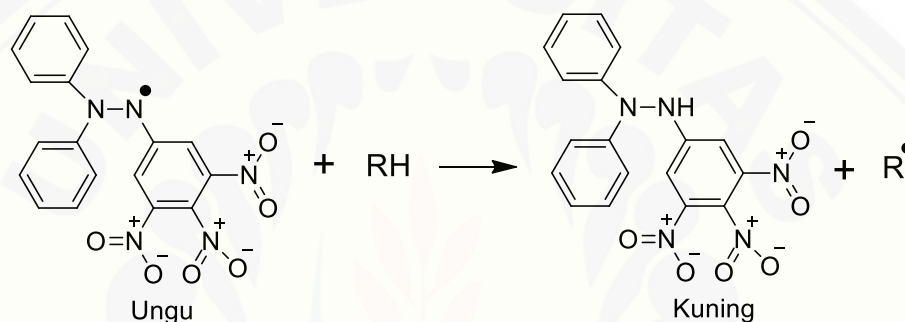
Winarsi (2007) menyatakan bahwa senyawa antioksidan merupakan senyawa pendonor elektron yang dapat mendonorkan satu elektronnya kepada senyawa oksidan, sehingga pembentukan radikal dapat dicegah. Aktivitas ini dapat digunakan untuk meredam radikal bebas, sehingga oksidasi sel dapat dihambat. Antioksidan sangat erat kaitannya dengan radikal bebas. Radikal bebas menurut Uppu *et al.* (2010) adalah suatu senyawa yang memiliki elektron bebas tidak berpasangan, sehingga senyawa ini akan cenderung menyerang senyawa lain untuk mendapatkan pasangan dari elektron tunggal tersebut. Radikal bebas sangat reaktif dengan gerakan yang acak, sehingga sangat mudah menyerang sel sehat dalam tubuh. Kondisi tersebut dapat menyebabkan rusaknya sel tubuh, bahkan terdapat kemungkinan timbulnya penyakit degeneratif.

Kondisi hiperglikemia pada penderita diabetes menyebabkan produksi radikal bebas meningkat akibat adanya reaksi autooksidasi pada glukosa dan membentuk senyawa oksigen reaktif. Guigliano *et al.* (1996) menyatakan bahwa

hiperglikemia menghasilkan produk radikal seperti radikal anion superoksida, ion hidroksil, dan hidrogen peroksida. Analisis aktivitas antioksidan dapat dilakukan dengan menggunakan beberapa macam radikal bebas, seperti DPPH, superoksida, dan hidroksil.

2.9.1 Uji Antioksidan dengan DPPH

Uji ini dapat dilakukan secara spektrofotometer pada panjang gelombang 515 nm. DPPH akan direduksi oleh antioksidan membentuk DPPH-H yang berwarna kuning, dan absorbansinya dapat diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Reaksi yang terjadi adalah seperti pada gambar 2.12.

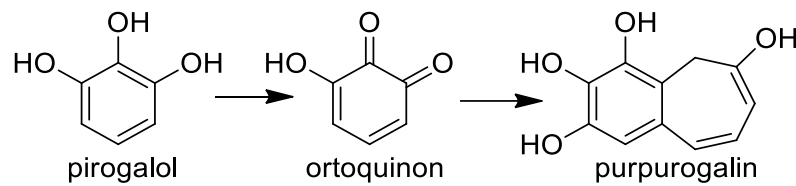


Gambar 2.12 Reaksi radikal DPPH dengan antioksidan
(Sumber: Soler-rivas *et al*, 2000)

Data yang diperoleh dapat digunakan untuk menghitung nilai IC_{50} melalui persen peredaman radikal. Nilai IC_{50} menyatakan kemampuan suatu antioksidan dalam menurunkan aktivitas radikal bebas sebanyak 50% (Soler-rivas *et al*, 2000).

2.9.2 Uji Aktivitas Antioksidan dengan Superoksida

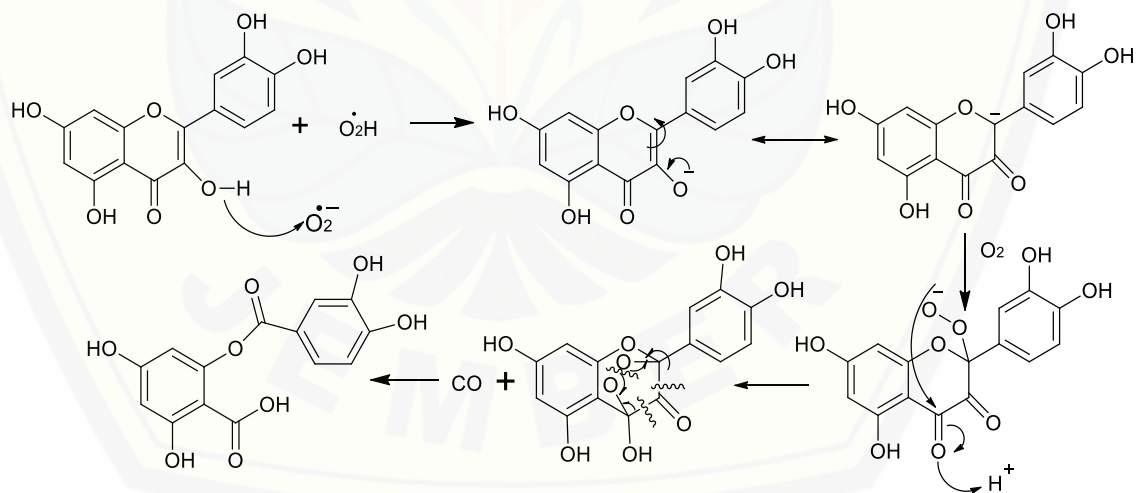
Uji ini dilakukan secara spektrofotometri dengan melibatkan reaksi autooksidasi senyawa pirogalol yang menyebabkannya berubah menjadi senyawa berwarna kuning. Autooksidasi pirogalol pada kondisi basa menghasilkan superoksida dan ortoquinon, dimana ortoquinon yang terbentuk juga akan dioksidasi lebih lanjut membentuk purpurogalin oleh anion superoksida. Senyawa purpurogalin itulah yang akan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 320 nm. Reaksi oksidasi pirogalol seperti pada gambar 2.13.



Gambar 2.13 Reaksi oksidasi pirogalol (Sumber: Tauber, 1953)

Pengukuran absorbansi akan dilakukan secara berkala selama 4 menit untuk memperoleh nilai *slope*, dimana nilai *slope* tersebut menyatakan laju pembentukan purpurogalin. Laju pembentukan purpurogalin berbanding lurus dengan konsentrasi radikal superoksida, karena radikal superoksida adalah zat oksidator senyawa ortoquinon. Antioksidan dalam hal ini bekerja dengan mereduksi superoksida sehingga purpurogalin yang terbentuk semakin sedikit (Tauber, 1953).

Senyawa fenolik merupakan golongan senyawa aktif yang dapat berperan sebagai antioksidan. Salah satu golongan fenolik yang berperan sebagai antioksidan adalah kuersetin. Mekanisme peredaman radikal superoksida oleh kuersetin adalah seperti pada gambar 2.14.

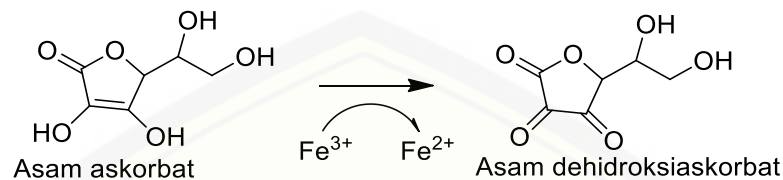


Gambar 2.14 Reaksi peredaman radikal superoksida oleh kuersetin (Sumber: Krishnamachari, *et al.*, 2002)

2.9.3 Uji Aktivitas Antioksidan dengan Hidroksil

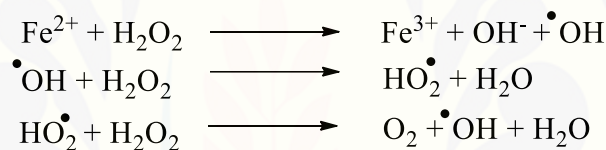
Radikal hidroksil merupakan jenis radikal yang dihasilkan akibat adanya autooksidasi glukosa melalui reaksi yang terjadi antara anion superoksida dengan hidrogen peroksida yang dikatalisis oleh logam transisi. Menurut Gutteridge dan

Halliwell (1998) secara *in vitro*, radikal superoksida dapat dihasilkan melalui reaksi Fenton. Pembentukan radikal hidroksil diawali dengan proses reduksi ion Fe^{3+} dalam kompleks Fe^{3+} -EDTA oleh asam askorbat membentuk ion Fe^{2+} . Reaksi reduksi ion Fe^{3+} dapat dilihat pada gambar 2.15.

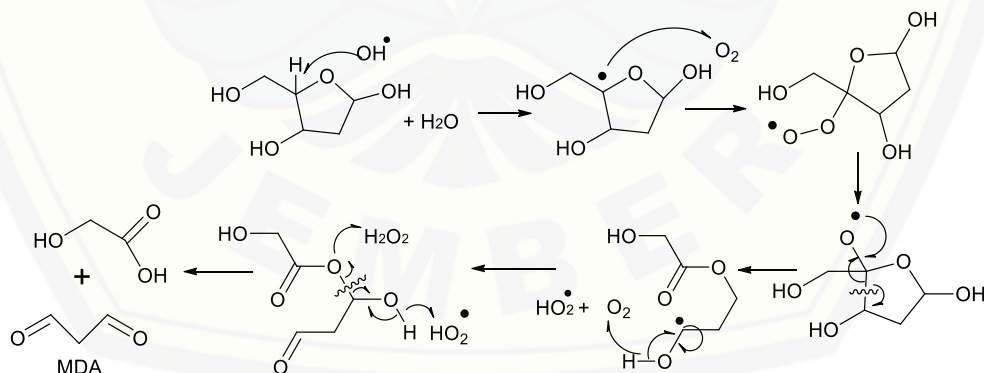


Gambar 2.15 Reaksi reduksi ion Fe^{3+} menjadi Fe^{2+} oleh asam askorbat
(Sumber: Gutteridge dan Halliwell, 1988)

Ion Fe^{2+} yang dihasilkan selanjutnya akan dioksidasi oleh hidrogen peroksida hingga menghasilkan radikal hidroksil melalui reaksi Fenton. Reaksi terjadi seperti pada persamaan di bawah ini

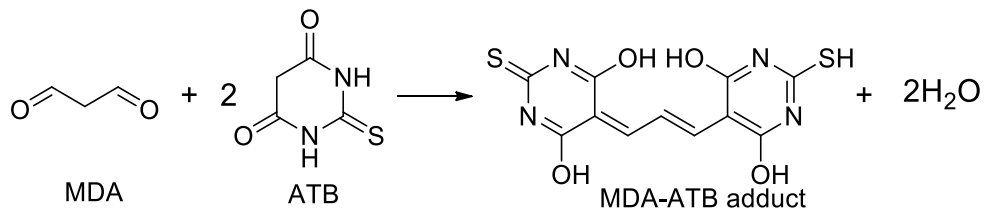


Radikal hidroksil tersebut, selanjutnya akan bereaksi dengan 2-deoksi-D-ribosa hingga menghasilkan produk campuran, salah satunya malondialdehid (MDA). Reaksi yang terjadi adalah seperti pada gambar 2.16.



Gambar 2.16 Reaksi radikal hidroksil dengan 2-deoksi-D-ribosa
(Sumber: Cheeseman *et al.*, 1988)

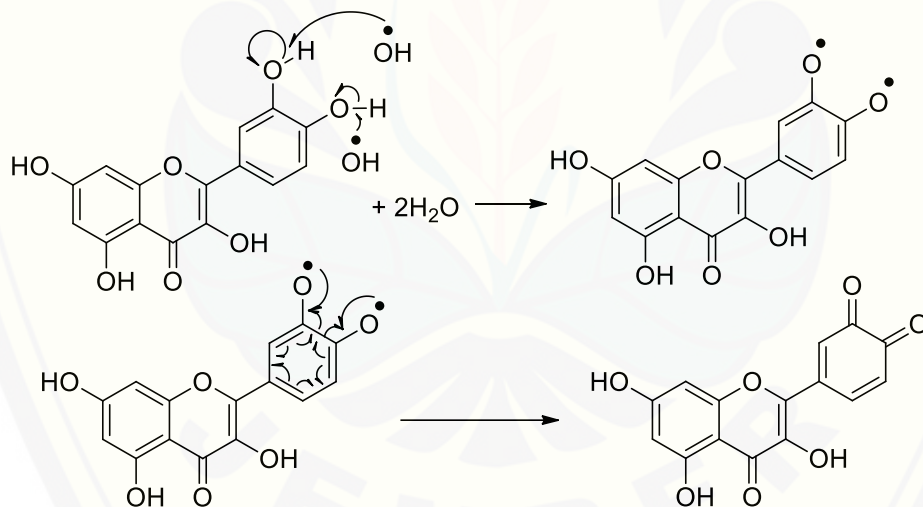
Reaksi akan terus terjadi, dimana MDA akan bereaksi dengan asam-2-tiobarbiturat (ATB) membentuk produk *adduct* MDA-ATB, seperti pada seperti pada gambar 2.17



Gambar 2.17 Reaksi pembentukan MDA-ATB *adduct*
(Sumber: Gutteridge dan Halliwell, 1988)

Produk inilah yang selanjutnya akan digunakan dalam pengukuran secara spektrofotometri karena menghasilkan warna merah muda. Senyawa tersebut akan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 532 nm (Gutteridge dan Halliwell, 1988).

Senyawa fenolik merupakan golongan senyawa yang berperan sebagai antioksidan. Salah satu jenis senyawa fenolik tersebut adalah kuersetin. Reaksi peredaman radikal hidroksil oleh kuersetin seperti pada gambar 2.18.



Gambar 2.18 Reaksi peredaman hidroksil oleh kuersetin
(Sumber: Bubols *et al.*, 2013)

BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilakukan pada bulan Desember 2019 sampai Agustus 2020 dan bertempat di CDAST (*Center for Development of Advanced Science and Technology*). Penelitian juga dilakukan di Laboratorium Biokimia dan Kimia Organik Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari alat gelas, instrumen, dan non gelas. Alat gelas yang digunakan meliputi tabung reaksi, gelas ukur, labu ukur, gelas kimia, erlenmeyer, labu ukur, pipet tetes, batang pengaduk, kaca arloji, corong pisah, pipet Mohr dan pipet volume. Peralatan instrumen terdiri dari *blender*, set spektrofotometer UV-Vis, pH meter, pemanas, inkubator, vortex, *shaker*, neraca analitik, evaporator vakum, *stirrer* dan *magnetic stirrer*, *microplate readers*, dan *96-well plates*. Peralatan non gelas terdiri dari *ependorf*, mikro pipet, *ball pipet*, ayakan, botol semprot, *stopwatch*, kertas label, kertas saring, spatula, kain gelap, dan aluminium foil.

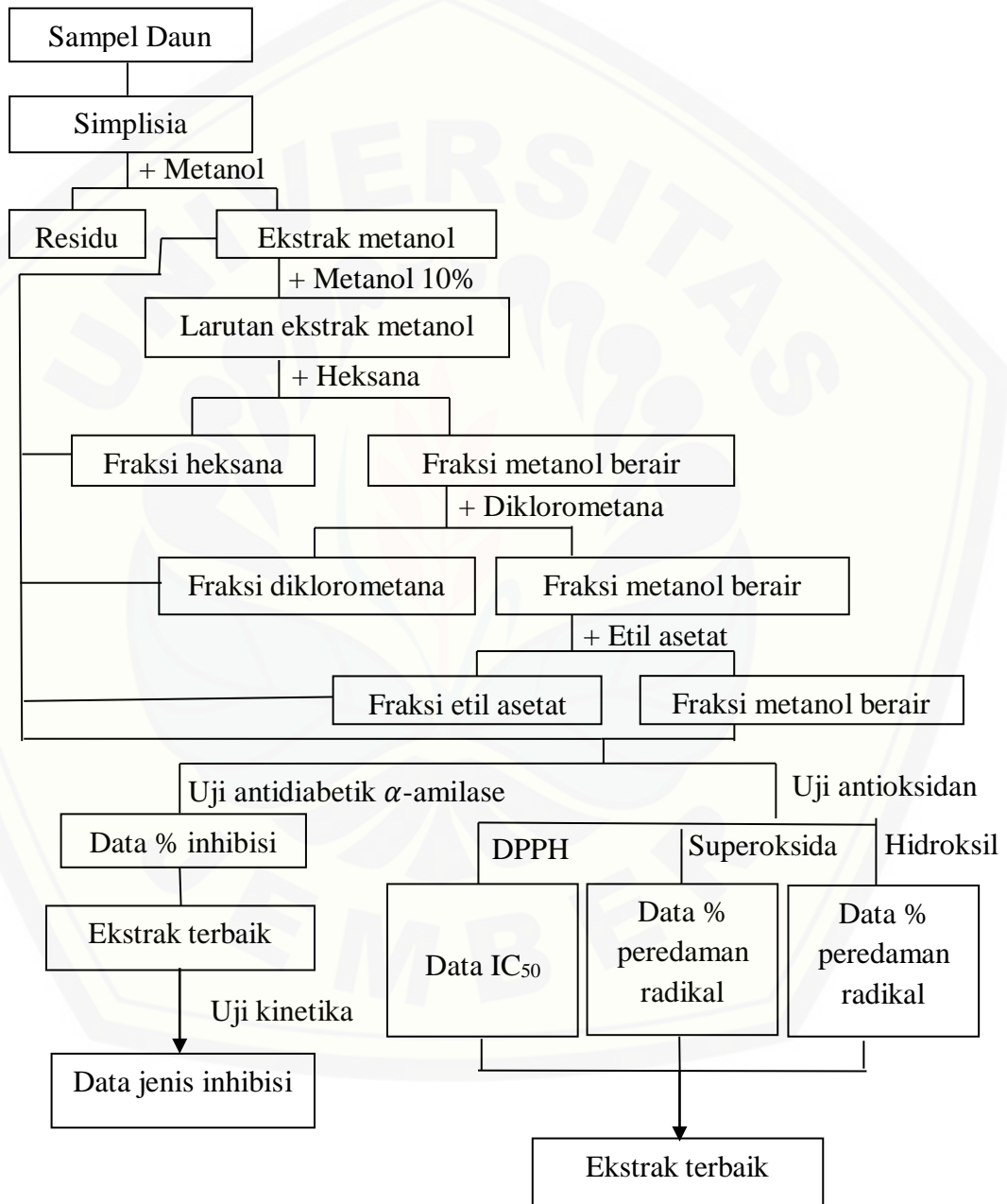
3.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam percobaan ini meliputi daun jambon, akuades, heksana (Merck), diklorometana, etil asetat (Merck), metanol (Merck), akarbosa (*Glucobay*), maltosa, dimetilsulfoksida (DMSO) (Merck), enzim α -amilase (Sigma-Aldrich), natrium hidrogen fosfat (Na_2HPO_4) (*nacalai tasque*), natrium dihidrogen fosfat (NaH_2PO_4), amilum terlarut (Merck), dinitrosalisilat (DNS) (Merck), kalium natrium tartrat (Merck), natrium hidroksida (NaOH) (Merck), natrium sulfit (NaSO_3), fenol (Sigma-Aldrich), vitamin C (*nacalai tasque*), *1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl* (DPPH) (*nacalai tasque*), tris-base (*nacalai tasque*), asam klorida (HCl) (Merck), 2-deoksi-D-ribosa (Sigma-Aldrich), pirogalol (Sigma-Aldrich), *ethylenediaminetetraacetic acid* (EDTA) (*nacalai tasque*), hidrogen peroksida (H_2O_2) (Sigma-Aldrich), besi (II) sulfat (FeSO_4) (Merck),

asam askorbat, asam 2-tiobarbiturat (ATB) (Sigma-Aldrich), asam trikloroasetat (ATC) (Merck).

