



**UJI AKTIVITAS INHIBITOR ALFA-GLUKOSIDASE
FRAKSI ETANOL DAUN KENITU (*Chrysophyllum cainito* L.)
BERBAGAI VARIAN DARI DAERAH JEMBER**

SKRIPSI

Diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi syarat untuk menyelesaikan Studi Farmasi (S1) dan mencapai gelar Sarjana Farmasi

Oleh:
Zahrotul Hikmah
NIM 112210101081

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS JEMBER
2015**

PERSEMBAHAN

Alhamdulillah dengan sepenuh hati dan jiwa saya persembahkan skripsi ini untuk:

1. Kedua orang tua tercinta, Ibu Musliha dan Bapak Muallim
2. Kedua kakak penulis, Ainun Makrifah dan Rahmad Hidayat
3. Guru-guru penulis sejak TK Muslimat NU, SD Negeri 2 Rogotruman, SMP Negeri 1 Sukodono, SMA Negeri 2 Lumajang dan Dosen Fakultas Farmasi Universitas Jember
4. Almamater Fakultas Farmasi Universitas Jember.

MOTTO

“Barang siapa bersungguh-sungguh, sesungguhnya kesungguhannya itu adalah untuk dirinya sendiri”

(Q.S. Al- Ankabut : 6)

“*Man Jadda Wajadda*”

(A. Rifa’i Rif’an)

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

(Al-Muntabi)

“Masa depan hanyalah milik orang-orang yang percaya akan keindahan mimpi-mimpi mereka”

(Eleanor Roosevelt)

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Zahrotul Hikmah

NIM : 1122101010381

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Uji Aktivitas Inhibitor Enzim Alfa-glukosidase Fraksi Etanol Daun Kenitu (*Chrysophyllum cainito* L.) Berbagai Varian di Daerah Jember” adalah benar – benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada instansi manapun, serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

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

Jember, 10 Agustus 2015

Yang menyatakan,

Zahrotul Hikmah

NIM 112210101081

SKRIPSI

**UJI AKTIVITAS INHIBITOR ALFA-GLUKOSIDASE
FRAKSI ETANOL DAUN KENITU (*Chrysophyllum cainito* L.)
BERBAGAI VARIAN DARI DAERAH JEMBER**

**Oleh:
Zahrotul Hikmah
NIM 112210101081**

Pembimbing

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

Dosen Pembimbing Anggota : Siti Muslichah S.Si., M.Si., Apt.

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Uji Aktivitas Inhibitor Enzim Alfa-glukosidase Fraksi Etanol Daun Kenitu (*Chrysophyllum cainito* L.) Berbagai Varian di Daerah Jember” telah diuji dan disahkan pada:

Hari, tanggal :

Tempat : Fakultas Farmasi Universitas Jember

Tim Pembimbing

Pembimbing Utama,

Pembimbing Anggota,

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

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

Tim Penguji

Penguji I,

Penguji II,

Afifah Machlaurin, S.Farm., Apt.,M.Sc.
NIP. 198501262008012003

Nia Kristiningrum S.Farm.,M.Farm.,Apt.
NIP. 198204062006042001

Mengesahkan

Dekan,

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

RINGKASAN

Uji Aktivitas Inhibitor Enzim Alfa-glukosidase Fraksi Etanol Daun Kenitu (*Chrysophyllum cainito* L.) Berbagai Varian di Daerah Jember; Zahrotul Hikmah; 112210101081; 2015; 75 halaman; Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Prevalensi diabetes yang terus meningkat baik di dunia maupun di Indonesia, menjadikan diabetes menjadi permasalahan kesehatan global yang perlu segera ditangani. Kenitu (*Chrysophyllum cainito* L.) merupakan salah satu tumbuhan yang berpotensi untuk dikembangkan sebagai agen antidiabetes dengan mekanisme penghambatan enzim alfa-glukosidase karena adanya kandungan polifenol di dalamnya yang diduga memiliki aktivitas antidiabetes yakni menghambat enzim alfa-glukosidase. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas inhibisi alfa-glukosidase dan kadar fenolik total fraksi etanol daun kenitu berbagai varian (HL, BK, BB, dan MR), serta mengetahui korelasi antara kadar fenolik total dengan aktivitas penghambatan enzim alfa-glukosidase.

Penelitian ini merupakan penelitian *eksperimental laboratories*, menggunakan enzim alfa-glukosidase untuk uji aktivitas inhibisi alfa-glukosidase dan reagen folin untuk uji kadar fenolik total. Untuk uji inhibisi alfa-glukosidase, akarbose digunakan sebagai kontrol positif dan dibuat 5 macam konsentrasi yaitu 2.500, 5.000, 7.500, 10.000, 15.000, dan 20.000 µg/ml sedangkan fraksi etanol daun kenitu menggunakan 8 macam konsentrasi yaitu 25; 10; 5; 1; 0,5; 0,1; 0,05; dan 0,01 µg/ml kemudian dilakukan pembacaan absorbansi sel dengan menggunakan ELISA *reader* untuk mengetahui persen penghambatan enzim alfa-glukosidase setelah diberi perlakuan ekstrak. Hasil dari persen penghambatan, dianalisis data dengan menggunakan program probit dan diperoleh nilai IC₅₀ akarbose, varian HL, BK, BB, dan MR berturut-turut yaitu $6.488,333 \pm 80,830$; $0,280 \pm 0,003$; $0,285 \pm 0,005$; $0,287 \pm 0,005$; dan $0,932 \pm 0,015$ µg/ml.

Pada uji kadar fenolik total menggunakan standar asam galat dan diperoleh persamaan regresi. Masing-masing varian kenitu dibuat beberapa konsentrasi kemudian dilakukan pembacaan absorbansi sel dengan menggunakan ELISA *reader*. Kadar fenolik total yang diperoleh varian HL, BK, BB, dan MR berturut-turut adalah $0,482 \pm 0,002$; $0,420 \pm 0,006$; $0,416 \pm 0,002$; dan $0,149 \pm 0,001$ mg GAE. Korelasi antara kadar fenolik total dengan aktivitas inhibisi enzim alfa-glukosidase dihitung menggunakan analisis Pearson, hasilnya yang memiliki korelasi adalah varian BK dan korelasinya berlawanan arah yaitu semakin tinggi kadar fenolik total maka semakin rendah nilai IC_{50} nya. Sehingga dapat dikatakan bahwa polifenol berpengaruh pada aktivitas penghambatan enzim alfa-glukosidase pada varian BK. Sedangkan pada ketiga varian lainnya yaitu HL, BB, dan MR tidak terdapat korelasi, artinya senyawa polifenol tidak berpengaruh pada aktivitas penghambatan enzim alfa-glukosidase. Hal ini kemungkinan adanya senyawa lain yang berpengaruh seperti triterpenoid.

PRAKATA

Bismillahirrohmanirohim

Puji syukur ke hadirat ALLAH SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Uji Aktivitas Inhibitor Enzim Alfa-glukosidase Fraksi Etanol Daun Kenitu (*Chrysophyllum cainito* L.) Berbagai Varian di Daerah Jember”. Sholawat dan salam semoga tetap tercurahkan kepada Nabi Muhammad SAW beserta keluarga dan sahabatnya.

Dengan terselesaikannya skripsi ini, penulis menyadari dan mengakui bahwa upaya, doa, arahan, bimbingan, dan dukungan dari keluarga maupun dosen pembimbing serta pihak-pihak lainnya sangat membantu dalam terselesaikannya skripsi ini. Oleh karena itu, pada kesempatan ini, dengan sepenuh hati penulis mengucapkan terima kasih yang tak terhingga dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada yang terhormat:

1. Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember, Ibu Lestyo Wulandari S.Si., M.Farm., Apt., atas kesempatan yang diberikan kepada penulis untuk menyelesaikan skripsi ini serta sebagai dosen pembimbing akademik penulis yang selalu membimbing penulis dalam menempuh pendidikan;
2. Ibu Endah Puspitasari S.Farm., M.Sc., Apt., selaku dosen pembimbing utama dan Ibu Siti Muslichah S.Si., M.Si., Apt., selaku dosen pembimbing anggota yang telah meluangkan waktu, pikiran, tenaga, dan perhatiannya dalam membantu dan membimbing penulis hingga akhir penyusunan skripsi ini;
3. Bapak Moch.Amrun Hidayat, yang telah meluangkan waktu, materi, pikiran, tenaga, dan perhatiannya dalam membantu dan membimbing penulis hingga akhir penyusunan skripsi ini
4. Ibu Afifah Machlaurin, S.Farm., Apt.,M.Sc. dan Ibu Nia Kristiningrum, S.Farm., M.Farm., Apt. yang telah meluangkan waktu untuk menguji dan mengevaluasi skripsi ini;