3.3 Rancangan Penelitian

3.3.1 Diagram Alir Penelitian



3.3.2 Prosedur Pelaksanaan Penelitian

a. Pembuatan Simplisia Daun Jambon

Daun jambon yang telah dibersihkan, kemudian dikeringkan tanpa terkena sinar matahari langsung untuk menjaga agar tidak ada senyawa yang rusak. Sampel kering kemudian dihaluskan menggunakan blender hingga membentuk serbuk. Serbuk sampel kemudian diayak menggunakan ayakan 60 *mesh* agar ukurannya seragam.

b. Uji Kadar Air

Uji kadar air simplisia dilakukan berdasarkan metode AOAC (2000) yang telah dimodifikasi. Uji kadar air diawali dengan menimbang massa cawan kosong yang telah dioven selama 3 jam pada suhu 105 °C dan didesikator selama 30 menit. Simplisia masing-masing ditimbang sebanyak 3 gram kemudian dimasukkan ke dalam cawan tersebut kemudian dioven kembali selama 3 jam pada suhu 105 °C. Sampel selanjutnya didinginkan di dalam desikator selama 30 menit. Sampel ditimbang massanya, kemudian dioven kembali pada suhu 105 °C selama 1 jam dan didinginkan kembali dalam desikator selama 15 menit. Proses tersebut terus diulangi sampai sampel memiliki massa yang konstan. Nilai kadar air dapat diketahui melalui persamaan 3.1

$$\text{Kadar Air (\%)} = \frac{W_1 - W_2}{W_1} \times 100\% \quad \dots(3.1)$$

Keterangan:

W_1 : massa sampel sebelum pengeringan (g)

W_2 : massa sampel setelah pengeringan (g)

c. Ekstraksi Sampel

Proses ekstraksi dilakukan dengan menggunakan dua metode, yaitu maserasi dan ekstraksi cair-cair. Ekstraksi dilakukan dengan menggunakan empat macam pelarut secara bertingkat berdasarkan tingkat kepolarannya. Ekstraksi pertama dilakukan dengan metode maserasi, dimana sebanyak 100 gram direndam ke dalam 450 mL metanol, kemudian dimaserasi selama 24 jam disertai pengadukan dengan *magnetic stirrer* dalam suhu ruang. Campuran kemudian difiltrasi hingga diperoleh ekstrak metanol dan residu simplisia. Residu tersebut ditambahkan

pelarut metanol kembali hingga jernih. Ekstrak metanol yang diperoleh selanjutnya dievaporasi pada suhu 40 °C hingga diperoleh *crude* ekstrak metanol.

Fraksinasi dilakukan dengan menambahkan 200 mL metanol 10% terhadap 4 gram *crude* ekstrak dan dishaker selama 3 jam. Campuran kemudian difraksinasi menggunakan metode ekstraksi cair-cair dengan pelarut heksana, diklorometana dan etil asetat secara berurutan. Proses fraksinasi dilakukan dengan menambahkan pelarut ke dalam larutan *crude* ekstrak dengan perbandingan volume 1:1, kemudian di *stirrer* selama 1 jam. Campuran kemudian dipindahkan ke corong pisah. Proses ini akan menghasilkan cairan dengan fasa yang berbeda, sehingga harus dipisahkan berdasarkan data massa jenis untuk mendapatkan fraksi yang diinginkan. Residu yang dihasilkan digunakan untuk fraksinasi kembali dengan pelarut selanjutnya. Tiap fraksi dievaporasi untuk menghilangkan pelarutnya, kemudian ditimbang massanya.

d. Uji Inhibisi α -amilase

Uji inhibisi α -amilase dilakukan sesuai dengan metode Hashim *et al.* (2013) yang telah dimodifikasi. Penelitian ini melibatkan tiga jenis larutan, yaitu sampel (S), kontrol (C), dan standar (A). Tiap sampel dilarutkan dalam DMSO 10% (dalam buffer fosfat pH 6,9) hingga diperoleh konsentrasi 100 $\mu\text{g/mL}$. Larutan sampel diambil masing-masing sebanyak 30 μL dan dimasukkan ke dalam dua *microtube* yang diberi label S⁺ dan S⁻. Larutan kontrol dibuat dengan menambahkan DMSO 10% masing-masing sebanyak 30 μL ke dalam dua *microtube* berlabel C⁺ dan C⁻. Larutan standar dibuat dengan menggunakan akarbosa sebanyak masing-masing 30 μL sebagai inhibitor sintesis dan dimasukkan ke dalam dua *microtube* berlabel A⁺ dan A⁻. Enzim α -amilase (0,15 unit/mL) ditambahkan ke dalam tabung berlabel S⁺, C⁺, dan A⁺ sebanyak 45 μL , sedangkan pada tabung berlabel S⁻, C⁻, dan A⁻ ditambahkan *buffer* fosfat pH 6,9 sebanyak 45 μL . Semua *microtube* kemudian divortex dan diprainskubasi pada suhu 37 °C selama 20 menit. Larutan selanjutnya ditambah dengan 75 μL amilum 1% (w/v) lalu divortex dan diinkubasi kembali pada suhu 37 °C selama 25 menit. Reaksi enzimatik dihentikan dengan cara memanaskan semua larutan pada suhu 100 °C selama 1 menit. Larutan kemudian didinginkan dan diuji menggunakan

reagen DNS sebanyak 75 μL . Semua larutan dipanaskan pada suhu 75 $^{\circ}\text{C}$ selama 15 menit, dan hasilnya diencerkan menggunakan akuades sebanyak 675 μL . Setiap larutan diukur absorbansinya dengan panjang gelombang 540 nm. Hasil inhibisi dari masing-masing larutan diketahui dari persamaan 3.2:

$$\text{Persen inhibisi} = \left(\frac{(C^+ - C^-) - (S^+ - S^-)}{C^+ - C^-} \right) \times 100\% \quad \dots(3.2)$$

Dimana C^+ adalah kontrol positif (dengan enzim), C^- adalah kontrol negatif (tanpa enzim), S^+ adalah sampel positif (dengan enzim), S^- adalah sampel negatif (tanpa enzim), A^+ adalah standar positif (dengan enzim), dan A^- adalah standar negatif (tanpa enzim).

e. Uji Kinetika Inhibisi α -Amilase Ekstrak Dengan Aktivitas Antidiabetik Terbaik

Uji kinetika inhibisi dilakukan menggunakan metode Hashim *et al.* (2013) yang sudah dimodifikasi. Persiapan sampel dilakukan seperti prosedur 3.3.2 (d) dengan variasi konsentrasi amilum dan waktu inkubasi yang diterapkan, serta perubahan suhu pemanasan setelah penambahan DNS menjadi 100 $^{\circ}\text{C}$ selama 5 menit. Konsentrasi amilum yang digunakan adalah 1%; 0,5%; 0,25%; 0,125%; dan 0,0625%. Waktu inkubasi yang digunakan masing-masing konsentrasi adalah 0, 3, 6, 9, 12, 18, 21 menit. Masing-masing sampel diukur absorbansinya, kemudian konsentrasi maltosa yang dihasilkan dapat diketahui menggunakan kurva standar maltosa. Hasil yang diperoleh diplotkan ke dalam kurva dengan sumbu y konsentrasi maltosa (ppm) dan sumbu x adalah waktu (menit). Persamaan garis yang diperoleh dari kurva tersebut dapat digunakan untuk mengetahui nilai V_0 melalui gradien yang dihasilkan. Nilai V_0 yang diperoleh dari setiap konsentrasi amilum kemudian digunakan untuk membuat kurva Lineweaver-Burk dengan sumbu y adalah $\frac{1}{V_0}$ dan sumbu x adalah $\frac{1}{[S]}$ sesuai dengan gambar 2.10. Persamaan garis yang diperoleh dari kurva Lineweaver-Burk kemudian digunakan untuk menentukan nilai K_M dan V_{\max} , dimana kedua variabel tersebut dapat digunakan untuk menentukan tipe inhibisi dari inhibitor yang ditambahkan.

f. Uji Aktivitas Antioksidan Radikal DPPH

Uji ini dilakukan dengan menggunakan metode Soler-Rivas *et al.* (2000). Sampel dilarutkan menggunakan metanol kemudian dibuat menjadi larutan dengan 6 konsentrasi yang berbeda. Larutan sampel kemudian masing-masing diambil sebanyak 400 μL dimasukkan ke dalam *microtube*. Metanol digunakan sebagai kontrol negatif dan vitamin C digunakan sebagai standarnya. Setiap larutan kemudian ditambahkan DPPH 100 μM dalam metanol sebanyak 800 μL . Semua fraksi ekstrak diinkubasi 30 menit dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 515 nm. Data absorbansi yang diperoleh digunakan untuk menghitung persen peredaman radikal dengan persamaan 3.3

$$\text{Persen peredaman radikal} = \left[\frac{(A_0 - A_1)}{A_0} \right] \times 100\% \quad \dots(3.3)$$

Dimana A_0 adalah nilai absorbansi kontrol dan A_1 adalah absorbansi sampel. Hasil yang diperoleh digunakan untuk mengetahui nilai IC_{50} radikal DPPH dengan cara mengplotkan persen peredaman radikal terhadap konsentrasinya. Persamaan garis yang diperoleh kemudian dimasukkan ke dalam persamaan 3.4 berikut

$$\text{IC}_{50} = \frac{50 - a}{b} \quad \dots(3.4)$$

Dimana nilai variabel a dan b sesuai dengan persamaan $y = bx + a$

g. Uji Aktivitas Antioksidan Radikal Anion Superoksida

Penelitian dilakukan sesuai metode Tang *et al.* (2010), dimana setiap sampel dilarutkan ke dalam metanol hingga diperoleh larutan sampel dengan konsentrasi 100 $\mu\text{g/mL}$. Larutan sampel diambil sebanyak 100 μL , kemudian ditambah dengan *buffer* Tris-HCl 50 mM pH 8,2 sebanyak 850 μL . Standar yang digunakan adalah vitamin C. Semua sampel diinkubasi pada 25 $^{\circ}\text{C}$ selama 10 menit, kemudian ditambah pirogalol 10 mM (dalam HCl 10 mM) sebanyak 50 μL . Absorbansi setiap sampel diukur selama 4 menit menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 320 nm. Hasil yang diperoleh digunakan untuk mengukur persen inhibisi sesuai dengan persamaan 3.5

$$\text{Persen peredaman radikal} = \left[\frac{(A_0 - A_1)}{A_0} \right] \times 100\% \quad \dots(3.5)$$

Dimana A_0 adalah *slope* kontrol dan A_1 adalah *slope* sampel.

h. Uji Aktivitas Antioksidan Radikal Hidroksil

Penelitian dilakukan menggunakan metode Halliwell *et al.* (1987), dimana suatu larutan dibuat dengan mereaksikan tiap fraksi ekstrak (30 μL), 2-deoksi-D-ribosa (28 mM, 10 μL) dalam *buffer* fosfat (20 mM; pH 7,4), EDTA (1 mM, 20 μL), H_2O_2 (1 mM, 10 μL), dan FeSO_4 (10 mM, 20 μL). Larutan tersebut dimasukkan ke dalam *microplate* yang berbeda untuk setiap fraksi ekstrak, dimana tiap sampel terdapat sampel tanpa 2-deoksi-D-ribosa (-) dan dengan 2-deoksi-D-ribosa (+). Semua larutan diinkubasi selama 1 jam pada suhu 37 °C, kemudian ditambahkan ATB (1%, 100 μL) dan ATC (2,8%; 100 μL). Larutan selanjutnya diinkubasi pada suhu 100 °C selama 20 menit hingga larutan berwarna merah muda. Semua larutan kemudian didinginkan dan diukur absorbansiya pada panjang gelombang 532 nm menggunakan *microplate reader*. Standar yang digunakan dalam uji ini adalah vitamin C. Nilai absorbansi yang diperoleh digunakan untuk mengetahui persen inhibisi yang dihasilkan melalui persamaan 3.6.

$$\text{Persen peredaman radikal} = \left[\frac{(A-B)}{A} \right] \times 100\% \quad \dots(3.6)$$

Dimana A_0 adalah absorbansi kontrol tanpa 2-deoksi-D-ribosa, A_1 adalah absorbansi kontrol dengan 2-deoksi-D-ribosa, A adalah hasil A_0-A_1 , B_0 adalah absorbansi sampel tanpa 2-deoksi-D-ribosa, B_1 adalah absorbansi sampel dengan 2-deoksi-D-ribosa, dan B adalah hasil B_0-B_1 .

3.4 Tabulasi Data

3.4.1 Kadar Air Simplisia

Tabel 3.1 Tabulasi data kadar air simplisia

Massa Awal (g)	Massa Akhir (g)	Kadar air (%)	Rata-rata kadar air (%)
----------------	-----------------	---------------	-------------------------

3.4.2 Persen Rendemen Ekstrak

Tabel 3.2 Tabulasi data persen rendemen ekstrak

Sampel	Berat Ekstrak (g)	Rendemen (%)

3.4.3 Persen Inhibisi α -AmilaseTabel 3.3 Tabulasi data absorbansi sampel dan standar uji inhibisi α -amilase

Sampel	Abs C ⁺	Abs C ⁻	C	Abs S ⁺	Abs S ⁻	% Inhibisi	% Inhibisi Rata- Rata

3.4.4 Kinetika Reaksi Sampel Terbaik

Tabel 3.4 Tabulasi data absorbansi tiap konsentrasi amilum

Waktu	C ⁻	C ⁺	S ⁻	S ⁺	C ⁻ (ppm)	C ⁺ (ppm)	C (ppm)	C ₀ (ppm)	S ⁻ (ppm)	S ⁺ (ppm)	S (ppm)	S ₀ (ppm)
0												
3												
6												
9												
12												
18												
21												

Tabel 3.5 Tabulasi data penentuan v_0 kontrol dan sampel

[S] (%)	Persamaan Linier		v_0 Kontrol (ppm/menit)	v_0 Sampel (ppm/menit)	$1/v_0$ Kontrol	$1/v_0$ Sampel	$1/[S]$
	Kontrol	Sampel					
0,0625							
0,125							
0,25							
0,5							
1							

Tabel 3.6 Tabulasi data penentuan v_{\max} dan K_M

	Persamaan linier		v_{\max} Kontrol (ppm/menit)	v_{\max} Sampel (ppm/menit)	K_M Kontrol (g/mL)	K_M Sampel (g/mL)
	Kontrol	Sampel				
K1						
K2						
K3						
Av						
SD						

Keterangan : K1,2,3 = kinetika reaksi inhibisi pengulangan 1,2,3; Kontrol = tanpa inhibitor; Sampel = ditambahkan inhibitor; Av = rata-rata, SD = standar deviasi

3.4.5 Peredaman Radikal DPPH

Tabel 3.7 Tabulasi data absorbansi peredaman radikal DPPH

[Ekstrak] ($\mu\text{g/ml}$)	Abs A^0			Abs A^1			% Peredaman		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
1									
2									
3									
4									
5									
6									

Tabel 3.8 Tabulasi IC_{50} peredaman radikal DPPH

Sampel	Pengulangan	IC_{50} ($\mu\text{g/ml}$)	Rata-rata IC_{50} ($\mu\text{g/ml}$)
	1		
	2		
	3		

3.4.6 Peredaman Radikal Superoksida

Tabel 3.9 Tabulasi data absorbansi peredaman radikal superoksida

Sampel	A_0	Rata-rata A_0	A_1	Regresi	% Peredaman	Rata-rata % Peredaman

3.4.7 Peredaman Radikal Hidroksil

Tabel 3.10 Tabulasi data absorbansi peredaman radikal hidroksil

Sampel	Absorbansi			% Peredaman			Rata-rata % Peredaman
	1	2	3	1	2	3	



BAB 5. PENUTUP

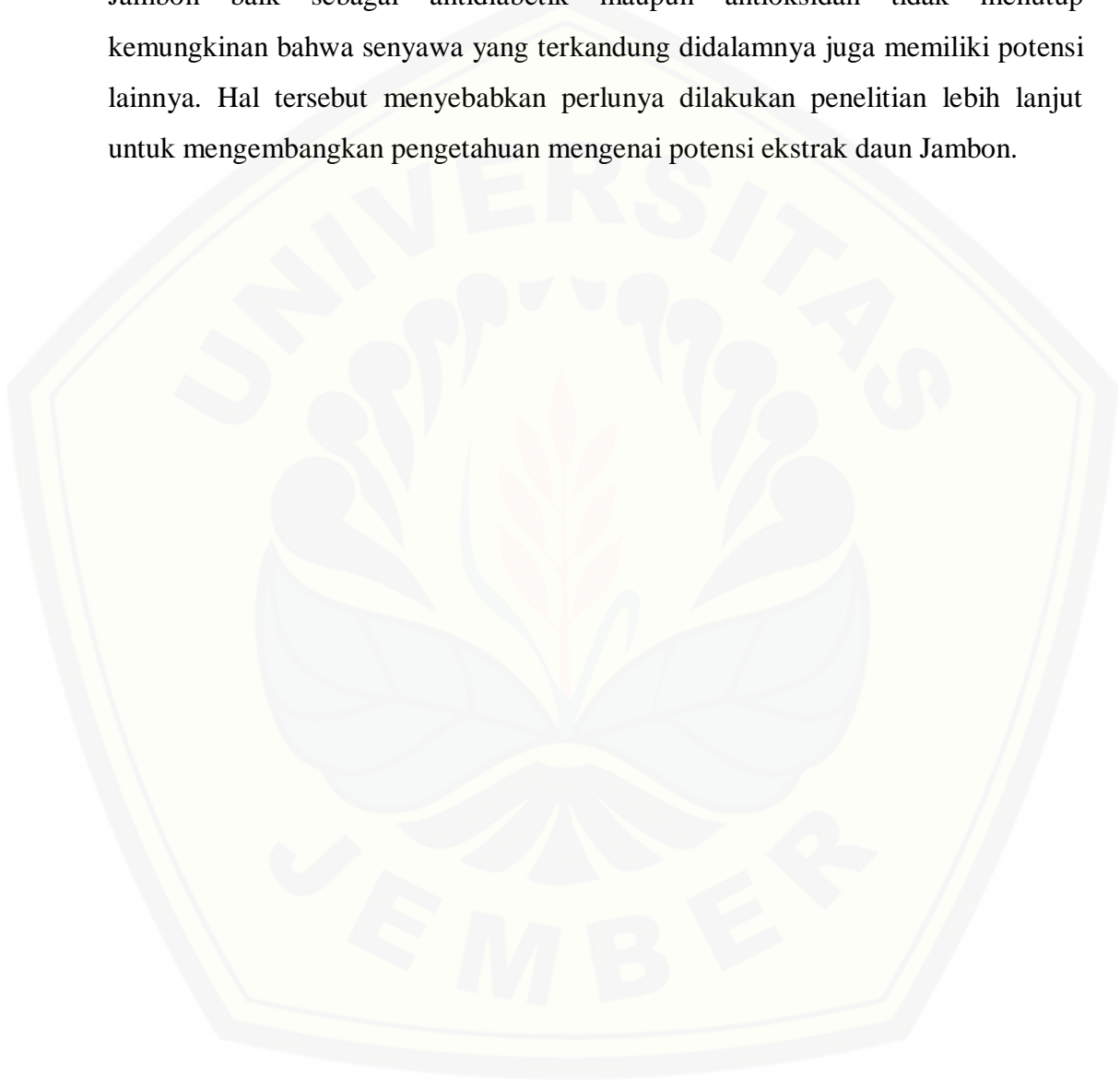
5.1 Kesimpulan

Kesimpulan yang diperoleh pada penelitian ini, antara lain:

1. Ekstrak daun Jambon dapat berperan sebagai antidiabetik karena memiliki aktivitas inhibisi terhadap kerja enzim α -amilase dengan persen inhibisi M, H, DCM, EA, MA (ekstrak metanol, fraksi heksana, diklorometana, etil asetat dan metanol berair) berturut-turut 93,350%, 24,615%, 17,875%, 6,309%, 85,563% dan 94,365%. Ekstrak metanol dinyatakan berpotensi sebagai antidiabetik karena menghasilkan persen inhibisi yang tidak jauh berbeda dibandingkan dengan standar akarbosa, yaitu sebesar 94,503%.
2. Ekstrak daun Jambon memiliki aktivitas antioksidan terhadap radikal DPPH, superoksida, dan hidroksil. Ekstrak metanol menunjukkan aktivitas peredaman terbaik terhadap radikal DPPH dan superoksida, dengan nilai berturut-turut 12,28 $\mu\text{g/mL}$ dan 26,33%. Fraksi metanol berair menjadi fraksi terbaik dalam meredam radikal hidroksil dengan persen peredaman 32,127%. Daun Jambon dapat dikatakan berpotensi sebagai antioksidan karena memiliki aktivitas peredaman yang tidak jauh berbeda dari standar vitamin C yang digunakan.
3. Uji kinetika menunjukkan bahwa ekstrak metanol dapat menghambat kerja amilase dengan tipe inhibisi non-kompetitif, dimana inhibitor akan menyerang enzim saat dalam bentuk enzim bebas dan saat terbentuk enzim-substrat. Tipe inhibisi tersebut menyebabkan terjadinya penurunan v_{max} dari $31,270 \pm 0,978$ ppm/menit menjadi $3,639 \pm 0,127$ ppm/menit, sedangkan nilai K_M tidak jauh berbeda, yaitu dari $0,239 \pm 0,012$ g/mL menjadi $0,222 \pm 0,008$ g/mL.

5.2 Saran

Penelitian lebih lanjut dapat dilakukan terhadap fraksi metanol berair diperlukan untuk mengetahui jenis senyawa yang berperan dalam aktivitas peredaman radikal hidroksil. Tingginya aktivitas yang dihasilkan ekstrak daun Jambon baik sebagai antidiabetik maupun antioksidan tidak menutup kemungkinan bahwa senyawa yang terkandung didalamnya juga memiliki potensi lainnya. Hal tersebut menyebabkan perlunya dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengembangkan pengetahuan mengenai potensi ekstrak daun Jambon.



DAFTAR PUSTAKA

- Alam, R. Md., A. B. Rahman, Md. Moniruzzaman, M. F. Kadir, Md. A. Haque, M. R. Alvi, dan, Md. Ratan. 2012. Evaluation of antidiabetic phytochemicals in *Syzygium cumini* (L.) Skeels (Family: Myrtaceae). *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. 2(10): 094-098.
- AOAC. 2000. *Official Methods of Analysis*. Washington D.C. : The Association of Analytical Chemist.
- Atkins, P., dan J. D. Paula. 2010. *Physical Chemistry Ninth Edition*. New York: W. H. Freeman and Company
- Badan Penelitian Dan Pengembangan Kesehatan. 2000, 2001, 1993, 1997, 1999, 2006. *Iventaris Tanaman Obat Indonesia I (Jilid I –II), II, III, IV, V, VI*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI.
- Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia (BPOM). 2008. *Pusat Informasi Obat Nasional: Insulin*. <http://pionas.pom.go.id/monografi/insulin> [diakses pada 21 April 2019].
- Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia (BPOM). 2015. *Pusat Informasi Obat Nasional: Akarbosa*. <http://pionas.pom.go.id/monografi/akarbosa> [diakses pada 21 April 2019].
- Bastos, J. F. A., I. J. A. Moreira, T. P. Ribeiro, I. A. Medeiros, A. R. Antonioli, D. P. D. Sousa., dan M. R. V. Santos. 2009. Hpotensive and vasorelaxant effects of citronellol, a monoterpene alcohol, in rats. *Nordic Pharmacological Society. Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*. (106) 331–337.
- Bubols, G. B., D. D. R. Vianna, A. Medina-Reyon, G.V. Poser, R. Lamuela-Ravantos, V. Eifler-Lima, dan S. C. Gracia. 2013. The antioxidant activity of coumarins and flavonoids. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*. 13: 000-000.
- Cuppet, S., M. Schrepf, dan C. Hall. 1954. Natural Antioxidant-Are They Reality. *In: Natural Antioxidants, Chemistry, Health Effect and Applicatins*. Illinois: AOCS Press.
- Chesseman. K. H., A. Beavis, dan H. Esterbauer. 1998. Hydroxyl-radical-induced iron-catalysed degradation of 2-deoxyribose. *Biochem. J*. 252: 649-653
- Duh, P. D., Y. Y. Tu, dan G. C. Yen. 1999. Antioxidant Activity of Water Extract of Harnng Jyur (*Chrysanthemum morifolium* Ramat). *Lebensm.-Wiss. u.-Technol*. 32: 269d277.

- FaggidaE, V. P. A. 2013. Perbandingan Metode Ekstraksi Cair-Cair dan Ultrasonik untuk Pemisahan Pirantel, Pamoat dari Sediaan Suspensi Merk "X". *Skripsi*. Yogyakarta: Universitas Sanata Dharma.
- Félix-silva, J., R. B. Giordani, A. A. Silva-jr, S. M. Zucolotto, dan M. D. F. Fernandes-pedrosa. 2014. A review of traditional uses, phytochemistry, pharmacology, and toxicology of this medicinal plant. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2014:2–32.
- Flohe, R. G. 2006. Bioactivity of vitamin E. *Nutrition Research Reviews*. (19): 174–186
- Gandjar, I.G. dan A. Rohman. 2007. *Kimia Analisis Farmasi Edisi I*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Garcia-Salas, P., A. Morales-Soto, A. Segura-Carretero, dan A. Fernandez-Gutierrez. 2010. Phenolic compound extraction extraction system for fruit and vegetable samples. *Molecules*. 15: 8813-8826.
- Guigliano, D., A. Cerriello, dan G. Paolisso. 1996. Oxidative stress and diabetic vascular complications. *Diabetes Care*. 19(3), 257–267.
- Gutteride, J. M. dan B. Halliwell. 1988. The deoxyribose assay: an assay both for 'free' hidroxy radical and for site-specific hydroxyl radical production. *BJ Letters*. 253: 932-933.
- Harborne, J.B. 1987. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Bandung: Penerbit ITB.
- Hashim, A., M. S. Khan, M. S., Khan, M. H. Baig, dan S. Ahmad. 2013. Antioxidant and α -amylase inhibitory property of phyllanthus virgatus l.: an in vitro and molecular interaction study. *BioMed Research International*.
- Halliwell, B., J. M. C. Gutteridge, dan O. I. Arouma. 1987. The deoxyribose method: a simple test tube assay for the determination of rate constants for reactions of hydroxyl radicals. *Anal. Biochem*. 165: 215-219.
- Hilario, A. L., 2018. Evaluation of the anti-hyperglycemic property of the philippine duhat (*Syzygium cumini*), crude methanolic leaf extract on glucose challenged hyperglycemic mice. *Der Pharma Chemica*. 10(6): 21–24.
- Houghton, P. J. dan A. Raman. 1998. *Laboratory Handbook for the Fractination of Natural Extracts*. London: Chapman & Hall.
- IDF (*The International Diabetes Federation*). 2015. *IDF Diabetes Atlas Seventh Edition*. www.idf.org [Diakses pada 21 April 2019].
- IDF (*The International Diabetes Federation*). 2017. *IDF Diabetes Atlas Eighth Edition*. www.idf.org [Diakses pada 21 April 2019].

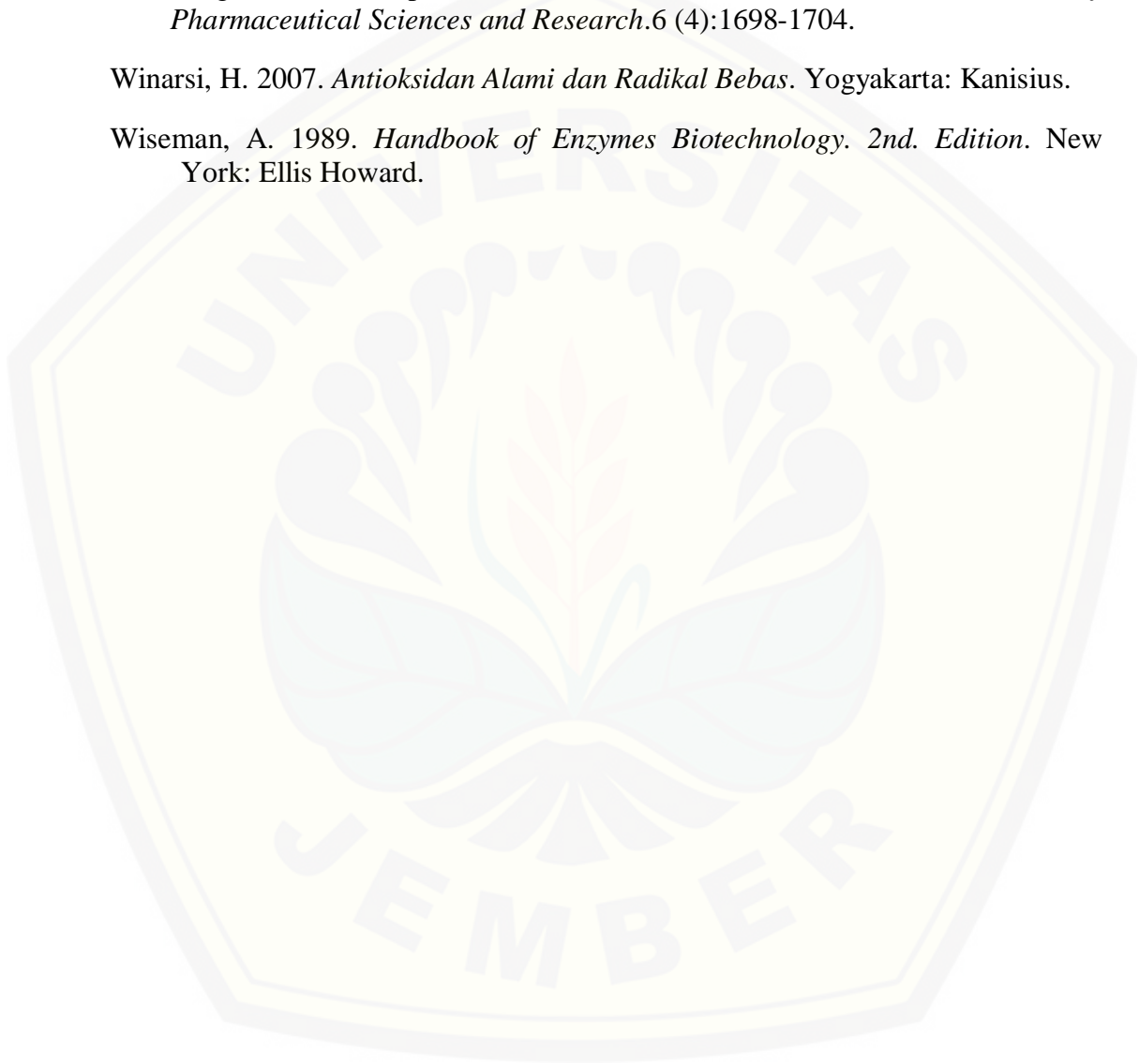
- Jahangir, T., T. H. Khan, L. Prasad, dan S. Sultana. 2005. Alleviation of free radical mediated oxidative and genotoxic effects of cadmium by farnesol in Swiss albino mice. *Redox Rep.* 10(6):303-10.
- Jerónimo, E., C. Pinheiro, E. Lamy, M. T. Dentinho, E. S. Baptista, O. Lopes, dan F. C. Silva. 2016. Tannins in ruminant nutrition: impact on animal performance and quality of edible products. In: *Tanin Biochemistry, Food Sources And Nutritional Properties*. New York: Nova Science Publishers
- Juanda, D., W. Aligita, R. Hartati, dan S. Musaad. 2018. Antioxidant and alpha glucosidase inhibition activity of kupa (*Syzygium polychepalum* Miq.) cortex. *International Journal of Pharmaceutical and Phytopharmacological Research (eIJPPR)*. 8(3): 33-38. ISSN (Online) 2249-6084.
- Katzung, B.G. 2002. *Farmakologi Dasar dan Klinik*. Surabaya: Salemba Medika.
- Kebun Raya Cibodas. 2019. *Kebun Raya Cibodas*. <https://krcibodas.lipi.go.id/statistik-jumlah-koleksi-tanaman/>. [Diakses pada 11 September 2019].
- Kementrian Kesehatan RI. 2014. *Pusat Data dan Informasi*. Jakarta Selatan: Kementrian Kesehatan RI.
- Kim, S. K., dan F. Karadeniz. Biological importance and applications of squalene and squalane. *Advances in Food and Nutrition Research*. (65) 1043-4526.
- Khopkar, S.M., 1990. *Konsep Dasar Kimia Analitik*. Jakarta: Universitas Indonesia.
- Krause, D. O., W.J. M. Smith, J. D. Brooker, dan C. S. McSweeny. 2005. Tolerance mechanisms of streptococci to hydrolysable and condensed tannins. *Animal Feed Science and Technology*. 121: 59–75.
- Krishnamachari, V., L. H. Levine, dan P. W. Pare. 2002. Flavonoid Oxidation by the Radical Generator AIBN: A Unified Mechanism for Quercetin Radical Scavenging. *J. Agric. Food Chem.* 50: 4357–4363.
- Leba, M. A. U. 2017. *Ekstraksi dan Real Kromatografi*. Yogyakarta: Deepublish.
- Lehninger, A. L. 1982. *Principle Of Biochemistry*. Inggris: Worth Publisher Inc. Terjemahan oleh M. Thenawawidjaja. 1993. *Dasar-Dasar Biokimia*. Jakarta: Erlangga.
- Li, Y. Q., F. C. Zou, F. Gao, J. S. Bian, dan F. Shan. 2009. Comparative evaluation of quercetin, isoquercetin and rutin as inhibitors of α -glucosidase. *Agricultural and Food Chemistry*. 57: 11463–11468.

- Mabruroh, A. I. 2015. Uji aktivitas antioksidan ekstrak tanin dari daun rumput bambu (*Lophatherum gracile* Brogn) dan indentifikasinya. *Skripsi*. Malang: Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malam.
- Manaharan, T., D. Appleton, H. M., Cheng, U. D. Palanisamy, N. 2011. Flavonoids isolated from *Syzygium aqueum* leaf extract as potential antihyperglycaemic agents. *Food Chemistry*. 132: 1802–1807.
- Molyneux, P. 2004. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin J. Sci. Technol.* 26(2) : 211-219.
- More, T. A., B. R. Kulkarni, M. L. Nalawade, A. U. Arvindekar. 2014. Antidiabetic activity of linalool and limonene in streptozotocin- induced diabetic rat: a combinatorial therapy approach. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 6 (8): - 0975-1491
- Nasrin, M. A., Md. G. Mostofa, Md. H. O. Rashid, Md. S. Islam, dan A. H. M. K. Alam. 2018. Antioxidant, Free Radical Scavenging, Antibacterial and Cytotoxic Compound from the Leaves of *Syzygium Fruticosum*. *International Journal of Pharma Sciences and Scientific Research*. ISSN: 2471-6782.
- Nelson, D.L., & Cox., M.M. 2008. *Lehninger Principles of Biochemistry*. 4th Edition. New York : WH Freeman and Company.
- Nugroho, A. 2017. *Buku Ajar Teknologi bahan Alam*. Banjarmasin: Lambung Mangkurat University Press.
- Nurmalasari, T., S. Zahara, N. Arisanti, P. Mentari, Y. Nurbaeti, T. Lestari, dan I. Rahmiyani. 2016. Uji aktivitas antioksidan ekstrak buah kupa (*Syzygium polycephalum*) terhadap radikal bebas dengan metode DPPH. *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada*. 6(1): 61–68.
- Palanisamy, U. D., dan T. Manaharan. 2015. *Syzygium aqueum* leaf extracts for possible antidiabetic treatment. *Medicinal Plants and Natural Products*.13–22.
- Parwata, I. M. O.A. D. 2016. *Flavonoid*. Denpasar: Universitas Udayana.
- Pravesh, V. K. Madan, dan S. Singh. Variation in total phenolics, flavonoids and antioxidant activity among various solvent fractions of bark of babul (*Acacia nilotica*) using uifferent extraction techniques. *Asian Journal of Chemistry*. 29: 641-646
- Piparo, E. Lo, H. Scheib, N. Frei, G. Williamson, M. Grigorov, dan C. J. Chou. 2008. Flavonoids for controlling starch digestion : structural requirements for inhibiting human α -amylase. *J. Med. Chem*. 51:3555–3561.

- Poongunran J., H. K. I. Perera, W. I. T. Fernando, L. J. dan R. Sivakanesan. 2015. α -glucosidase and α -amylase inhibitory activities of nine Sri Lankan antidiabetic plant. *British Journal of Pharmaceutical Research*. 7(5): 365-374.
- Priya, S. H. N. Prakasan, dan J. Purushothaman. 2017. Antioxidant activity, phenolic flavonoid content and highperformance liquid chromatography profiling of three different variants of *Syzygium cumini* seeds: A comparative study. *Journal of Intercultural Ethnopharmacology*.
- Rahim, E. N. A. A. R., A. Ismail, M. N. Omar, U. N. Rahmat, dan W. A. N. W. Ahmad. 2018. GC-MS analysis of phytochemical compounds in *Syzygium polyanthum* leaves extracted using ultrasound-assisted method. *Pharmacogn J*. 10(1):110-119.
- Ratnadewi, I. A. A., L. D. Rahayu, J. Rochman, Susilowati, A. S. Nugraha, dan T. A. Siswoyo. 2018. Revealing anti-diabetic potency of medicinal plants of Meru Betiri National Park, Jember-Indonesia. *Arabian Journal of Chemistry*.
- Rajalakshmi, D., dan S. Narasiman. 1996. *Food Antioksidant: Souces and Methods of Evaluation*. New York: Marcel Dekker.
- Razali, M., C. Didaskalou, J. F. Kim, M. Babaei, E. Drioli, Y. M. Lee, dan G. Szekei. 2017. Exploring and exploiting the effect of solvent treatment in membrane separations. *ACS Appl. Mater. Interfaces*. 9:11279–11289.
- Rohadi, U. Santoto, S. Raharjo, dan I. I. Falah. 2017. Determination of Antioxidant Activity and Phenolic Compounds of Methanolic Extract of Java Plum (*Syzygium cumini* Linn.) Seed. *Indonesian Food and Nutrition Progress*. 14 (1): 0854-6177.
- Ruan, Z. P., L. L. Zhang, dan Y. M. Lin. 2008. Evaluation of the Antioxidant Activity of *Syzygium cumini* Leaves. *Molecules*. doi: 10.3390/molecules13102545.
- Rusmiati. 2010. Pengaruh Metode Ekstraksi Terhadap Aktivitas Antimikroba Ekstrak Metanol Daun Mimba (*Azadirachta indica* Juss). *Skripsi*. Makassar: UIN Alaudin Makassar.
- Sarker, S. D. dan L. Nahar. 2007. *Chemistry for Pharmacy Student: General, Organic and Natural Product Chemistry*. England: John Willey & Sons Ltd.
- Sasidharan, I. *et al.* 2012. Inhibitory effect of *Terminalia chebula* Retz. fruit extracts on digestive enzyme related to diabetes and oxidative stress. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*. 27(4): 578–586.
- Saifudin, A. 2014. *Senyawa Alam Metabolit Sekunder*. Yogyakarta: Deepublish.

- Seigler, D. S. 1998. *Plant Secondary Metabolism*. New York: Kluwer Academic Publisher.
- Shibano, M., K. Kakutani, M. Taniguchi, M. Yasuda, dan K. Baba. 2008. Antioxidant constituents in the dayflower (*Commelina communis* L.) and their α -glucosidase-inhibitory activity. *Journal of Natural Medicines*. 62(3):349–353.
- Soler-Rivas, C., J. C. Espin, dan H. J. Whichers. 2000. An easy and fast test to compare total free radical scavenger capacity of foodstuffs. *Phytochem Anal*. 338: 330–338.
- Strelow, J., W. Dewe, P. W. Iversen, H. B. Brooks, J. A. Radding, J. McGee, dan J. Weidner. 2012. *Mechanism of Action Assays for Enzymes*. Bethesda (MD): Eli Lilly & Company and the National Center for Advancing Translational Sciences.
- Suarni dan R. Patong. 2007. Potency of mung bean sprout as enzyme source (α -amilase). *Indo. J. Chem*. 7 (3), 332–336.
- Sujatha, S., S. Anand, K.N. Sangeetha, K. Shilpa, J. Lakshmi, A. Balakrishnan, dan B.S. Lakshmi. 2010. Biological evaluation of (3 β)-stigmast-5-en-3-ol as potent anti-diabetic agent in regulating glucose transport using in vitro model. *International Journal of Diabetes Mellitus*. 2: 101–109
- Tauber, H. 1953. *Oxidation of Pyrogallol to Purpurogallin by Crystalline Catalase*. California: Chape Hill
- Tang, X., He, Z., Day, Y., Xiong, Y.L., Xie, M., & Chen, J. 2010. Peptide Fractionation And Free Radical Scavenging Activity Of Zein Hydrolysate. *J. Agric. Food Chem*. 58: 587-593.
- Timerman, A. P. Tanpa Tahun. *The Isolation of Invertase from Baker's Yeast – An Introduction to Protein Purification Strategies*. USA: University of Wisconsin-Stevens Point.
- Traber, M. G., dan J. Atkinson. 2007. Vitamin E, antioxidant and nothing more. *Free Radical Biology & Medicine*. (43): 4–15
- Uppu, R.M., N. M. Subramanyam, N. L. Prinnandi, dan W.A. Pryor. 2010. *Free Radicals and Antioxidant Protocol*. New York: Humana Press.
- Verdiana, M., I. W. Rai. Widarta, dan I. D. G. M. Permana. 2018. Pengaruh Jenis Pelarut Pada Ekstraksi Menggunakan Gelombang Ultrasonik Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Buah Lemon (*Citrus limon* (Linn.) Burm F.). *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan*. 7 (4): 213-222.
- Voight, R. 1994. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi Edisi V*. Yogyakarta: Universitas Gajah Mada Pres.