5. Bapak dan Ibu dosen Fakultas Farmasi Universitas Jember yang tanpa lelah telah mengamalkan ilmunya dan memperluas ilmu pengetahuan serta wawasan penulis selama menempuh masa kuliah;
6. Pimpinan dan para karyawan Fakultas Farmasi Universitas Jember atas bantuannya selama penulis belajar di Fakultas Farmasi Universitas Jember;
7. Kedua orang tua penulis, Ibu Muslichah dan Bapak Mualim, atas doa yang tiada henti, semangat tiada surut, dan kasih sayang yang tidak pernah padam. Semoga keberhasilanku ini dapat menjadi kebanggaan dan kebahagiaan bapak dan ibu sekalian, agar aku bisa berarti di mata kalian untuk bisa melukiskan kebahagiaan di wajah kalian.
8. Kedua Kakak penulis: Ainun Makrifah dan Rahmad Hidayat atas kasih sayang, doa, dan semangat yang tiada henti kalian berikan.
9. Ketiga Adik Sepupu penulis: Acha, Fian, dan Agam atas kasih sayang, doa, dan semangat yang tiada henti kalian berikan.
10. Keempat Bude dan Pakde penulis: Ibu Halimah, Bapak Arifin, Ibu Asiyah, dan Bapak Sutomo atas kasih sayang, doa, dan semangat yang tiada henti kalian berikan.
11. Teman dekat penulis: Lukman Fakhruddin A, atas kasih sayang, doa, dan semangat yang tiada henti diberikan
12. Sahabat seperjuangan Liza, Liyas, dan Zuhro atas semangat kerja keras, dan kekompakan selama pengerjaan skripsi dan penelitian ini;
13. Sahabat–sahabat terbaik di kampus: Iim, Yuni, Icha, Moli, dan Alela yang selalu mensupport, memberikan dukungan, dan semangat.
14. Sahabat–sahabat skripsi tempat berkeluh kesah: Pipit, Risti, Lintang, Defi, Alifia, Mely, Yun, Elisa, Estika, Lili, Okta, Yeni, Tiwi, Habibi, dan Vita atas kebersamaan, bantuan, dan semangatnya dalam menyelesaikan penelitian ini.
15. Bu Widi dan Mbak Anggra selaku teknisi laboratorium Biologi atas bantuannya;
16. Sahabat-sahabat seangkatan Fakultas Farmasi Universitas Jember, “Farmasi 2011, ASMEF BISA !!!”

17. Sahabat-sahabat di kosan Brantas 6: Mbak Diah, Mbak Husnul, Mbak Anif, Mbak Novita, Mbak Yohana, Mbak Diana, Pipit, Mbak Onik, dan Rifa
18. Sahabat-sahabat KKN Desa Darungan Kec. Yosowilangun, Lumajang: Agung, Dian, Defri, Amar, Nila, Rahmad, Putri, Huda, Mas Fery, dan Vico, atas kebersamaan kalian selama 45 hari di posko KKN;
19. Serta semua pihak yang tidak bisa saya sebutkan satu persatu atas bantuan dan perhatiannya baik langsung maupun tidak langsung serta inspirasi bagi penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.

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

Jember, 10 Agustus 2015

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSEMBAHAN	ii
HALAMAN MOTTO	iii
HALAMAN PERNYATAAN.....	iv
HALAMAN PEMBIMBINGAN.....	v
HALAMAN PENGESAHAN.....	vi
RINGKASAN	vii
PRAKATA	ix
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR.....	xvi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xvii
DAFTAR SINGKATAN.....	xviii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	4
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	5
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1 Kenitu (<i>Chrysophyllumcainito</i> L.).....	6
2.1.1 Klasifikasi Kenitu	6
2.1.2 Deskripsi Pohon.....	6
2.1.3 Kandungan Kimia Kenitu.....	8
2.1.4 Kegunaan Kenitu	8
2.2 Diabetes Mellitus.....	9
2.2.1 Definisi dan Patofisiologis Diabetes Mellitus	9

2.2.2 Penggolongan Diabetes Mellitus	10
2.2.3 Pengobatan Diabetes Mellitus	12
2.3 Alfa-glukosidase	14
2.3.1 Pengertian Alfa-glukosidase.....	14
2.3.2 Mekanisme Penyerapan Glukosa Melalui Glukosa Transporter	15
2.3.3 Mekanisme Inhibisi Alfa-glukosidase	16
2.3.4 Penghambatan Flavonoid pada Inhibitor Alfa-glukosidase.....	19
2.3.5 Uji Penghambatan Alfa-glukosidase	19
BAB.3 METODE PENELITIAN	21
3.1 Jenis Penelitian	21
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian	21
3.3 Variabel Penelitian	21
3.4 Definisi Operasional	22
3.5 Alat dan Bahan	22
3.5.1 Alat	22
3.5.2 Bahan	22
3.6 Cara Kerja.....	23
3.6.1 Penyiapan Simplisia	23
3.6.2 Ekstraksi	23
3.6.3 Fraksinasi.....	23
3.6.4 Uji Aktivitas Inhibitor Alfa-glukosidase	24
3.6.5 Identifikasi Golongan Senyawa Kimia.....	27
3.6.6 Penetapan Kadar Total Polifenol.....	29
3.7 Analisis Data	30
3.8 Skema Penelitian.....	31
BAB.4 HASIL DAN PEMBAHASAN.....	32
4.1 Hasil Ekstraksi	32
4.2 Hasil Fraksinasi	32
4.3 Hasil Identifikasi Golongan Senyawa Kimia	32

4.4 Hasil Kadar Fenolik Total	33
4.5 Hasil Uji Inhibitor Alfa-glukosidase	35
4.6 Korelasi antara Kadar Fenolik Total dengan Nilai IC₅₀.....	37
4.7 Pembahasan	38
BAB.5 PENUTUP.....	44
5.1 Kesimpulan.....	44
5.2 Saran.....	44
DAFTAR PUSTAKA	45
LAMPIRAN.....	50

DAFTAR TABEL

	Halaman
2.1 Kriteria penegakan diagnosis	10
3.1 Prosedur uji inhibitor alfa-glukosidase	27
4.1 Rendemen ekstrak etanol 70%	32
4.2 Rendemen fraksi etanol.....	32
4.3 Identifikasi senyawa kimia berbagai varian.....	33
4.4 Perbandingan nilai IC ₅₀ berbagai ekstrak daun kenitu berbagai varian	40

DAFTAR GAMBAR

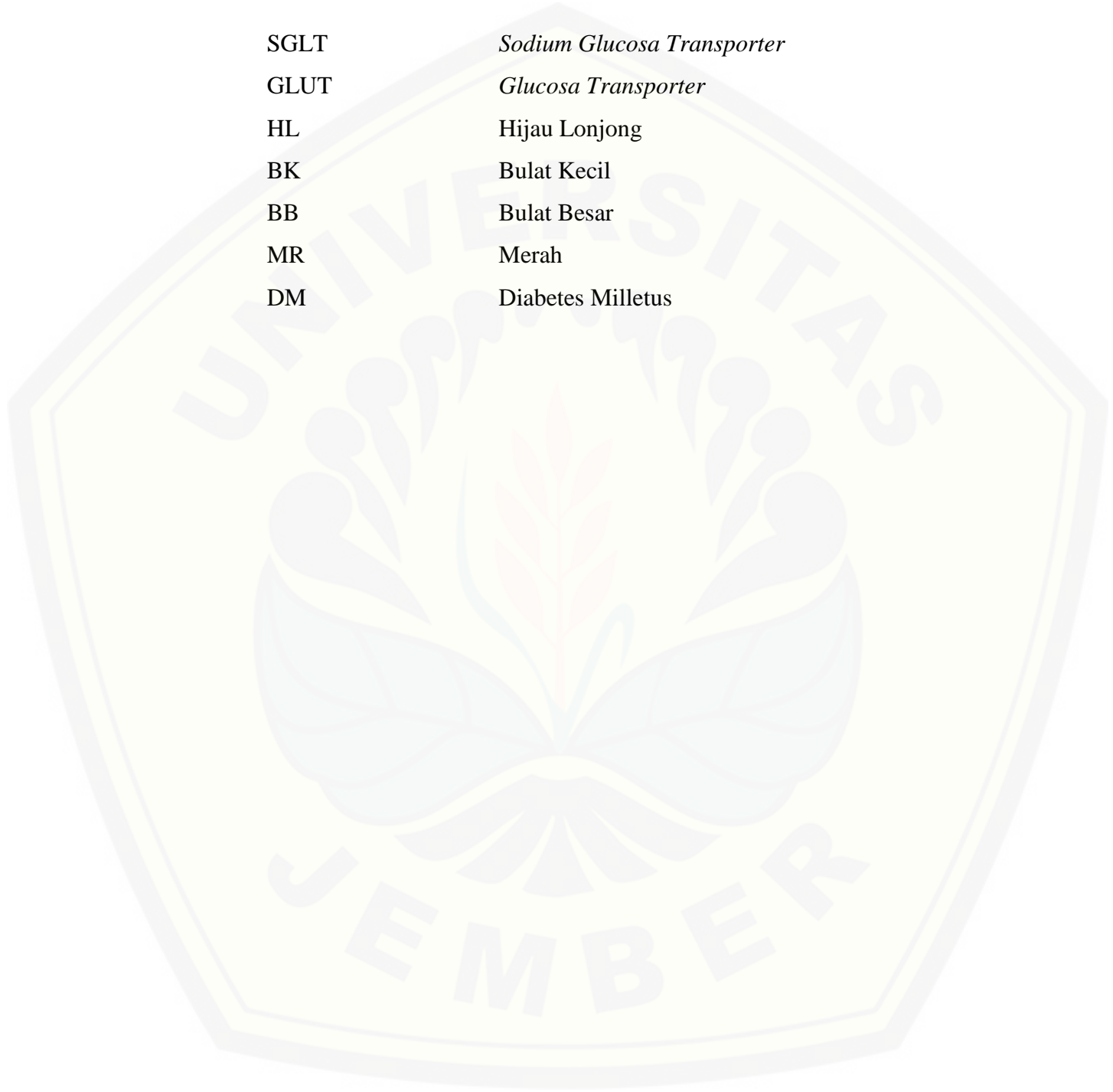
	Halaman
2.1 Morfologi daun kenitu.....	7
2.2 Morfologi daun kenitu.....	7
2.3 Mekanisme hidrolisis dengan katalis alfa-glukosidase	14
2.4 Mekanisme penyerapan glukosa	16
2.5 Proses pemecahan pati dan sukrosa pada enzim alfa-glukosidase di usus.....	17
2.6 Struktur kimia akarbose	18
2.7 Mekanisme inhibisi alfa-glukosidase	18
2.8 Struktur umum flavonoid	19
2.9 Reaksi enzimatik alfa-glukosidase dan p-nitrofenil- α -D-glukopiranosida.....	20
3.1 Skema penelitian aktivitas inhibitor alfa-glukosidase.....	31
4.1 Persamaan regresi standar asam galat	34
4.2 Kadar fenolik total fraksi etanol daun kenitu berbagai varian	34
4.3 Profil persamaan regresi konsentrasi akarbose vs inhibisi (%).....	35
4.4 Profil persamaan regresi konsentrasi fraksi etanol daun vs inhibisi (%)	36
4.5 Nilai IC_{50} fraksi daun kenitu berbagai varian.....	37
4.6 Persamaan regresi kadar fenolik total fraksi daun kenitu berbagai varian vs IC_{50}	38