- 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*. Jember: Universitas Jember.
- Widyawati, T., N. A. Yusoff, M. Z. Asmawi, dan M. Ahmad. 2015. Antihyperglycemic effect of methanol extract of *Syzygium polyanthum* (Wight.) leaf in streptozotocin-induced diabetic rats. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*. 6 (4):1698-1704.
- Winarsi, H. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Yogyakarta: Kanisius.
- Wiseman, A. 1989. *Handbook of Enzymes Biotechnology*. 2nd. Edition. New York: Ellis Howard.



LAMPIRAN

Lampiran 1. Bukti Pengambilan Sampel Tanaman di Kebun Raya Cibodas

	BALAI KONSERVASI TUMBUHAN KEBUN RAYA CIBODAS -LIPI	No. Dokumen	: FR.8.RG-6.5.G4.
		Tgl. Berlaku	: 2 April 2018
	FORMULIR PENYERAHAN DATA/INFORMASI DAN/ ATAU MATERIAL TUMBUHAN	Status Revisi	: 0
		Halaman	: 1/1

Model G4

RG.G4.2019/X/03

Berdasarkan permintaan data/informasi dan/ atau material tumbuhan
 Tanggal Permintaan : 25 Oktober 2019
 Kode Formulir Permintaan : RG.G1.2019/X/02

Dilakukan penyerahan pesanan data/informasi dan/ atau material tumbuhan kepada

Nama Lengkap : Yeni Kartikasari
 Pekerjaan/Jabatan : Mahasiswa
 Instansi/Unit Kerja : Universitas Jember
 Alamat Lengkap : Jl. Kalimantan No. 37 Krajan Timur, Kec. Sumbersari, Jember, Jawa Timur
 Nomor Telepon/HP : 02338983277
 E mail : yenicartikasari3016@gmail.com

Yang Diserahkan : Data/Informasi Material Tumbuhan
 Untuk Keperluan : Penelitian Tugas Akhir


Data/Informasi dan/ atau Material yang diserahkan :

No.	Nama Data/Material (Data/Informasi; Material Tumbuhan)	Jumlah (Satuan)	Keterangan
1.	<i>Syzygium microcymum</i> (Koord. & Valeton) Amshoff	500 gram	Daun Vak. dan nomor koleksi VIII.C.103


Jenis Penyerahan : Diambil langsung
 Dikirim melalui email
 Lainnya

Telah diserahkan data/informasi dan/ atau material tumbuhan kepada pemohon, untuk dipergunakan sebagaimana mestinya sesuai dengan ketentuan dan perundang-undangan yang berlaku.

Yang Menerima,
Pemohon


 (.....
 (YENI KARTIKASARI)

Cibodas,20....
 Yang Menyerahkan,
 Pelaksana Unit Perkebunrayaan
 Unit Registrasi


 (Munawar Rakhya H. Mfi)

Lampiran 2. Perhitungan Kadar Air Simplisia

$$KadarAir(\%) = \frac{W_1 - W_2}{W_1} \times 100\%$$

Keterangan :

W_1 : berat sampel sebelum pengeringan (g)

W_2 : berat sampel setelah pengeringan (g)

Tabel hasil uji kadar air

Pengulangan	Berat Awal (g)	Berat Akhir (g)	Kadar Air (%)	Rata-Rata Kadar Air (%)
1	3,047	2,742	10,010	9,917±0,082
2	3,056	2,754	9,882	
3	3,094	2,789	9,858	

Lampiran 3. Perhitungan Persen Inhibisi Sampel Terhadap Enzim α -Amilase

C^+ = kontrol positif (tanpa sampel, dengan enzim)

C^- = kontrol negatif (tapa sampel, tanpa enzim)

C = rata-rata $C^+ - C^-$

S^+ = sampel positif (dengan sampel, dengan enzim)

S^- = sampel negatif (dengan sampel, tanpa enzim)

$$\text{Persen inhibisi} = \left(\frac{(c^+ - c^-) - (s^+ - s^-)}{c^+ - c^-} \right) \times 100\%$$

$$\text{Persen inhibisi} = \left(\frac{c - (s^+ - s^-)}{c} \right) \times 100\%$$

Tabel uji inhibisi sampel terhadap enzim α -amilase

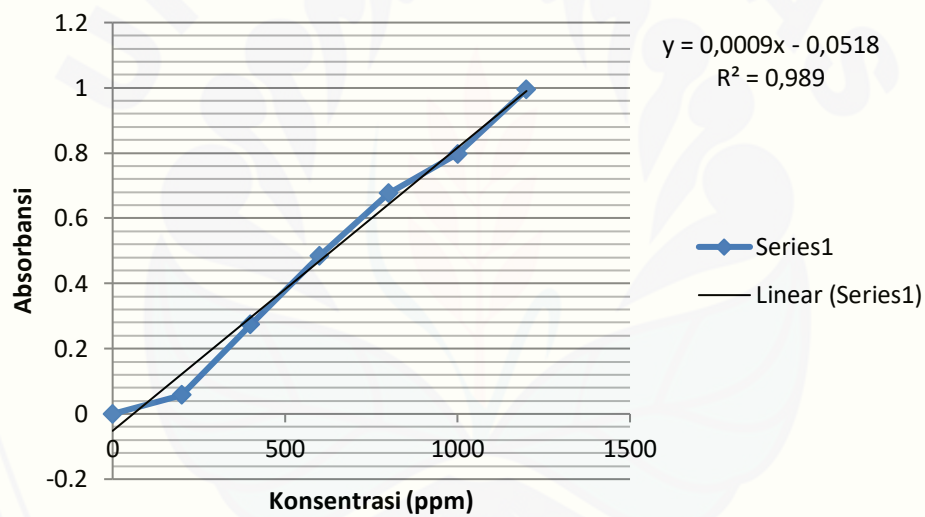
Sampel	Abs C ⁺	Abs C ⁻	C	Abs S ⁺	Abs S ⁻	% Inhibisi	% Inhibisi Rata-Rata
M	0,545	0,154	0,391	0,188	0,163	93,606	93,350±1,931
	0,557	0,163	0,391	0,185	0,151	91,304	
	0,539	0,150	0,391	0,190	0,171	95,141	
H	0,618	0,152	0,455	0,490	0,146	24,396	24,615±0,381
	0,595	0,148	0,455	0,493	0,149	24,396	
	0,599	0,148	0,455	0,491	0,150	25,055	
DCM	0,618	0,152	0,455	0,517	0,140	17,143	17,875±0,671
	0,595	0,148	0,455	0,517	0,144	18,022	
	0,599	0,148	0,455	0,510	0,139	18,462	
EA	0,545	0,154	0,391	0,531	0,164	6,138	6,309±0,295
	0,557	0,163	0,391	0,531	0,166	6,650	
	0,539	0,150	0,391	0,523	0,156	6,138	
MA	0,573	0,137	0,441	0,170	0,121	88,889	85,563±2,959
	0,571	0,123	0,441	0,214	0,140	83,220	
	0,561	0,122	0,441	0,207	0,139	84,580	
S	0,714	0,148	0,570	0,213	0,185	95,088	94,503±1,658
	0,734	0,163	0,570	0,220	0,196	95,789	
	0,746	0,172	0,570	0,214	0,172	92,632	

Lampiran 4. Perhitungan Kinetika Reaksi Inhibisi Enzim α -Amilase

4.1 Kurva Standar Maltosa

Tabel data absorbansi pembuatan kurva standar maltosa sampel terhadap enzim α -amilase

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi
0	0
200	0,058
400	0,274
600	0,485
800	0,676
1000	0,797
1200	0,994



Gambar kurva standar maltosa

Keterangan tabel perhitungan data kinetika inhibisi α -amilase:

C^- = absorbansi kontrol negatif (tanpa enzim)

C^+ = absorbansi kontrol positif (dengan enzim)

$C^-(ppm)$ = nilai absorbansi kontrol negatif yang dikonversi menjadi konsentrasi produk (maltosa) berdasarkan kurva standar

$C^+(ppm)$ = nilai absorbansi kontrol positif yang dikonversi menjadi konsentrasi produk (maltosa) berdasarkan kurva standar

C = $C^+(ppm) - C^-(ppm)$

C_0 = nilai konsentrasi produk kontrol dikurangi dengan C

S^- = absorbansi uji sampel negatif (tanpa enzim)

S^+ = absorbansi uji sampel positif (dengan enzim)

$S^-(ppm)$ = nilai absorbansi sampel negatif yang dikonversi menjadi konsentrasi produk (maltosa) berdasarkan kurva standar

$S^+(ppm)$ = nilai absorbansi sampel positif yang dikonversi menjadi konsentrasi produk (maltosa) berdasarkan kurva standar

S = $S^+(ppm) - S^-(ppm)$

S_0 = nilai konsentrasi produk dikurangi dengan S pada waktu ke-0

Penentuan nilai v_0 diperoleh dari gradien yang dihasilkan dari persamaan garis kurva konsentrasi produk terhadap waktu inkubasi

$$y = mx + c$$

$$m = v_0$$

$$v_0 \rightarrow ppm/menit$$

Hasil persamaan garis Kurva Lineweaver-Burk digunakan untuk menghitung nilai v_{max} dan K_M melalui persamaan di bawah ini

$$y = c + mx$$

$$\frac{1}{v_0} = \frac{1}{v_{max}} + \left(\frac{K_M}{v_{max}} \right) \frac{1}{[S]_0}$$

$$a. \quad c = \frac{1}{v_{max}} \longrightarrow v_{max} = \frac{1}{c}$$

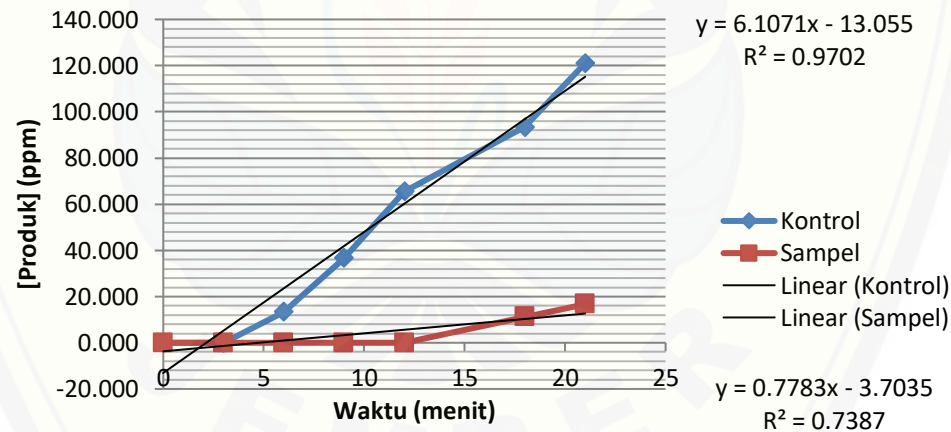
$$b. \quad c = \frac{K_M}{v_{max}} \longrightarrow K_M = c \times v_{max}$$

4.2 Penentuan Nilai v_0 Reaksi Hidrolisis Amilum oleh Enzim α -Amilase

4.2.1 Kinetika Reaksi Inhibisi Pengulangan 1

Tabel Penentuan v_0 Konsentrasi Amilum 0,0625% Pengulangan 1

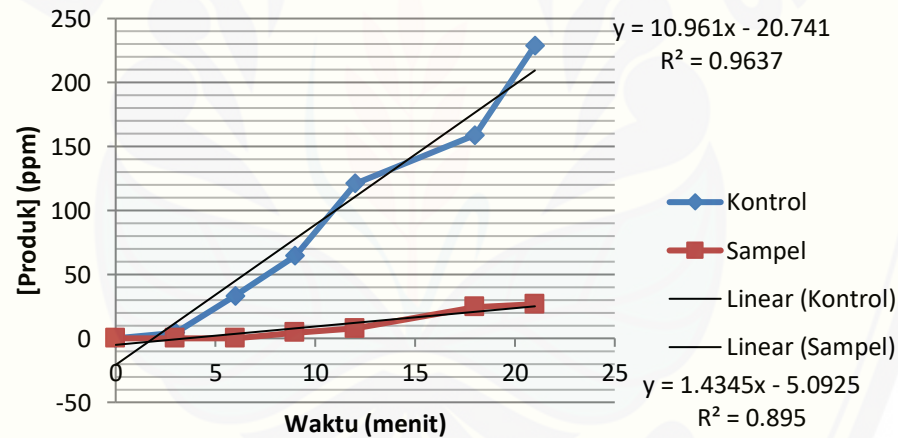
Waktu	C ⁻	C ⁺	S ⁻	S ⁺	C ⁻ (ppm)	C ⁺ (ppm)	C (ppm)	C ₀ (ppm)	S ⁻ (ppm)	S ⁺ (ppm)	S (ppm)	S ₀ (ppm)
0	0,092	0,094	0,093	0,095	159,778	162,000	2,222	0,000	160,889	163,111	2,222	0,000
3	0,094	0,096	0,096	0,098	162,000	164,222	2,222	0,000	164,222	166,444	2,222	0,000
6	0,095	0,109	0,098	0,100	163,111	178,667	15,556	13,334	166,444	168,667	2,222	0,000
9	0,097	0,132	0,096	0,098	165,333	204,222	38,889	36,667	164,222	166,444	2,222	0,000
12	0,096	0,157	0,097	0,099	164,222	232,000	67,778	65,556	165,333	167,556	2,222	0,000
18	0,094	0,180	0,097	0,109	162,000	257,556	95,556	93,334	165,333	178,667	13,333	11,111
21	0,096	0,207	0,098	0,115	164,222	287,556	123,333	121,111	166,444	185,333	18,889	16,667



Gambar Kurva Penentuan v_0 Kontrol dan Sampel Substrat Amilum 0,0625% Pengulangan 1

Tabel Penentuan v_0 Konsentrasi Amilum 0,125% Pengulangan 1

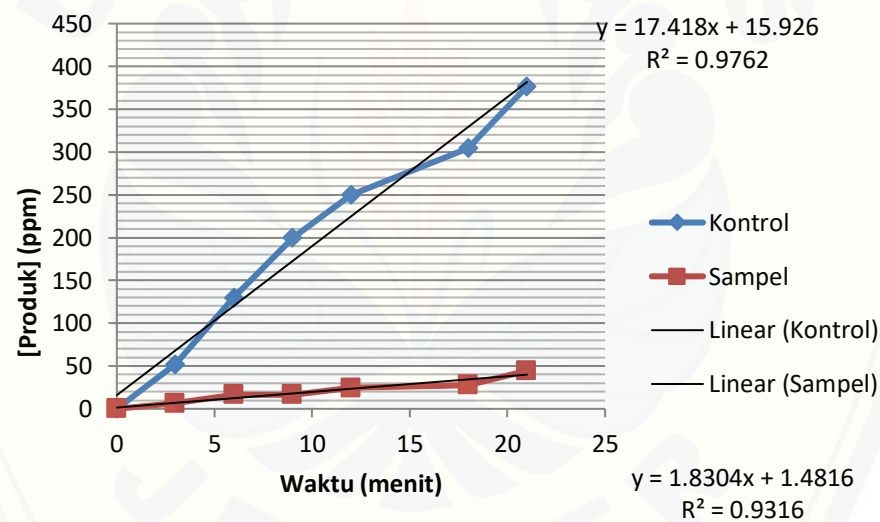
Waktu	C ⁻	C ⁺	S ⁻	S ⁺	C ⁻ (ppm)	C ⁺ (ppm)	C (ppm)	C ₀ (ppm)	S ⁻ (ppm)	S ⁺ (ppm)	S (ppm)	S ₀ (ppm)
0	0,089	0,090	0,093	0,094	156,444	157,556	1,111	0,000	160,889	162,000	1,111	0,000
3	0,093	0,098	0,098	0,099	160,889	166,444	5,556	4,445	166,444	167,556	1,111	0,000
6	0,091	0,122	0,095	0,096	158,667	193,111	34,444	33,333	163,111	164,222	1,111	0,000
9	0,094	0,153	0,099	0,104	162,000	227,556	65,556	64,445	167,556	173,111	5,556	4,445
12	0,095	0,205	0,106	0,114	163,111	285,333	122,222	121,111	175,333	184,222	8,889	7,778
18	0,091	0,235	0,096	0,119	158,667	318,667	160,000	158,889	164,222	189,778	25,556	24,445
21	0,090	0,297	0,095	0,120	157,556	387,556	230,000	228,889	163,111	190,889	27,778	26,667



Gambar Kurva Penentuan v_0 Kontrol dan Sampel Substrat Amilum 0,125% Pengulangan 1

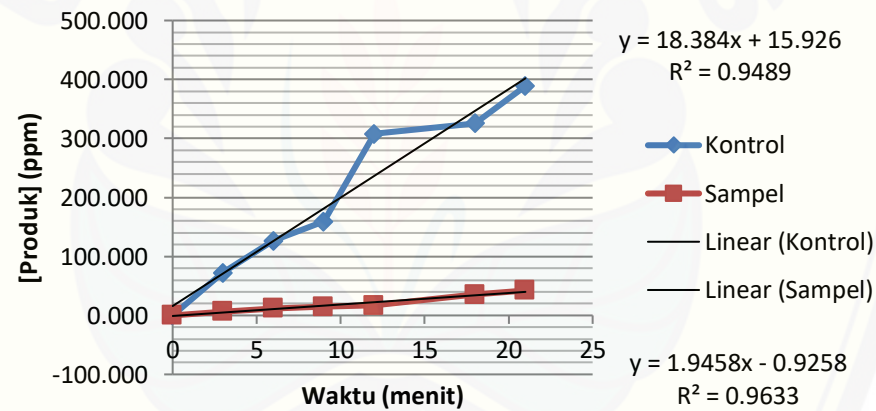
Tabel Penentuan v_0 Konsentrasi Amilum 0,25% Pengulangan 1

Waktu	C ⁻	C ⁺	S ⁻	S ⁺	C ⁻ (ppm)	C ⁺ (ppm)	C (ppm)	C ₀ (ppm)	S ⁻ (ppm)	S ⁺ (ppm)	S (ppm)	S ₀ (ppm)
0	0,101	0,103	0,097	0,098	169,778	172,000	2,222	0,000	165,333	166,444	1,111	0,000
3	0,097	0,146	0,100	0,107	165,333	219,778	54,444	52,222	168,667	176,444	7,778	6,667
6	0,103	0,222	0,114	0,130	172,000	304,222	132,222	130,000	184,222	202,000	17,778	16,667
9	0,099	0,281	0,115	0,131	167,556	369,778	202,222	200,000	185,333	203,111	17,778	16,667
12	0,104	0,331	0,121	0,144	173,111	425,333	252,222	250,000	192,000	217,556	25,556	24,445
18	0,100	0,376	0,119	0,145	168,667	475,333	306,667	304,445	189,778	218,667	28,889	27,778
21	0,113	0,454	0,135	0,176	183,111	562,000	378,889	376,667	207,556	253,111	45,556	44,445

Gambar Kurva Penentuan v_0 Kontrol dan Sampel Substrat Amilum 0,25% Pengulangan 1