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1	
1.1 Hasil uji aktivitas inhibitor alfa-glukosidase	50
1.2 Persamaan regresi konsentrasi sampel vs inhibisi	53
Lampiran 2	
2.1 Nilai IC ₅₀ fraksi kenitu berbagai varian	56
2.2 Analisis probit.....	56
Lampiran 3 Uji <i>one way anova</i> IC ₅₀ berbagai varain kenitu.....	63
Lampiran 4	
4.1 Standar asam galat	63
4.2 Persamaan regresi	64
4.3 Sampel fraksi etanol kenitu berbagai varian.....	64
Lampiran 5	
5.1 Perhitungan sampel inhibitor alfa-glukosidase.....	66
5.2 Perhitungan sampel kadar fenolik total.....	67
Lampiran 6 Uji <i>one way annova</i> kadar fenolik total.....	69
Lampiran 7 Identifikasi glongan senyawa kimia	71
Lampiran 8 Hasil <i>one way anova</i> nilai IC ₅₀ pada ekstrak etanol 70%, fraksi etil asetat, dan fraksi etanol daun kenitu berbagai varian	74
Lampiran 9 Determinasi daun kenitu.....	77

DAFTAR SINGKATAN

SGLT	<i>Sodium Glucosa Transporter</i>
GLUT	<i>Glucosa Transporter</i>
HL	Hijau Lonjong
BK	Bulat Kecil
BB	Bulat Besar
MR	Merah
DM	Diabetes Milletus



BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Diabetes Mellitus (DM) merupakan suatu penyakit yang ditandai dengan tingginya kadar gula darah disertai dengan gangguan metabolisme karbohidrat, lipid dan protein sebagai akibat penurunan fungsi dari insulin. Gangguan metabolisme karbohidrat menimbulkan kadar glukosa di dalam tubuh yang tinggi (hiperglikemia). Hal ini dikarenakan karbohidrat yang telah dipecah oleh enzim pemecah ikatan glikosida yaitu alfa-amilase dan alfa-glukosidase masuk ke dalam usus dan mengalami penyerapan pada batas pertemuan (*brush border*) sel usus (Katzung, 2002).

Populasi penderita DM di dunia tergolong tinggi. Di Amerika Serikat, populasi penderita DM pada tahun 2012 berkisar 29,1 juta atau 9,3% dari seluruh total penduduknya (*National Diabetes Statistic Report, 2014*). Sedangkan di Indonesia pada tahun 2013, jumlah penderita diabetes sebanyak 8,5 juta jiwa dan diperkirakan pada tahun 2035 meningkat hingga 14,1 juta jiwa (*International Diabetes Federation, 2013*). Provinsi di Indonesia yang memiliki penderita diabetes terbesar adalah Sulawesi Tengah sebesar 3,7% sedangkan untuk daerah Jawa Timur sebesar 2,5% (Kemenkes, 2014).

Pengobatan pada penderita DM dilakukan dengan injeksi insulin dan obat-obatan oral modern seperti sulfonilurea, biguanid, thiazolidinedion, dan alfa-glukosidase inhibitor. Obat alfa-glukosidase inhibitor ini digunakan untuk mengobati penderita DM tipe 2. Sifat hipoglikemik dari obat ini berasal dari penghambatan yang bersifat *reversible* dan kompetitif terhadap enzim pencernaan karbohidrat di usus seperti alfa-amilase, alfa-glukosidase, sukrase, dan maltase. Enzim ini akan menghidrolisis karbohidrat menjadi glukosa (Sugiwati *et al.*, 2009). Pada penderita DM, ekspresi *Sodium Glucose Transporters 1* (SGLT1) dan

Glucose Transporters 2 (GLUT2) mRNA dan enzim penghidrolisis karbohidrat meningkat hingga tiga kali lipat di dalam usus sehingga pengambilan glukosa ke dalam usus ikut meningkat juga. Akibatnya, kadar glukosa dalam tubuh menjadi tinggi sehingga penghambatan pada enzim alfa-glukosidase perlu untuk dilakukan (Williamson, 2013).

Obat-obatan komersil inhibitor alfa-glukosidase yang ada di pasaran yaitu akarbose, voglibose dan miglitol namun yang hanya ada di pasaran Indonesia adalah akarbose dan masih belum ada obat yang berasal dari prototipe tumbuhan. Oleh sebab itu diperlukan pengembangan lebih lanjut untuk memperoleh obat baru dengan efektivitas yang sama yang berasal dari tanaman tradisional (Lebovitz, 1997).

Sejak zaman kuno, bangsa Cina, ayurveda India, dan Arab telah menggunakan tanaman obat tradisional sebagai terapi antidiabetes (Al-Aboudi dan Fatma, 2011). Senyawa fenolik dan flavonoid mempunyai sifat antioksidan yang dapat menghambat alfa-amilase dan alfa-glukosidase (Oboh *et al.*, 2013). Selain itu, senyawa saponin dan triterpen seperti asam oleanolat memiliki aktivitas penghambatan terhadap enzim penghidrolisis karbohidrat yaitu alfa-glukosidase dan alfa-amilase (Nagmoti *et al.*, 2013).

Chrysophyllum cainito atau yang sering disebut dengan tanaman kenitu banyak terdapat di pulau Jawa bagian hilir dan daerah pegunungan rendah. Buah kenitu ini memiliki nilai ekonomis yang rendah di Indonesia maupun di tempat asalnya yaitu Amerika tropis (Heyne, 1987). Pada penelitian yang dilakukan oleh Hidayat *et al.* (2007) menyatakan bahwa di daerah Jember ada tiga jenis varian kenitu yaitu kenitu hijau bulat, kenitu hijau elips/lonjong, dan kenitu merah bulat. Tanaman ini sering digunakan untuk pengobatan. Pada masyarakat Kuba di Miami, buah yang sudah masak digunakan sebagai pengobatan DM (Morton, 1987).

Kenitu mengandung senyawa polifenol (Luo *et al.*, 2002). Salah satu golongan polifenol adalah flavonoid (D'Archivio *et al.*, 2007). Golongan flavonoid dapat menghambat enzim alfa-glukosidase. Pada proses penghambatan ini yang berperan

adalah 3',4', dan 5' dihidroksi cincin B pada struktur flavonoid (Tadera *et al.*, 2006). Pada penelitian lain, flavonoid juga berperan dalam penghambatan glukosa transporter GLUT2 (Kwon *et al.*, 2007).

Penarikan suatu senyawa dari suatu tanaman tergantung pada pelarut yang digunakan untuk ekstraksi. Senyawa flavonoid yang kurang polar seperti isoflavon, flavon, dan flavonol biasanya diekstraksi menggunakan pelarut semipolar seperti kloroform, etil asetat, dan diklorometana. Sedangkan senyawa flavonoid yang lebih polar seperti glikosida flavonoid dan aglikon flavonoid yang lebih polar biasanya diekstraksi menggunakan pelarut polar seperti etanol (Andersen dan Kenneth, 2006).

Isolat glikosida flavonol dari ekstrak daun *Gynura medica* memiliki aktivitas penghambatan alfa-glukosidase yang lebih baik daripada bentuk aglikonnya (Tan *et al.*, 2013). Hasil optimasi kadar total polifenol daun kenitu yang tinggi dengan menggunakan metode ultrasonik dan pelarut aseton (96%, 70%, dan 50%), etanol (96%, 70%, dan 50%), dan air adalah aseton 96% dan etanol 70% (Zulaikha, 2015). Oleh sebab itu, peneliti menggunakan fraksi etanol dengan tujuan agar senyawa glikosida flavonoid, sebagian aglikon flavonoid, dan polifenol dapat terekstraksi dari daun kenitu.

Pada penelitian yang telah dilakukan oleh Koffi *et al.* (2009), daun kenitu dapat menurunkan kadar glukosa darah pada kelinci dengan dosis lebih dari 10 g/l dan kurang dari 30 g/l. Namun, pada penelitian tersebut masih belum diketahui mekanisme yang spesifik untuk pengobatan antidiabetes. Hal inilah yang mendorong peneliti untuk menguji lebih lanjut penurunan kadar glukosa darah *in vitro* dengan mekanisme penghambatan enzim alfa-glukosidase.

Pada penelitian ini dilakukan pengujian *in vitro* aktivitas inhibisi enzim alfa-glukosidase fraksi etanol daun kenitu berbagai varian yaitu kenitu hijau lonjong (HL), bulat kecil (BK), bular besar (BB), dan merah (MR). Hasil penelitian ini diharapkan daun kenitu dapat menjadi alternatif terapi antidiabetes secara tradisional.