Tabel Penentuan v_0 Konsentrasi Amilum 0,5% Pengulangan 1

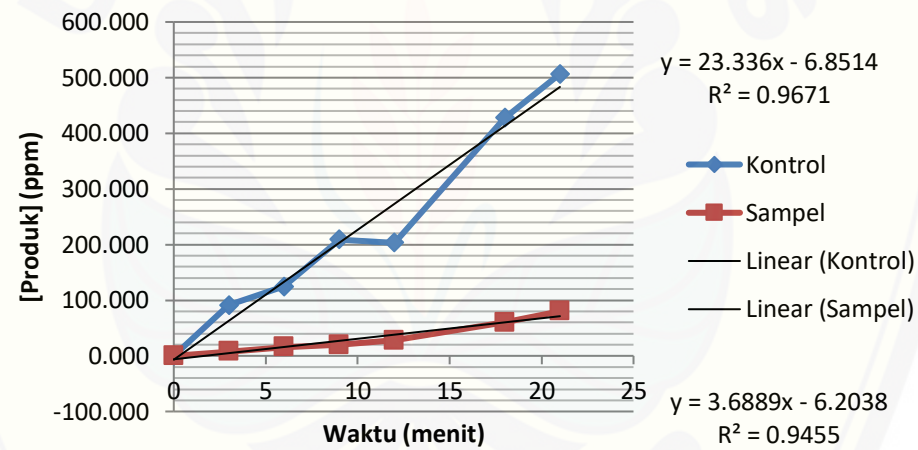
Waktu	C ⁻	C ⁺	S ⁻	S ⁺	C ⁻ (ppm)	C ⁺ (ppm)	C (ppm)	C ₀ (ppm)	S ⁻ (ppm)	S ⁺ (ppm)	S (ppm)	S ₀ (ppm)
0	0,141	0,171	0,154	0,155	214,222	247,556	33,333	0,000	228,667	229,778	1,111	0,000
3	0,158	0,253	0,189	0,196	233,111	338,667	105,556	72,223	267,556	275,333	7,778	6,667
6	0,164	0,308	0,129	0,141	239,778	399,778	160,000	126,667	200,889	214,222	13,333	12,222
9	0,166	0,339	0,177	0,191	242,000	434,222	192,222	158,889	254,222	269,778	15,556	14,445
12	0,171	0,478	0,116	0,132	247,556	588,667	341,111	307,778	186,444	204,222	17,778	16,667
18	0,188	0,511	0,175	0,208	266,444	625,333	358,889	325,556	252,000	288,667	36,667	35,556
21	0,221	0,601	0,188	0,227	303,111	725,333	422,222	388,889	266,444	309,778	43,333	42,222



Gambar Kurva Penentuan v_0 Kontrol dan Sampel Substrat Amilum 0,5% Pengulangan 1

Tabel Penentuan v_0 Konsentrasi Amilum 1% Pengulangan 1

Waktu	C ⁻	C ⁺	S ⁻	S ⁺	C ⁻ (ppm)	C ⁺ (ppm)	C (ppm)	C ₀ (ppm)	S ⁻ (ppm)	S ⁺ (ppm)	S (ppm)	S ₀ (ppm)
0	0,136	0,176	0,155	0,181	208,667	253,111	44,444	0,000	229,778	258,667	28,889	0,000
3	0,310	0,432	0,321	0,354	402,000	537,556	135,556	91,112	414,222	450,889	36,667	7,778
6	0,271	0,423	0,309	0,349	358,667	527,556	168,889	124,445	400,889	445,333	44,444	15,555
9	0,269	0,497	0,314	0,358	356,444	609,778	253,333	208,889	406,444	455,333	48,889	20,000
12	0,285	0,508	0,305	0,356	374,222	622,000	247,778	203,334	396,444	453,111	56,667	27,778
18	0,323	0,748	0,480	0,560	416,444	888,667	472,222	427,778	590,889	679,778	88,889	60,000
21	0,310	0,806	0,358	0,456	402,000	953,111	551,111	506,667	455,333	564,222	108,889	80,000

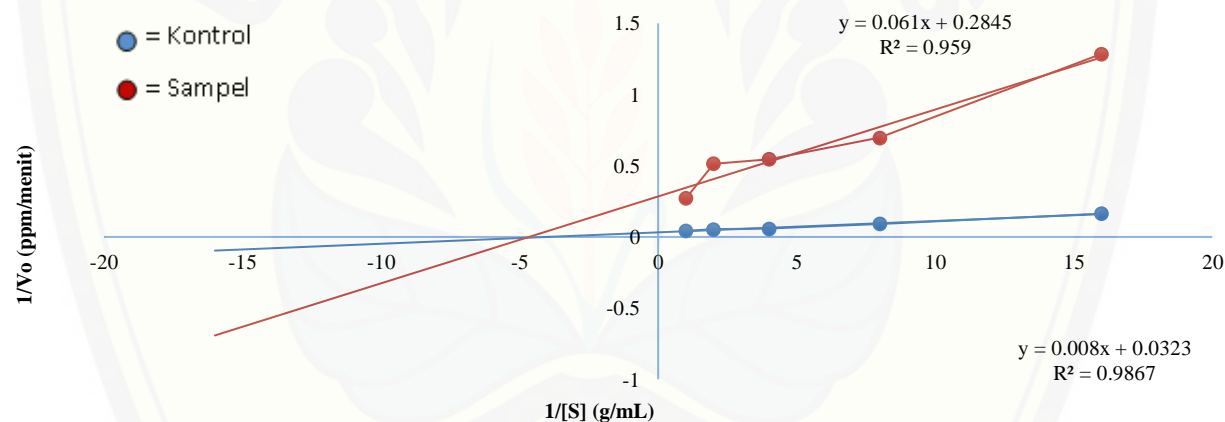


Gambar Kurva Penentuan v_0 Kontrol dan Sampel Substrat Amilum 1% Pengulangan 1

Tabel Penentuan v_0 Kontrol dan Sampel Pengulangan 1

[S] (%)	Kontrol	Sampel	v_0 Kontrol (ppm/menit)	v_0 Sampel (ppm/menit)	$1/v_0$ Kontrol	$1/v_0$ Sampel	$1/[S]$
0,0625	$y = 6,107x - 13,05$	$y = 0,778x - 3,703$	6,107	0,778	0,164	1,285	16,000
0,125	$y = 10,96x - 20,74$	$y = 1,434x - 5,092$	10,960	1,434	0,091	0,697	8,000
0,250	$y = 17,41x + 15,92$	$y = 1,830x + 1,481$	17,410	1,830	0,057	0,546	4,000
0,500	$y = 18,38x + 15,92$	$y = 1,945x - 0,925$	18,380	1,945	0,054	0,514	2,000
1,000	$y = 23,33x - 6,851$	$y = 3,688x - 6,203$	23,330	3,688	0,043	0,271	1,000

Keterangan : Kontrol= tanpa inhibitor, Sampel= ditambahkan inhibitor, v_0 = kecepatan awal reaksi

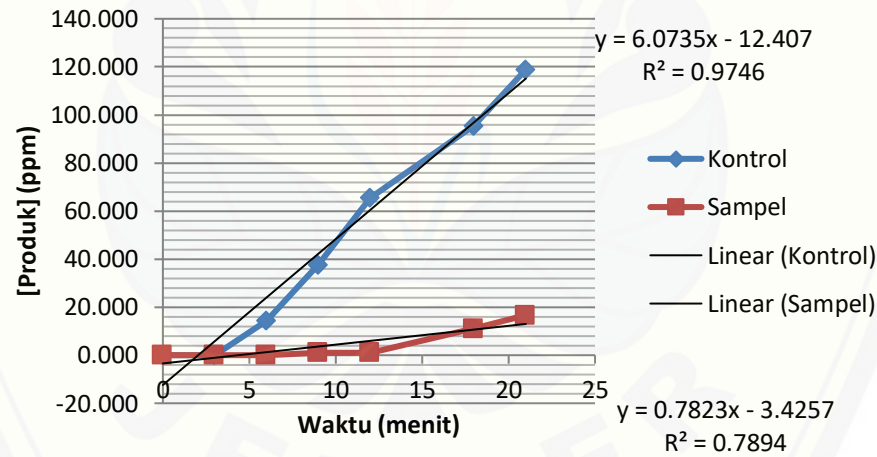


Gambar Kurva Lineweaver-Burk $1/v_0$ Vs $1/[S]$ Kinetika Reaksi Inhibisi Pengulangan 1

4.2.2 Kinetika Reaksi Inhibisi Pengulangan 2

Tabel Penentuan v_0 Konsentrasi Amilum 0,0625% Pengulangan 2

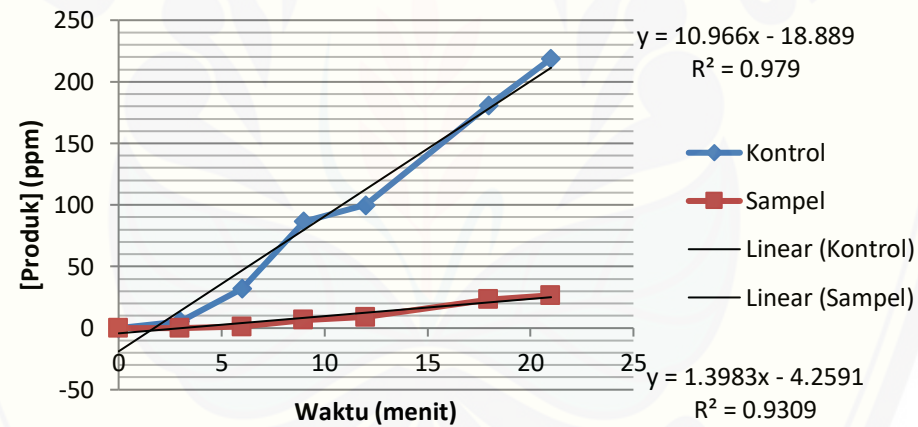
Waktu	C ⁻	C ⁺	S ⁻	S ⁺	C ⁻ (ppm)	C ⁺ (ppm)	C (ppm)	C ₀ (ppm)	S ⁻ (ppm)	S ⁺ (ppm)	S (ppm)	S ₀ (ppm)
0	0,093	0,095	0,094	0,096	160,889	163,111	2,222	0,000	162,000	164,222	2,222	0,000
3	0,095	0,097	0,098	0,100	163,111	165,333	2,222	0,000	166,444	168,667	2,222	0,000
6	0,097	0,112	0,099	0,101	165,333	182,000	16,667	14,445	167,556	169,778	2,222	0,000
9	0,097	0,133	0,096	0,099	165,333	205,333	40,000	37,778	164,222	167,556	3,333	1,111
12	0,094	0,155	0,096	0,099	162,000	229,778	67,778	65,556	164,222	167,556	3,333	1,111
18	0,092	0,180	0,096	0,108	159,778	257,556	97,778	95,556	164,222	177,556	13,333	11,111
21	0,098	0,207	0,096	0,113	166,444	287,556	121,111	118,889	164,222	183,111	18,889	16,667



Gambar Kurva Penentuan v_0 Kontrol dan Sampel Substrat Amilum 0,0625% Pengulangan 2

Tabel Penentuan v_0 Konsentrasi Amilum 0,125% Pengulangan 2

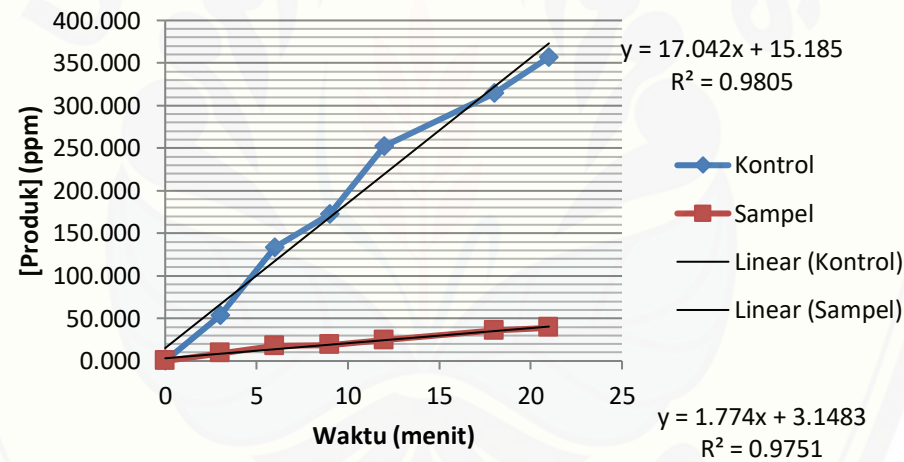
Waktu	C ⁻	C ⁺	S ⁻	S ⁺	C ⁻ (ppm)	C ⁺ (ppm)	C (ppm)	C ₀ (ppm)	S ⁻ (ppm)	S ⁺ (ppm)	S (ppm)	S ₀ (ppm)
0	0,089	0,090	0,093	0,094	156,444	157,556	1,111	0,000	160,889	162,000	1,111	0,000
3	0,093	0,099	0,100	0,101	160,889	167,556	6,667	5,556	168,667	169,778	1,111	0,000
6	0,088	0,118	0,099	0,101	155,333	188,667	33,333	32,222	167,556	169,778	2,222	1,111
9	0,094	0,173	0,099	0,106	162,000	249,778	87,778	86,667	167,556	175,333	7,778	6,667
12	0,092	0,183	0,107	0,116	159,778	260,889	101,111	100,000	176,444	186,444	10,000	8,889
18	0,092	0,256	0,096	0,118	159,778	342,000	182,222	181,111	164,222	188,667	24,444	23,333
21	0,089	0,287	0,094	0,119	156,444	376,444	220,000	218,889	162,000	189,778	27,778	26,667



Gambar Kurva Penentuan v_0 Kontrol dan Sampel Substrat Amilum 0,125% Pengulangan 2

Tabel Penentuan v_0 Konsentrasi Amilum 0,25% Pengulangan 2

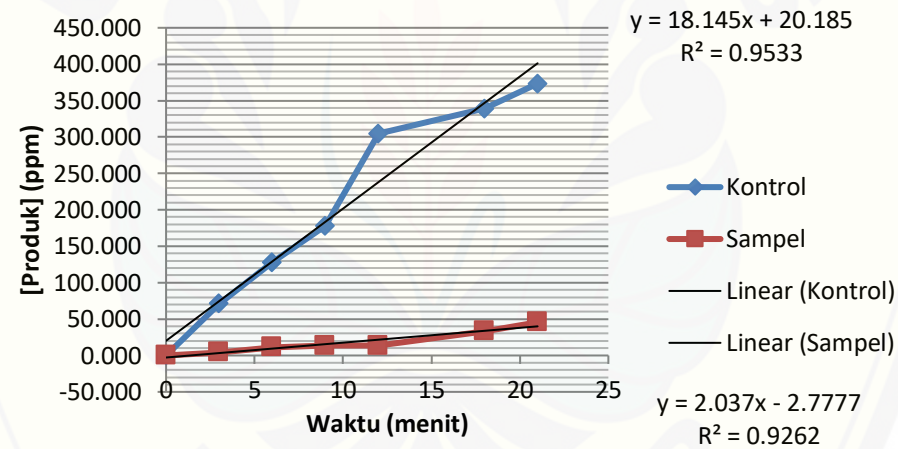
Waktu	C ⁻	C ⁺	S ⁻	S ⁺	C ⁻ (ppm)	C ⁺ (ppm)	C (ppm)	C ₀ (ppm)	S ⁻ (ppm)	S ⁺ (ppm)	S (ppm)	S ₀ (ppm)
0	0,098	0,100	0,096	0,097	166,444	168,667	2,222	0,000	164,222	165,333	1,111	0,000
3	0,099	0,149	0,100	0,109	167,556	223,111	55,556	53,334	168,667	178,667	10,000	8,889
6	0,097	0,219	0,113	0,130	165,333	300,889	135,556	133,334	183,111	202,000	18,889	17,778
9	0,097	0,254	0,116	0,134	165,333	339,778	174,444	172,222	186,444	206,444	20,000	18,889
12	0,108	0,337	0,121	0,144	177,556	432,000	254,444	252,222	192,000	217,556	25,556	24,445
18	0,100	0,385	0,117	0,150	168,667	485,333	316,667	314,445	187,556	224,222	36,667	35,556
21	0,111	0,434	0,137	0,173	180,889	539,778	358,889	356,667	209,778	249,778	40,000	38,889



Gambar Kurva Penentuan v_0 Kontrol dan Sampel Substrat Amilum 0,25% Pengulangan 2

Tabel Penentuan v_0 Konsentrasi Amilum 0,5% Pengulangan 2

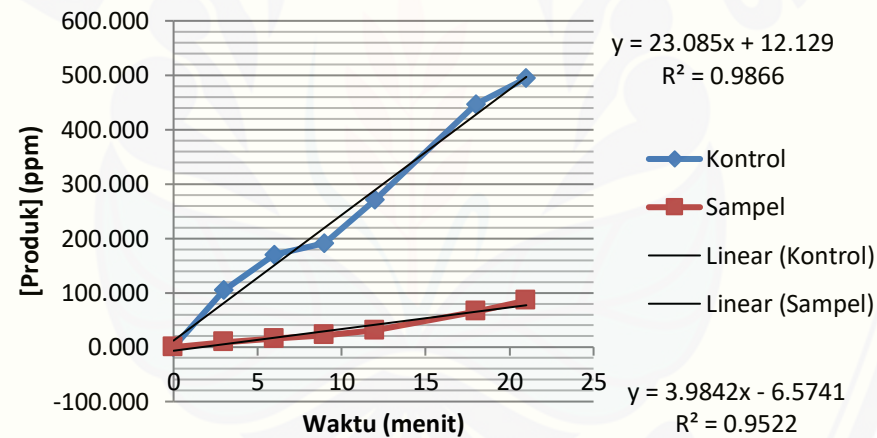
Waktu	C ⁻	C ⁺	S ⁻	S ⁺	C ⁻ (ppm)	C ⁺ (ppm)	C (ppm)	C ₀ (ppm)	S ⁻ (ppm)	S ⁺ (ppm)	S (ppm)	S ₀ (ppm)
0	0,141	0,170	0,148	0,149	214,222	246,444	32,222	0,000	222,000	223,111	1,111	0,000
3	0,159	0,252	0,182	0,187	234,222	337,556	103,333	71,111	259,778	265,333	5,556	4,445
6	0,152	0,296	0,132	0,143	226,444	386,444	160,000	127,778	204,222	216,444	12,222	11,111
9	0,177	0,366	0,171	0,184	254,222	464,222	210,000	177,778	247,556	262,000	14,444	13,333
12	0,171	0,474	0,123	0,136	247,556	584,222	336,667	304,445	194,222	208,667	14,444	13,333
18	0,190	0,524	0,173	0,204	268,667	639,778	371,111	338,889	249,778	284,222	34,444	33,333
21	0,198	0,563	0,178	0,220	277,556	683,111	405,556	373,334	255,333	302,000	46,667	45,556



Gambar Kurva Penentuan v_0 Kontrol dan Sampel Substrat Amilum 0,5% Pengulangan 2

Tabel Penentuan v_0 Konsentrasi Amilum 1% Pengulangan 2

Waktu	C ⁻	C ⁺	S ⁻	S ⁺	C ⁻ (ppm)	C ⁺ (ppm)	C (ppm)	C ₀ (ppm)	S ⁻ (ppm)	S ⁺ (ppm)	S (ppm)	S ₀ (ppm)
0	0,13	0,171	0,150	0,177	202,000	247,556	45,556	0,000	224,222	254,222	30,000	0,000
3	0,295	0,430	0,317	0,352	385,333	535,333	150,000	104,444	409,778	448,667	38,889	8,889
6	0,232	0,426	0,309	0,350	315,333	530,889	215,556	170,000	400,889	446,444	45,556	15,556
9	0,291	0,504	0,329	0,376	380,889	617,556	236,667	191,111	423,111	475,333	52,222	22,222
12	0,274	0,559	0,297	0,352	362,000	678,667	316,667	271,111	387,556	448,667	61,111	31,111
18	0,300	0,743	0,477	0,563	390,889	883,111	492,222	446,666	587,556	683,111	95,556	65,556
21	0,329	0,815	0,377	0,481	423,111	963,111	540,000	494,444	476,444	592,000	115,556	85,556

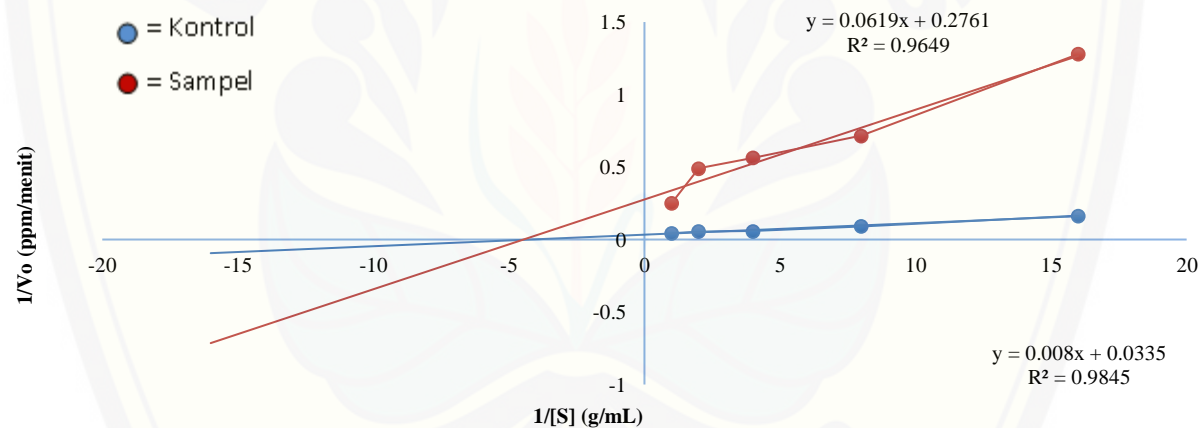


Gambar Kurva Penentuan v_0 Kontrol dan Sampel Substrat Amilum 1% Pengulangan 2

Tabel Penentuan v_0 Kontrol dan Sampel Pengulangan 2

[S] (%)	Kontrol	Sampel	v_0 Kontrol (ppm/menit)	v_0 Sampel (ppm/menit)	$1/v_0$ Kontrol	$1/v_0$ Sampel	$1/[S]$
0,0625	$y = 6,073x - 12,40$	$y = 0,782x - 3,425$	6,073	0,782	0,165	1,279	16,000
0,125	$y = 10,96x - 18,88$	$y = 1,398x - 4,259$	10,960	1,398	0,091	0,715	8,000
0,250	$y = 17,04x + 15,18$	$y = 1,774x + 3,148$	17,040	1,774	0,059	0,564	4,000
0,500	$y = 18,14x + 20,18$	$y = 2,037x - 2,777$	17,670	2,037	0,057	0,491	2,000
1,000	$y = 23,08x + 12,12$	$y = 3,984x - 6,574$	23,080	3,984	0,043	0,251	1,000

Keterangan : Kontrol= tanpa inhibitor, Sampel= ditambahkan inhibitor, v_0 = kecepatan awal reaksi

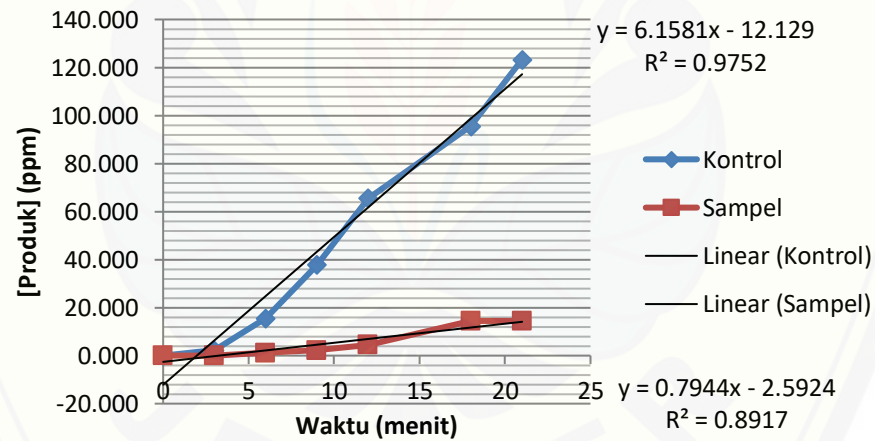


Gambar Kurva Lineweaver-Burk $1/v_0$ Vs $1/[S]$ Kinetika Reaksi Inhibisi Pengulangan 2

4.2.3 Kinetika Reaksi Inhibisi Pengulangan 3

Tabel Penentuan v_0 Konsentrasi Amilum 0,0625% Pengulangan 3

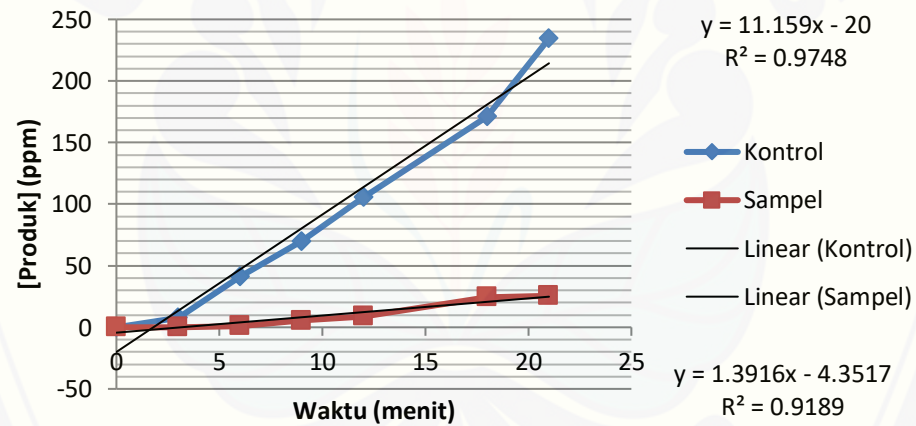
Waktu	C ⁻	C ⁺	S ⁻	S ⁺	C ⁻ (ppm)	C ⁺ (ppm)	C (ppm)	C ₀ (ppm)	S ⁻ (ppm)	S ⁺ (ppm)	S (ppm)	S ₀ (ppm)
0	0,092	0,095	0,092	0,094	159,778	163,111	3,333	0,000	159,778	162,000	2,222	0,000
3	0,094	0,099	0,100	0,102	162,000	167,556	5,556	2,223	168,667	170,889	2,222	0,000
6	0,096	0,113	0,098	0,101	164,222	183,111	18,889	15,556	166,444	169,778	3,333	1,111
9	0,095	0,132	0,097	0,101	163,111	204,222	41,111	37,778	165,333	169,778	4,444	2,222
12	0,094	0,156	0,098	0,104	162,000	230,889	68,889	65,556	166,444	173,111	6,667	4,445
18	0,094	0,183	0,096	0,111	162,000	260,889	98,889	95,556	164,222	180,889	16,667	14,445
21	0,095	0,209	0,098	0,113	163,111	289,778	126,667	123,334	166,444	183,111	16,667	14,445



Gambar Kurva Penentuan v_0 Kontrol dan Sampel Substrat Amilum 0,0625% Pengulangan 3

Tabel Penentuan v_0 Konsentrasi Amilum 0,125% Pengulangan 3

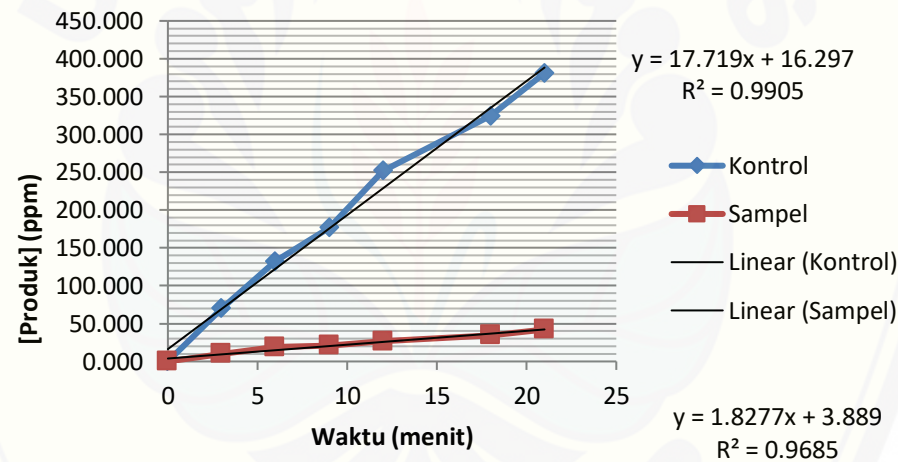
Waktu	C ⁻	C ⁺	S ⁻	S ⁺	C ⁻ (ppm)	C ⁺ (ppm)	C (ppm)	C ₀ (ppm)	S ⁻ (ppm)	S ⁺ (ppm)	S (ppm)	S ₀ (ppm)
0	0,089	0,090	0,095	0,096	156,444	157,556	1,111	0,000	163,111	164,222	1,111	0,000
3	0,092	0,100	0,100	0,101	159,778	168,667	8,889	7,778	168,667	169,778	1,111	0,000
6	0,089	0,127	0,095	0,097	156,444	198,667	42,222	41,111	163,111	165,333	2,222	1,111
9	0,093	0,157	0,102	0,108	160,889	232,000	71,111	70,000	170,889	177,556	6,667	5,556
12	0,091	0,187	0,106	0,115	158,667	265,333	106,667	105,556	175,333	185,333	10,000	8,889
18	0,089	0,244	0,096	0,119	156,444	328,667	172,222	171,111	164,222	189,778	25,556	24,445
21	0,090	0,302	0,094	0,118	157,556	393,111	235,556	234,445	162,000	188,667	26,667	25,556



Gambar Kurva Penentuan v_0 Kontrol dan Sampel Substrat Amilum 0,125% Pengulangan 3

Tabel Penentuan v_0 Konsentrasi Amilum 0,25% Pengulangan 3

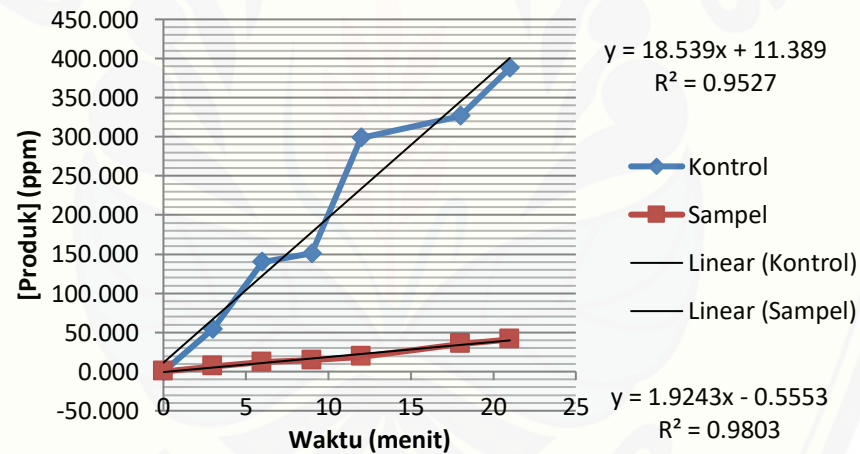
Waktu	C ⁻	C ⁺	S ⁻	S ⁺	C ⁻ (ppm)	C ⁺ (ppm)	C (ppm)	C ₀ (ppm)	S ⁻ (ppm)	S ⁺ (ppm)	S (ppm)	S ₀ (ppm)
0	0,101	0,104	0,095	0,096	169,778	173,111	3,333	0,000	163,111	164,222	1,111	0,000
3	0,097	0,163	0,102	0,112	165,333	238,667	73,333	70,000	170,889	182,000	11,111	10,000
6	0,100	0,222	0,109	0,127	168,667	304,222	135,556	132,223	178,667	198,667	20,000	18,889
9	0,097	0,259	0,117	0,137	165,333	345,333	180,000	176,667	187,556	209,778	22,222	21,111
12	0,107	0,337	0,120	0,145	176,444	432,000	255,556	252,223	190,889	218,667	27,778	26,667
18	0,102	0,397	0,115	0,147	170,889	498,667	327,778	324,445	185,333	220,889	35,556	34,445
21	0,123	0,469	0,138	0,177	194,222	578,667	384,444	381,111	210,889	254,222	43,333	42,222



Gambar Kurva Penentuan v_0 Kontrol dan Sampel Substrat Amilum 0,25% Pengulangan 3

Tabel Penentuan v_0 Konsentrasi Amilum 0,5% Pengulangan 3

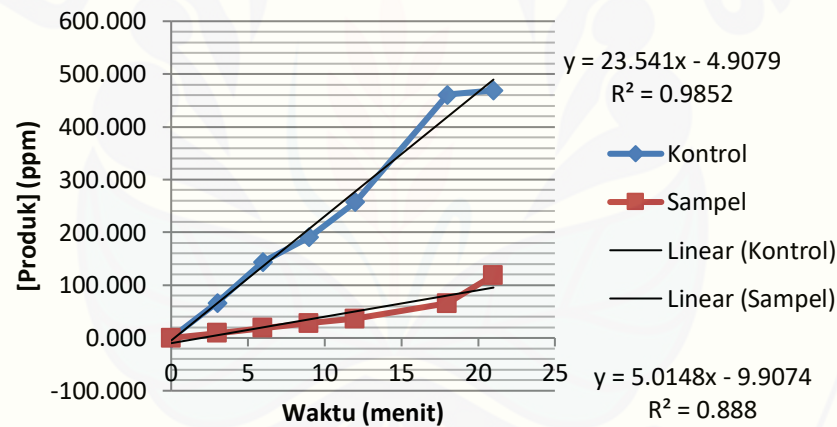
Waktu	C ⁻	C ⁺	S ⁻	S ⁺	C ⁻ (ppm)	C ⁺ (ppm)	C (ppm)	C ₀ (ppm)	S ⁻ (ppm)	S ⁺ (ppm)	S (ppm)	S ₀ (ppm)
0	0,101	0,104	0,095	0,096	169,778	173,111	3,333	0,000	163,111	164,222	1,111	0,000
3	0,097	0,163	0,102	0,112	165,333	238,667	73,333	70,000	170,889	182,000	11,111	10,000
6	0,100	0,222	0,109	0,127	168,667	304,222	135,556	132,223	178,667	198,667	20,000	18,889
9	0,097	0,259	0,117	0,137	165,333	345,333	180,000	176,667	187,556	209,778	22,222	21,111
12	0,107	0,337	0,120	0,145	176,444	432,000	255,556	252,223	190,889	218,667	27,778	26,667
18	0,102	0,397	0,115	0,147	170,889	498,667	327,778	324,445	185,333	220,889	35,556	34,445
21	0,123	0,469	0,138	0,177	194,222	578,667	384,444	381,111	210,889	254,222	43,333	42,222



Gambar Kurva Penentuan v_0 Kontrol dan Sampel Substrat Amilum 0,5% Pengulangan 3

Tabel Penentuan v_0 Konsentrasi Amilum 1% Pengulangan 3

Waktu	C ⁻	C ⁺	S ⁻	S ⁺	C ⁻ (ppm)	C ⁺ (ppm)	C (ppm)	C ₀ (ppm)	S ⁻ (ppm)	S ⁺ (ppm)	S (ppm)	S ₀ (ppm)
0	0,130	0,171	0,162	0,189	202,000	247,556	45,556	0,000	237,556	267,556	30,000	0,000
3	0,288	0,389	0,334	0,369	377,556	489,778	112,222	66,666	428,667	467,556	38,889	8,889
6	0,257	0,428	0,275	0,319	343,111	533,111	190,000	144,444	363,111	412,000	48,889	18,889
9	0,293	0,506	0,318	0,370	383,111	619,778	236,667	191,111	410,889	468,667	57,778	27,778
12	0,292	0,565	0,291	0,351	382,000	685,333	303,333	257,777	380,889	447,556	66,667	36,667
18	0,276	0,732	0,482	0,568	364,222	870,889	506,667	461,111	593,111	688,667	95,556	65,556
21	0,302	0,765	0,361	0,495	393,111	907,556	514,444	468,888	458,667	607,556	148,889	118,889

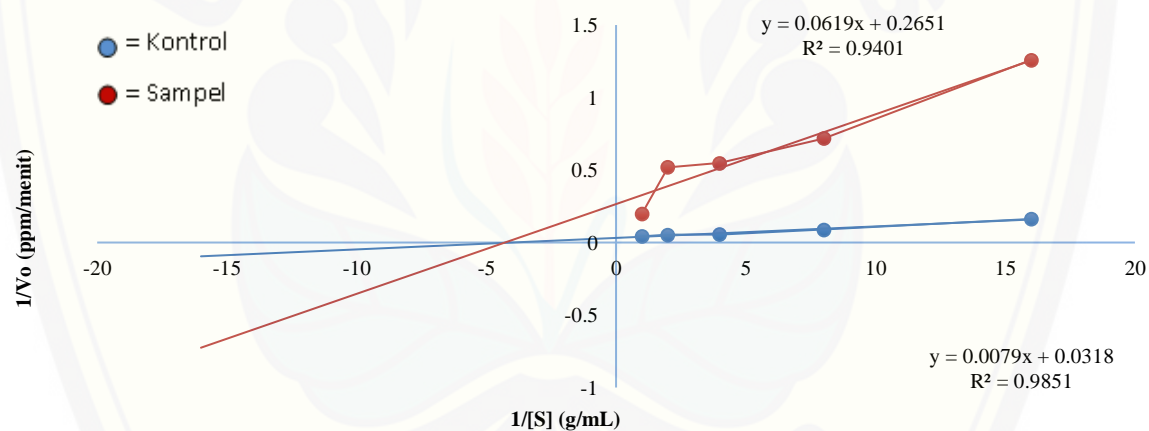


Gambar Kurva Penentuan v_0 Kontrol dan Sampel Substrat Amilum 1% Pengulangan 3

Tabel Penentuan v_0 Kontrol dan Sampel Pengulangan 3

[S] (%)	Kontrol	Sampel	v_0 Kontrol (ppm/menit)	v_0 Sampel (ppm/menit)	$1/v_0$ Kontrol	$1/v_0$ Sampel	$1/[S]$
0,0625	$y = 6,158x - 12,12$	$y = 0,794x - 2,592$	6,158	0,794	0,162	1,259	16,000
0,125	$y = 11,15x - 20$	$y = 1,391x - 4,351$	11,150	1,391	0,090	0,719	8,000
0,250	$y = 17,71x + 16,29$	$y = 1,827x + 3,889$	17,710	1,827	0,056	0,547	4,000
0,500	$y = 18,53x + 11,38$	$y = 1,924x - 0,555$	18,530	1,924	0,054	0,520	2,000
1,000	$y = 23,54x - 4,907$	$y = 5,014x - 9,907$	23,540	5,573	0,042	0,179	1,000

Keterangan : Kontrol= tanpa inhibitor, Sampel= ditambahkan inhibitor, v_0 = kecepatan awal reaksi



Gambar Kurva Lineweaver-Burk $1/v_0$ Vs $1/[S]$ Kinetika Reaksi Inhibisi Pengulangan 3

Tabel Nilai v_{\max} dan K_M

Kontrol	Sampel	v_{\max} Kontrol (ppm/menit)	v_{\max} Sampel (ppm/menit)	K_M Kontrol (g/mL)	K_M Sampel (g/mL)
K1 $y = 0,008x + 0,032$	$y = 0,061x + 0,284$	31,250	3,521	0,250	0,215
K2 $y = 0,008x + 0,033$	$y = 0,061x + 0,276$	30,303	3,623	0,242	0,221
K3 $y = 0,007x + 0,031$	$y = 0,061x + 0,265$	32,258	3,774	0,226	0,230
Av		31,270	3,639	0,239	0,222
SD		0,978	0,127	0,012	0,008

Keterangan : K1,2,3 = kinetika reaksi inhibisi pengulangan 1,2,3; Kontrol = tanpa inhibitor; Sampel = ditambahkan inhibitor; Av = rata-rata, SD = standar deviasi

4.2.4 Penentuan Nilai K_{cat} dan η (Efisiensi Katalitik) Enzim

Konsentrasi enzim :

$$\frac{0,5 \text{ mg}}{1 \text{ mL}} = 500 \text{ ppm (konsentrasi induk)}$$

$$[Et] = M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$500 \text{ ppm} \times 0,0694 \text{ mL} = M_2 \times 5 \text{ mL}$$

$$M_2 = 6,94 \text{ ppm}$$

1. Kontrol

$$a. K_{cat} = \frac{V_{max}}{[E_T]} = \frac{31,270 \text{ ppm/menit}}{6,94 \text{ ppm}} = 4,506/\text{menit}$$

$$b. \eta = \frac{K_{cat}}{[K_M]} = \frac{4,506/\text{menit}}{0,239 \left(\frac{g}{mL}\right)} = 18,853 \frac{mL}{g \text{ menit}}$$

2. Sampel

$$a. K_{cat} = \frac{V_{max}}{[K_M]} = \frac{3,693 \frac{ppm}{menit}}{6,94 \text{ ppm}} = \frac{0,524}{menit}$$

$$b. \eta = \frac{K_{cat}}{[K_M]} = \frac{0,524/\text{menit}}{0,222 \left(\frac{g}{mL}\right)} = 2,360 \frac{mL}{g \text{ menit}}$$

Lampiran 5. Perhitungan IC₅₀ Sampel Terhadap Peredaman Radikal DPPH

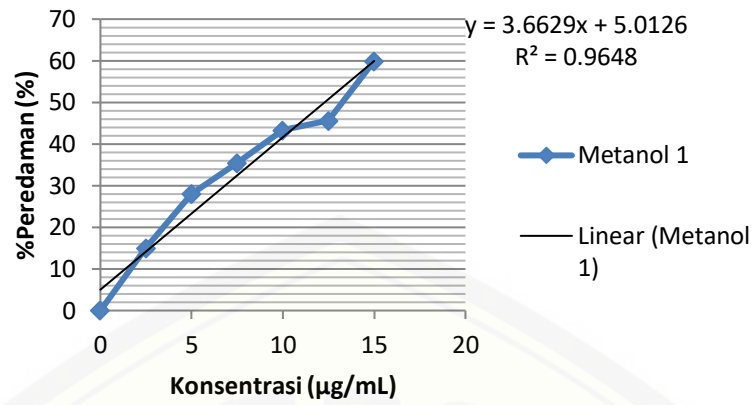
A₀ = absorbansi kontrol

A₁ = absorbansi sampel.