2.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian di atas, rumusan masalah dalam penelitian ini adalah:

- a. Apakah fraksi etanol daun kenitu varian HL, BK, BB, dan MR memiliki aktivitas sebagai inhibitor alfa-glukosidase dan adakah perbedaan IC_{50} di antara keempat varian tersebut?
- b. Apa saja golongan senyawa yang terkandung dalam fraksi etanol daun kenitu varian HL, BK, BB, dan MR?
- c. Berapa kadar fenolik total dalam fraksi etanol daun kenitu varian HL, BK, BB, dan MR.
- d. Apakah fraksi etanol daun kenitu memiliki korelasi antara kadar fenolik total dengan IC_{50} dan bagaimana korelasi antara kadar fenolik total dengan IC_{50} tersebut?

2.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah di atas, tujuan dari penelitian ini adalah:

- a. Mengetahui adanya aktivitas inhibisi enzim alfa-glukosidase pada fraksi etanol daun kenitu varian HL, BK, BB, dan MR beserta perbedaan IC_{50} nya.
- b. Mengetahui golongan senyawa yang terkandung dalam fraksi etanol daun kenitu varian HL, BK, BB, dan MR.
- c. Mengetahui kadar fenolik total dalam fraksi etanol daun kenitu varian HL, BK, BB, dan MR.
- d. Mengetahui adanya korelasi antara kadar fenolik total dengan IC_{50} pada keempat varian fraksi etanol daun kenitu

2.4 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat sebagai berikut:

- a. Fraksi etanol daun kenitu diharapkan dapat menjadi agen terapi antidiabetes baru.
- b. Meningkatkan nilai ekonomi tanaman kenitu yang selama ini masih rendah jika dibandingkan dengan tanaman lain.



BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kenitu (*Chrysophyllum cainito* L.)

2.1.1 Klasifikasi Kenitu

Secara sistematis tumbuhan kenitu diklasifikasikan sebagai berikut:

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

2.1.2 Deskripsi Kenitu

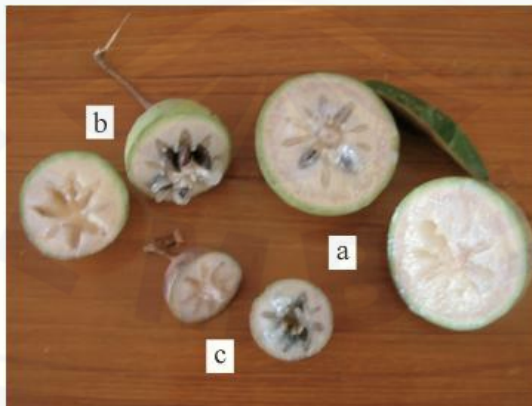
Pohon kenitu memiliki tinggi 25-100 kaki (8-30 meter) dengan batang pendek 3 kaki (1 meter), tebal dan padat, bagian daun belakang seperti berbulu, isi buah berwarna putih dan bergetah lateks. Buah berbentuk bulat atau elips yang berbentuk seperti buah pir dengan diameter 5-10 cm, berwarna merah-ungu, hitam-ungu, atau hijau pucat, tekstur buah halus dan mengkilap. Bijinya 3-10 butir, keras, mengkilap, pipih agak bulat telur dengan panjang 1 cm berwarna coklat sampai hitam keunguan. Daun berbentuk elips atau lonjong berbentuk bulat panjang dengan panjang sekitar 5-15 cm, permukaan atas mengkilap berwarna hijau dan halus, bagian bawah berwarna kuning keemasan (Morton, 1987). Helaiian daun kenitu kaku, agak tebal, bentuk lonjong, ujung runcing (*acutus*), panjang

meruncing (*acuminatus*), tepi rata, dan pertulangan menyirip (*pinnate*). Duduk daun bersilang, memencar, bentuk lonjong sampai bundar telur terbalik dengan luas 3-6 x 5-16 cm, dan panjang tangkai daun 0,6-1,7 cm. Morfologi daun dapat dilihat pada Gambar 2.1.



Gambar 2.1 Morfologi daun kenitu (Sumber: <http://www.stuartxchange.org/Caimito.html>).

Menurut Hidayat *et al.* (2007), varietas kenitu di daerah Jember ada tiga macam yaitu kenitu BB, HL, dan MR. Perbedaan dari ketiga varian tersebut yaitu pada penampakan fisik buah sedangkan untuk daunnya tidak ada perbedaan yang signifikan dan untuk penampakan secara mikroskopis tidak ada perbedaan yang signifikan dari ketiga varian. Gambar morfologi buah dapat dilihat pada Gambar 2.2.



Gambar 2.2 Morfologi buah kenitu (a) BB (b) HL (c) MR (Sumber: Hidayat *et al.*, 2007).