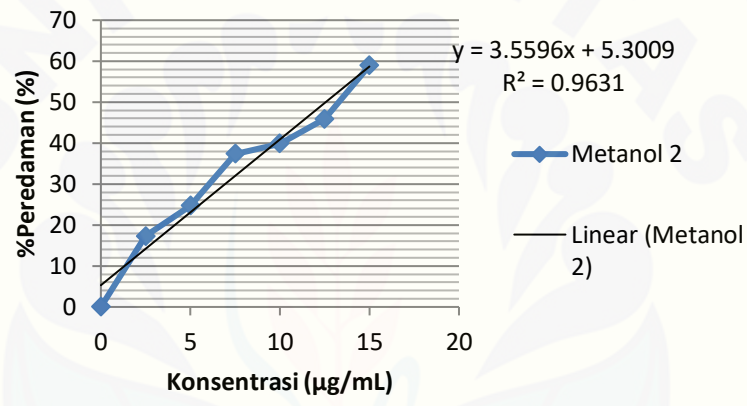
$$\text{Persen peredaman radikal} = \left[\frac{(A_0 - A_1)}{A_0} \right] \times 100\%$$

Tabel persen peredaman ekstrak metanol terhadap radikal DPPH

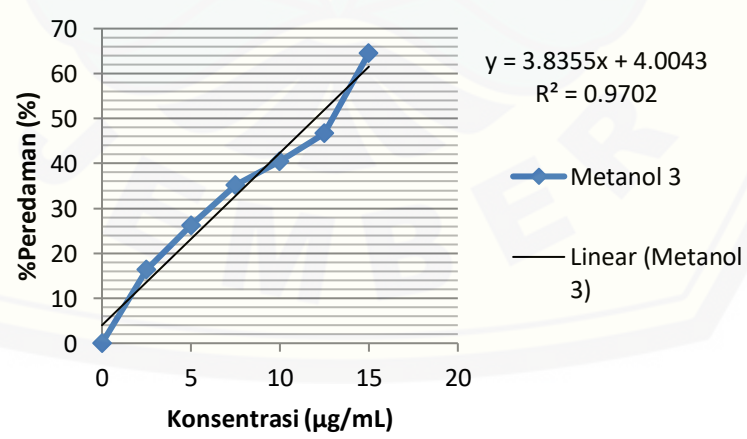
[Ekstrak] (µg/ml)	Abs A ⁰			Abs A ¹			% Peredaman		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
0,000	0,679	0,667	0,660	0,679	0,667	0,660	0,000	0,000	0,000
2,500	0,679	0,667	0,660	0,577	0,552	0,552	15,022	17,241	16,364
5,000	0,679	0,667	0,660	0,489	0,502	0,487	27,982	24,738	26,212
7,500	0,679	0,667	0,660	0,438	0,418	0,428	35,493	37,331	35,152
10,000	0,679	0,667	0,660	0,385	0,401	0,393	43,299	39,880	40,455
12,500	0,679	0,667	0,660	0,369	0,361	0,352	45,655	45,877	46,667
15,000	0,679	0,667	0,660	0,272	0,274	0,234	59,941	58,921	64,545



(a)



(b)

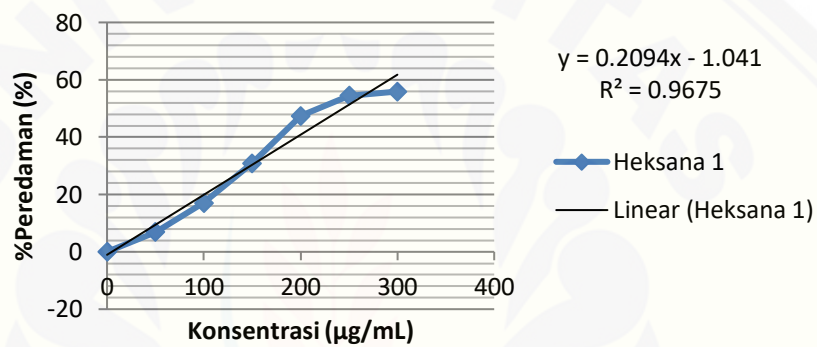


(c)

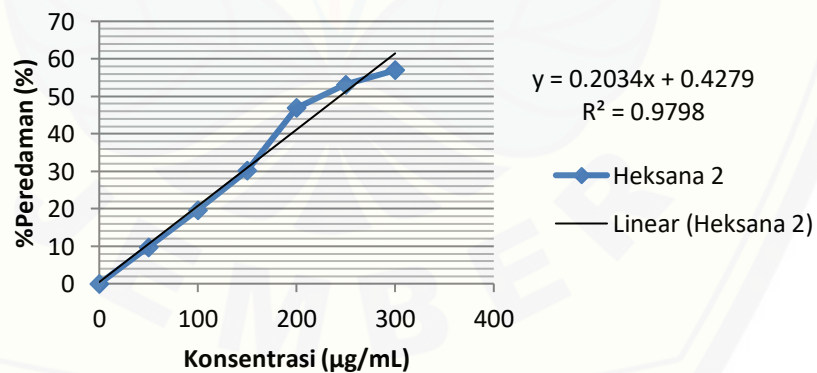
(a) pengulangan 1; (b) pengulangan 2; dan (c) pengulangan 3
Gambar kurva penentuan IC₅₀ ekstrak metanol

Tabel persen peredaman fraksi heksana terhadap radikal DPPH

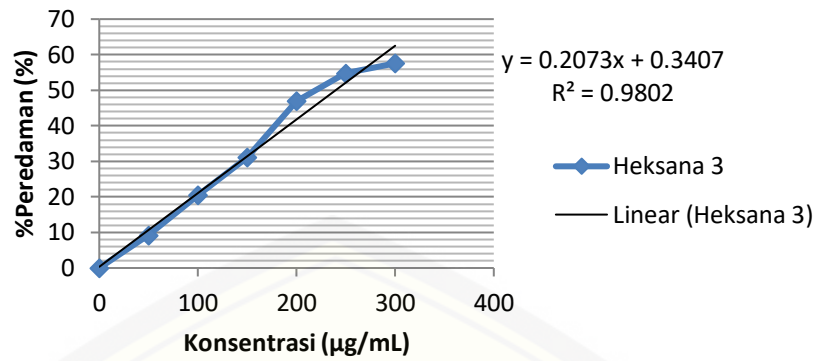
[Ekstrak] (µg/ml)	Abs A ⁰			Abs A ¹			% Peredaman		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
0,000	0,669	0,676	0,650	0,669	0,676	0,650	0,000	0,000	0,000
50,000	0,669	0,676	0,650	0,623	0,610	0,590	6,876	9,763	9,231
100,000	0,669	0,676	0,650	0,555	0,543	0,517	17,040	19,675	20,462
150,000	0,669	0,676	0,650	0,462	0,472	0,448	30,942	30,178	31,077
200,000	0,669	0,676	0,650	0,352	0,359	0,345	47,384	46,893	46,923
250,000	0,669	0,676	0,650	0,305	0,317	0,294	54,410	53,107	54,769
300,000	0,669	0,676	0,650	0,295	0,291	0,276	55,904	56,953	57,538



(a)



(b)

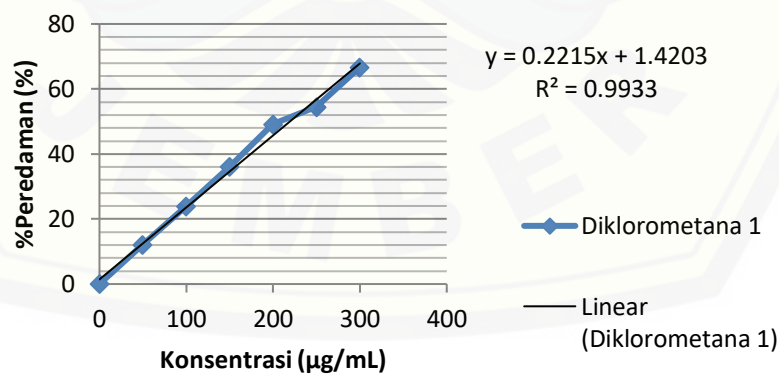


(c)

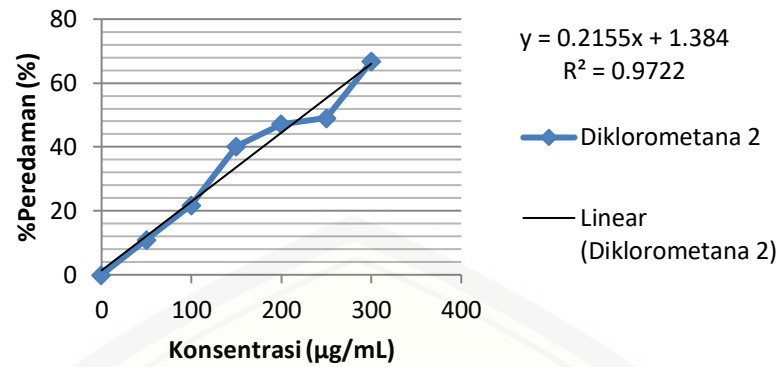
(a) pengulangan 1; (b) pengulangan 2; dan (c) pengulangan 3
Gambar kurva penentuan IC₅₀ fraksi heksana

Tabel persen peredaman fraksi diklorometana terhadap radikal DPPH

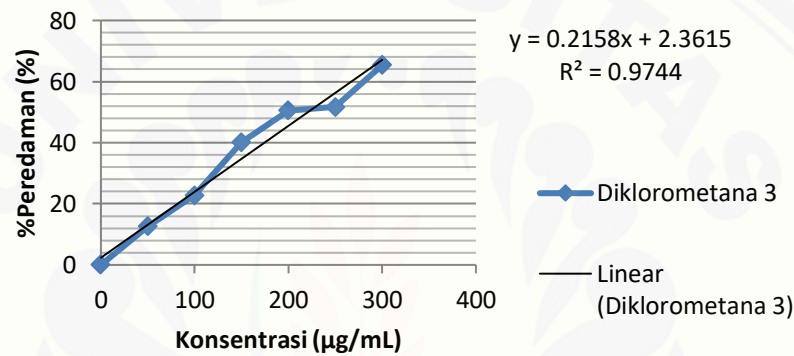
[Ekstrak] (µg/ml)	Abs A ⁰			Abs A ¹			% Peredaman		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
0,000	0,694	0,689	0,673	0,694	0,689	0,673	0,000	0,000	0,000
50,000	0,694	0,689	0,673	0,610	0,613	0,588	12,104	11,030	12,630
100,000	0,694	0,689	0,673	0,528	0,539	0,520	23,919	21,771	22,734
150,000	0,694	0,689	0,673	0,443	0,412	0,403	36,167	40,203	40,119
200,000	0,694	0,689	0,673	0,353	0,364	0,333	49,135	47,170	50,520
250,000	0,694	0,689	0,673	0,316	0,351	0,325	54,467	49,057	51,709
300,000	0,694	0,689	0,673	0,231	0,229	0,233	66,715	66,763	65,379



(a)



(b)

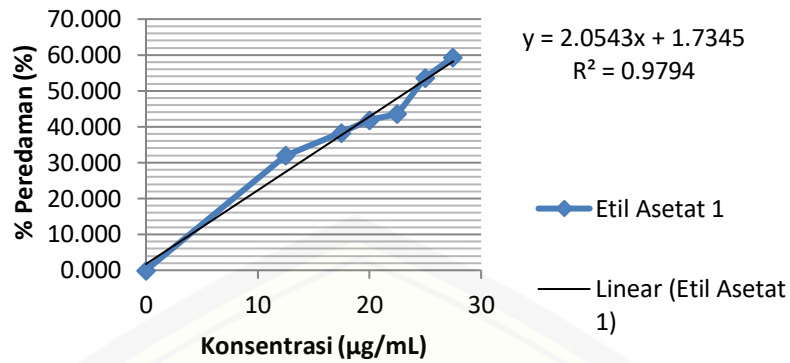


(c)

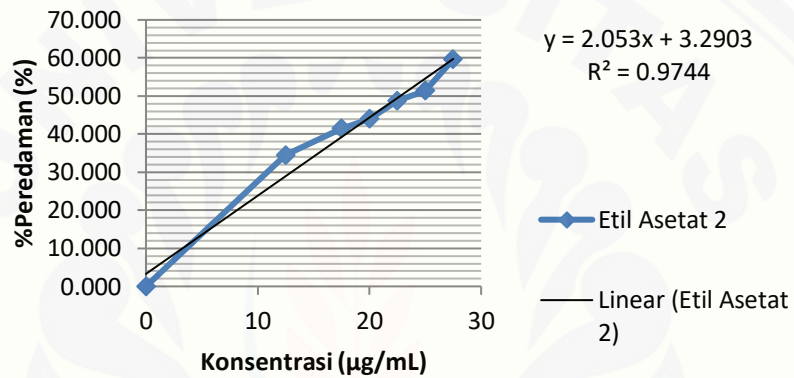
(a) pengulangan 1; (b) pengulangan 2; dan (c) pengulangan 3
Gambar kurva penentuan IC_{50} fraksi diklorometana

Tabel persen peredaman fraksi etil asetat terhadap radikal DPPH

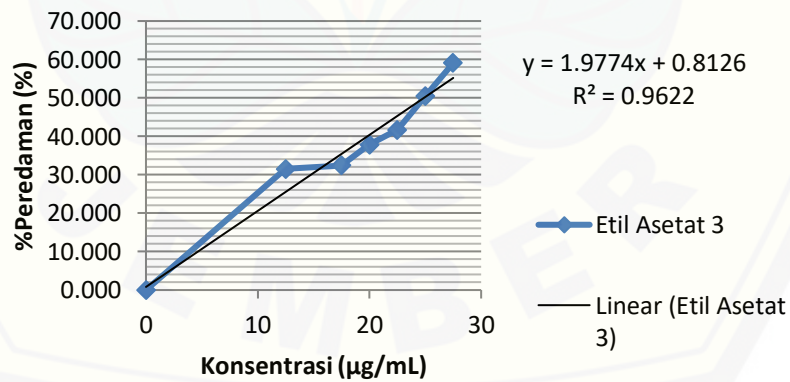
[Ekstrak] ($\mu\text{g/ml}$)	Abs A^0			Abs A^1			% Peredaman		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
0,000	0,663	0,644	0,645	0,663	0,644	0,645	0,000	0,000	0,000
12,500	0,663	0,644	0,645	0,451	0,422	0,442	31,976	34,472	31,473
17,500	0,663	0,644	0,645	0,409	0,377	0,436	38,311	41,460	32,403
20,000	0,663	0,644	0,645	0,385	0,361	0,401	41,931	43,944	37,829
22,500	0,663	0,644	0,645	0,374	0,330	0,376	43,590	48,758	41,705
25,000	0,663	0,644	0,645	0,307	0,313	0,320	53,695	51,398	50,388
27,500	0,663	0,644	0,645	0,269	0,260	0,264	59,427	59,627	59,070



(a)



(b)

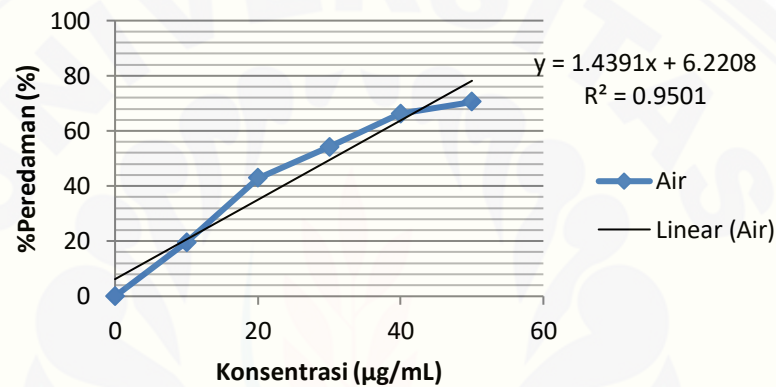


(c)

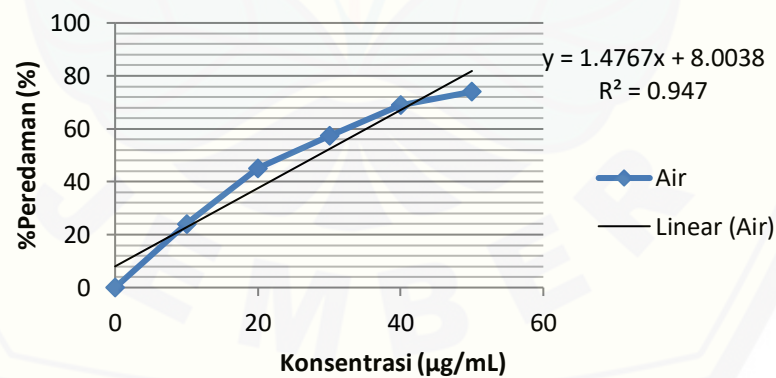
(a) pengulangan 1; (b) pengulangan 2; dan (c) pengulangan 3
Gambar kurva penentuan IC_{50} fraksi etil asetat

Tabel persen peredaman fraksi metanol berair terhadap radikal DPPH

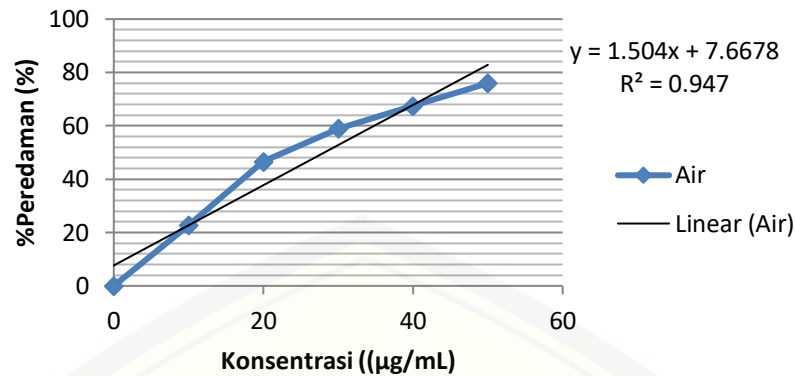
[Ekstrak] ($\mu\text{g/ml}$)	Abs A ⁰			Abs A ¹			% Peredaman		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
0,000	0,816	0,896	0,898	0,816	0,896	0,898	0,000	0,000	0,000
10,000	0,816	0,896	0,898	0,657	0,680	0,694	19,485	24,107	22,717
20,000	0,816	0,896	0,898	0,466	0,492	0,480	42,892	45,089	46,548
30,000	0,816	0,896	0,898	0,374	0,382	0,369	54,167	57,366	58,909
40,000	0,816	0,896	0,898	0,276	0,278	0,292	66,176	68,973	67,483
50,000	0,816	0,896	0,898	0,241	0,233	0,216	70,466	73,996	75,947



(a)



(b)

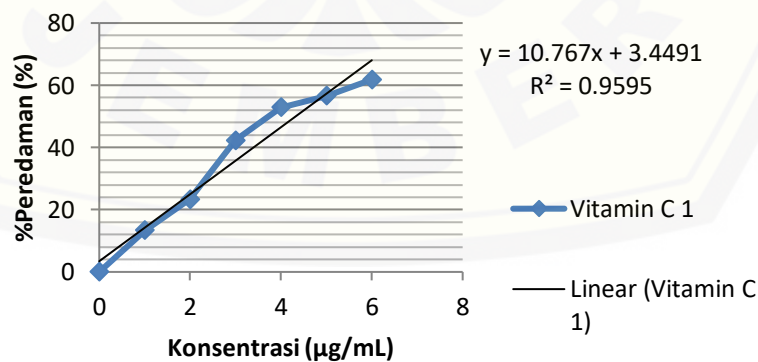


(c)

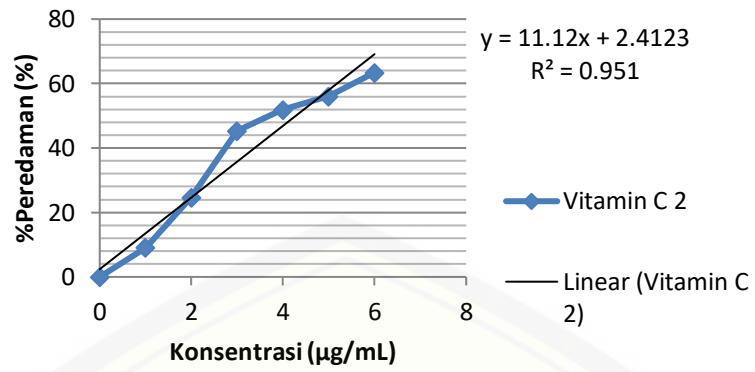
(a) pengulangan 1; (b) pengulangan 2; dan (c) pengulangan 3
Gambar kurva penentuan IC₅₀ fraksi metanol berair

Tabel persen peredaman vitamin C terhadap radikal DPPH

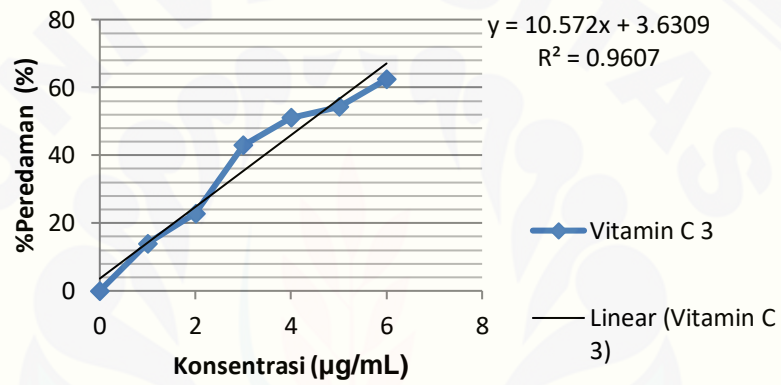
[Ekstrak] (µg/ml)	Abs A ⁰			Abs A ¹			% Peredaman		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
0,000	0,613	0,607	0,601	0,613	0,607	0,601	0,000	0,000	0,000
1,000	0,613	0,607	0,601	0,531	0,552	0,517	13,377	9,061	13,977
2,000	0,613	0,607	0,601	0,470	0,457	0,464	23,328	24,712	22,795
3,000	0,613	0,607	0,601	0,354	0,332	0,343	42,251	45,305	42,928
4,000	0,613	0,607	0,601	0,289	0,292	0,294	52,855	51,895	51,082
5,000	0,613	0,607	0,601	0,266	0,267	0,275	56,607	56,013	54,243
6,000	0,613	0,607	0,601	0,234	0,222	0,226	61,827	63,427	62,396



(a)



(b)



(c)

(a) pengulangan 1; (b) pengulangan 2; dan (c) pengulangan 3
Gambar kurva penentuan IC₅₀ vitamin C

Tabel IC₅₀ uji antioksidan terhadap radikal DPPH

Sampel	Pengulangan	IC ₅₀ (µg/ml)	Rata-rata IC ₅₀ (µg/ml)
EM	1	12,285	12,280±0,283
	2	12,560	
	3	11,994	
EH	1	244,215	242,774±2,486
	2	244,202	
	3	239,903	
ED	1	219,796	222,498±3,261
	2	226,121	
	3	221,577	
EE	1	23,499	23,125±1,128
	2	22,752	
	3	24,969	
EA	1	30,424	29,008±0,043
	2	28,453	
	3	28,147	
EK	1	4,326	4,331±0,054
	2	4,279	
	3	4,387	

Lampiran 6. Perhitungan Persen Peredaman Sampel Terhadap Radikal Superoksida

A_0 = *slope* kontrol

A_1 = *slope* sampel.

$$\text{Persen peredaman radikal} = \left[\frac{(A_0 - A_1)}{A_0} \right] \times 100\%$$

Tabel *slope* uji antioksidan terhadap radikal superoksida

Sampel	A_0	Rata-rata A_0	A_1	Regresi	% Peredaman	Rata-rata % Peredaman
M	0,264	0,267	0,194	0,994	27,429	26,333±1,084
	0,269	0,267	0,200	0,997	25,262	
	0,269	0,267	0,197	0,997	26,308	
H	0,264	0,267	0,281	0,995	-	-
	0,269	0,267	0,285	0,998	-	
	0,269	0,267	0,287	0,998	-	
DCM	0,264	0,267	0,309	0,998	-	-
	0,269	0,267	0,305	0,998	-	
	0,269	0,267	0,305	0,997	-	
EA	0,428	0,424	0,385	0,999	9,078	9,353±0,261
	0,423	0,424	0,384	0,999	9,385	
	0,421	0,424	0,383	0,999	9,597	
MA	0,428	0,424	0,475	0,999	-	-
	0,423	0,424	0,468	0,999	-	
	0,421	0,424	0,473	0,999	-	
S	0,248	0,240	0,041	0,972	82,839	79,921±2,581
	0,239	0,240	0,053	0,975	77,937	
	0,234	0,240	0,050	0,972	78,987	

Lampiran 7. Perhitungan Persen Peredaman Sampel Terhadap Radikal Hidroksil

A_0 = Absorbansi kontrol tanpa 2-deoksi-D-ribosa

A_1 = Absorbansi kontrol dengan 2-deoksi-D-ribosa

A = $A_0 - A_1$

B_0 = Absorbansi sampel tanpa 2-deoksi-D-ribosa

B_1 = Absorbansi sampel dengan 2-deoksi-D-ribosa

B = $B_0 - B_1$

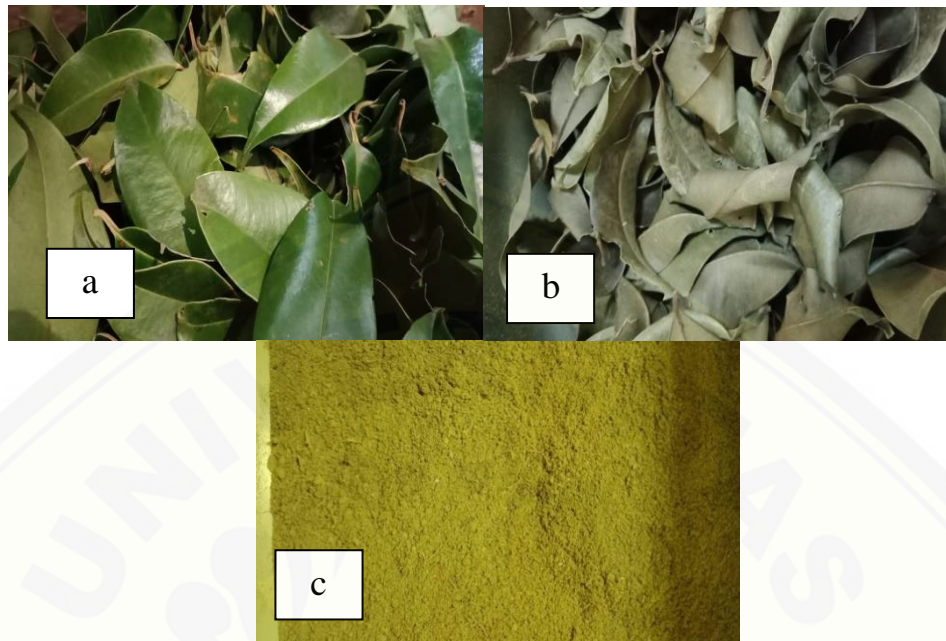
$$\text{Persen peredaman radikal} = \left[\frac{(A-B)}{A} \right] \times 100\%$$

Tabel absorbansi kontrol uji antioksidan terhadap radikal hidroksil

A_0	A_1	A	Rata-rata
0,066	0,365	0,299	0,304
0,069	0,384	0,315	
0,066	0,364	0,298	

Tabel absorbansi sampel uji antioksidan terhadap radikal hidroksil

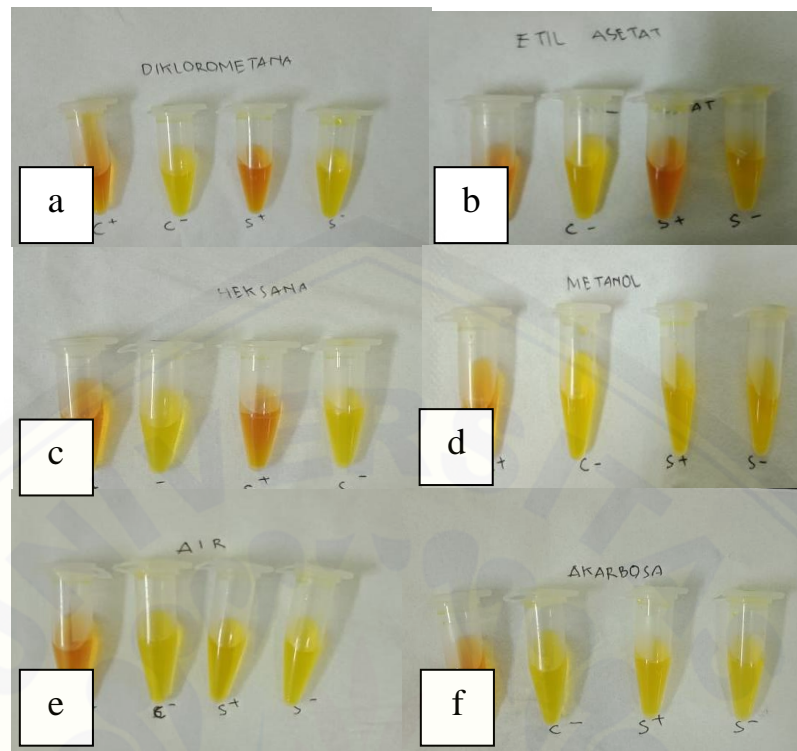
Sampel	B_0	B_1	B	% Peredaman	Rata-rata % Peredaman
M	0,068	0,305	0,237	22,039	21,491±0,685
	0,070	0,308	0,238	21,711	
	0,071	0,312	0,241	20,724	
H	0,086	0,364	0,278	8,553	8,553±0,329
	0,087	0,364	0,277	8,882	
	0,092	0,371	0,279	8,224	
DCM	0,074	0,356	0,282	7,237	7,127±0,190
	0,078	0,361	0,283	6,908	
	0,082	0,364	0,282	7,237	
EA	0,082	0,339	0,257	15,461	16,009±0,502
	0,084	0,339	0,255	16,118	
	0,089	0,343	0,254	16,447	
MA	0,059	0,265	0,206	32,237	32,127±1,483
	0,062	0,264	0,202	33,553	
	0,062	0,273	0,211	30,592	
S	0,060	0,247	0,187	38,487	38,048±0,502
	0,060	0,248	0,188	38,158	
	0,060	0,250	0,190	37,500	

Lampiran 8. Dokumentasi Penelitian

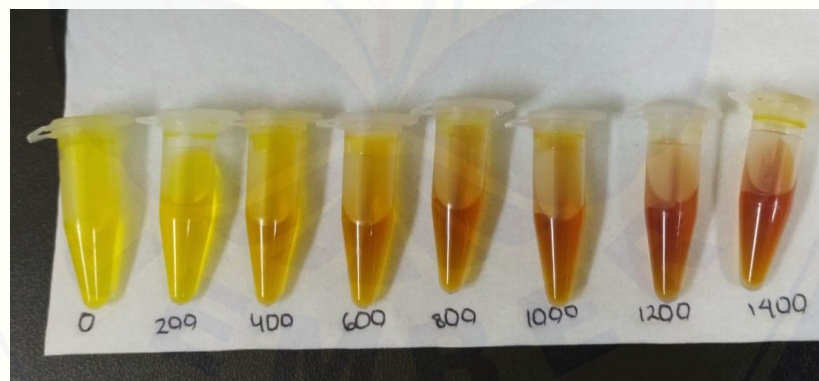
Gambar 1. Sampel daun Jambon segar (a), kering (b), simplisia (c)



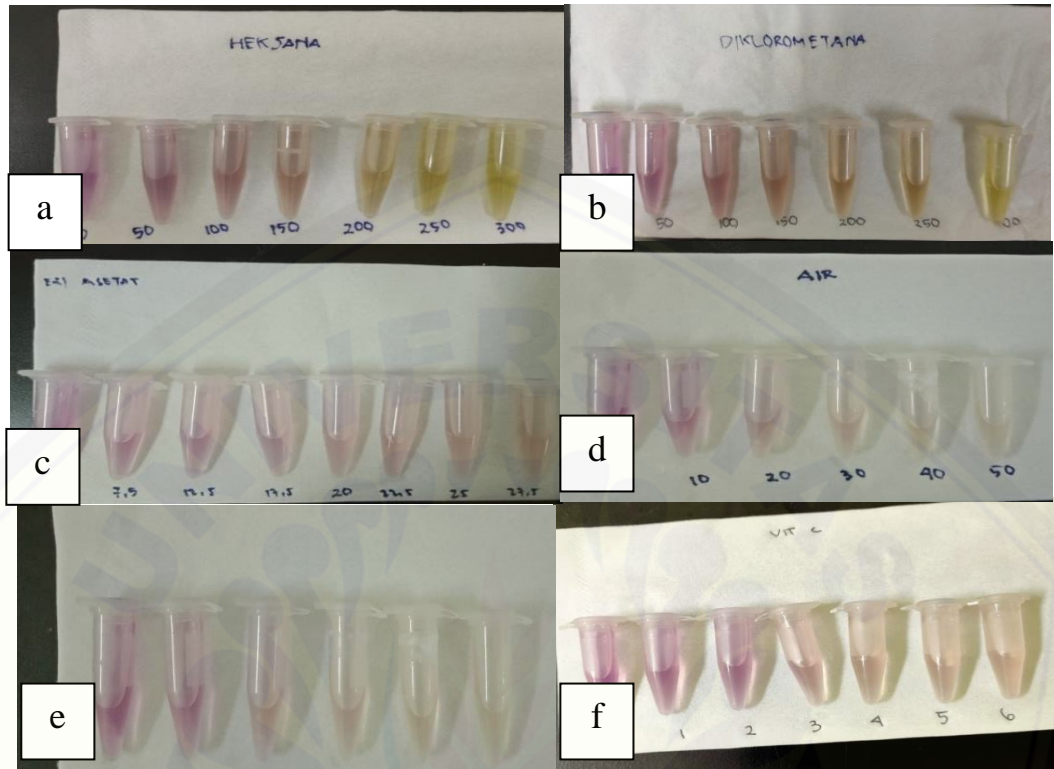
Gambar 2. Ekstrak metanol, fraksi heksana, fraksi diklorometana, fraksi etil asetat, fraksi metanol berair



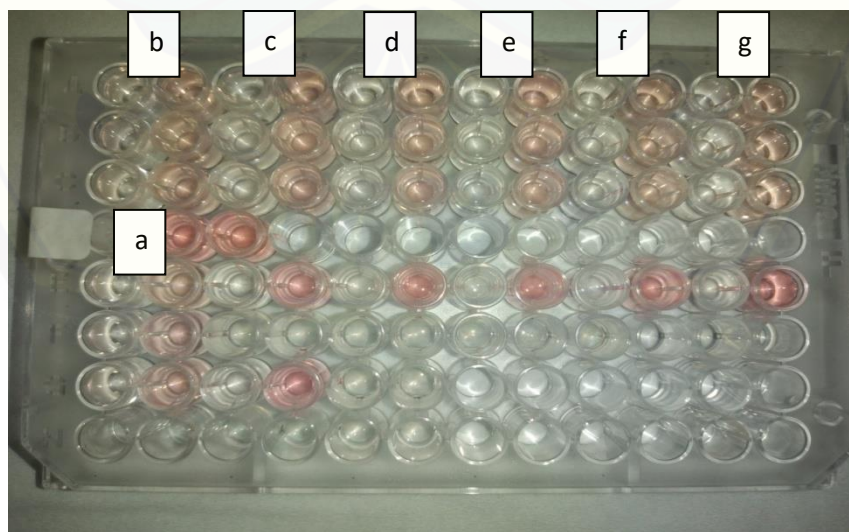
Gambar 3. Hasil uji inhibisi α -amilase fraksi diklorometana (a), etil asetat (b), heksana (c), metanol (d), air (e), akarbosa (f)



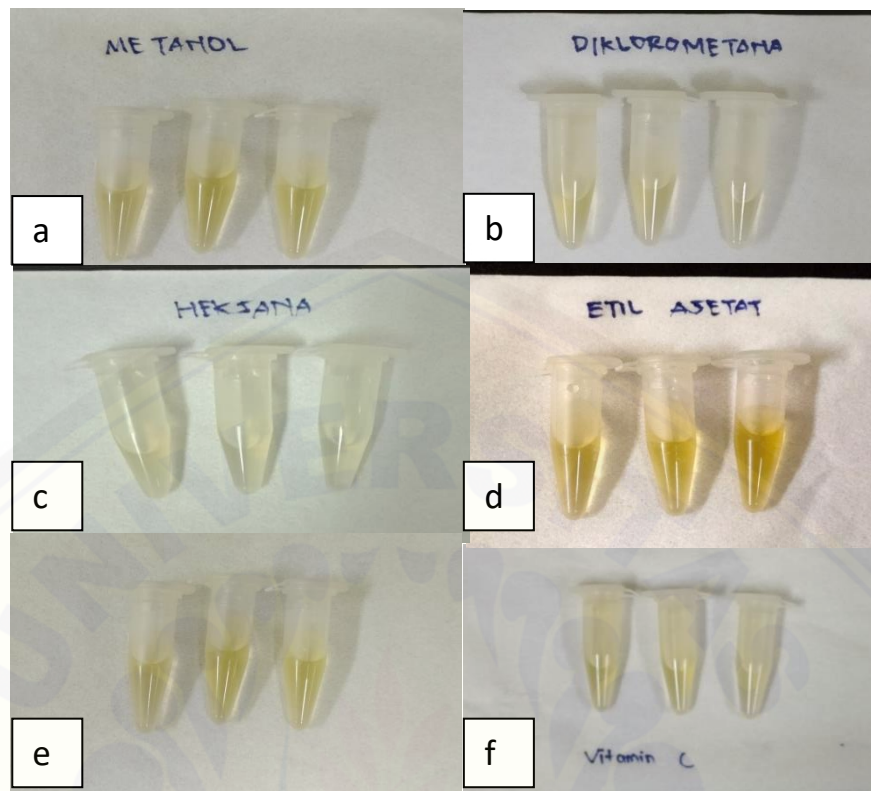
Gambar 4. Pembuatan kurva standar maltosa



Gambar 5. Hasil uji DPPH fraksi heksana (a), diklorometana (b), etil asetat (c), air (d), ekstrak metanol (e). dan vitamin C (e)



Gambar 6. Hasil uji hidroksil kontrol (a), ekstrak metanol (b), fraksi heksana (c), diklorometana (d), etil asetat (e), air (f), dan vitamin C (g)



Gambar 7. Hasil uji superoksida ekstrak metanol (a), fraksi diklorometana (b), heksana (c), etil asetat (d), air (e) dan vitamin C (f)