2.1.3 Kandungan Kimia Kenitu

Kenitu berisi 67,2 kalori dengan kandungan protein 0,72-2,33 g, 14,7 g karbohidrat, dan 0,55-3,30 g serat. Vitamin yang terkandung dalam kenitu yaitu karoten 0,004-0,039 mg, tiamin 0,018-0,08 mg, riboflavin 0,013-0,04 mg, niacin 0,935-1,340 mg, dan asam askorbat 3,0-15,2 mg. Sedangkan asam amino yang terkandung dalam kenitu yaitu triptofan 4 mg, metionin 2 mg, dan lisin 22 mg (Morton, 1987).

Masyarakat suku Aboude-Mandeki menggunakan daun kenitu sebagai pengobatan secara tradisional sebagai antidiabetes. Adanya data empiris tersebut, mendorong penelitian lebih lanjut kandungan daun kenitu yang dapat dijadikan sebagai antidiabetes. Daun kenitu telah diidentifikasi mengandung beta-amirin aetat dan asam gentsiat sedangkan untuk buahnya telah diidentifikasi mengandung sembilan polifenol yaitu (+)-katekin, (-)-epikatekin, (+)-galokatekin, (-)-epigalokatekin, kuersetin, kuersitrin, isokuersitrin, mirisitrin, dan asam galat (Luo *et al.*, 2002). Penelitian yang telah dilakukan oleh Shailajan dan Deepti (2014) menyatakan bahwa daun kenitu mengandung asam ursolik, beta-sitosterol, lupeol dan asam galat. Selain itu, kenitu juga mengandung alkaloid, fenol, flavonoid, sterol dan triterpen (N'guessan, 2008 dalam Koffi *et al.*, 2009) sehingga daunnya digunakan untuk menurunkan kadar glukosa pada dosis ≥ 20 g/l dan dosis 30 g/l akan menimbulkan efek toksik (Koffi *et al.*, 2009).

2.1.4 Kegunaan Kenitu

Buah kenitu oleh masyarakat Jamaika dikonsumsi sebagai *fruit salad ice* yaitu campuran daging buah kenitu dengan mangga, jeruk, nanas, dan air kelapa. Selain itu juga dikonsumsi sebagai makanan penutup yang berisi campuran buah kenitu dengan jus jeruk, parutan pala, *sherry* yang disebut dengan *strawberries and cream*. Pada umumnya pohon kenitu digunakan sebagai penyerap polusi udara dan peneduh yang ditanam dipinggir jalan namun kayunya

dapat juga digunakan untuk perabotan mewah. Sedangkan lateks dari pohon kenitu ini digunakan sebagai *adulterant* getah perca dan pengganti lilin (Morton, 1987).

Penggunaan kenitu sebagai obat sudah banyak dikenal di berbagai negara. Buah yang matang digunakan untuk radang tenggorokan, radang paru-paru, diabetes melitus, dan meredakan angina. Di Venezuela, buah yang sedikit mentah digunakan untuk mengatasi gangguan usus, sembelit sedangkan rebusan kulit atau daun diambil untuk mengobati sesak nafas. Biji kenitu ditumbuk dan digunakan sebagai tonik, diuretik dan obat penurun panas. Masyarakat Kuba di Miami menggunakan daun kenitu sebagai obat kanker. Sedangkan di tempat lainnya, kenitu digunakan sebagai diuretik, penurun panas, dan disentri (Morton, 1987). Dari uraian di atas, tanaman kenitu ini banyak dimanfaatkan oleh banyak masyarakat sebagai alternatif pengobatan secara tradisional salah satunya sebagai antidiabetes. Hal ini telah dibuktikan oleh Koffi *et al.* (2009) yaitu daun kenitu dapat menurunkan kadar glukosa darah kelinci pada dosis 10-20 g/l.

Golongan polifenol dapat menghambat enzim alfa-amilase dan alfa-glukosidase *in vitro*. Jenis polifenol yang dapat menghambat ini meliputi flavonoid (antosianin, katekin, flavanon, flavonol, flavon, dan isoflavon), asam fenolik dan tanin (protoantosianidin dan ellagitanin) (Hanhineva *et al.*, 2010). Kenitu mengandung beberapa polifenol seperti asam galat, kuersetin, mirisitrin, isokuersetin, dan epikatekin (Luo *et al.*, 2002). Kandungan polifenol yang ada ini, kemungkinan dapat menghambat enzim alfa-glukosidase sehingga dapat dijadikan sebagai terapi antidiabetes.

2.2 Diabetes Mellitus

2.2.1 Definisi dan Patofisiologis Diabetes Mellitus

Diabetes mellitus (DM) didefinisikan sebagai suatu penyakit atau gangguan metabolisme kronis dengan multi etiologi yang ditandai dengan tingginya kadar gula darah disertai dengan gangguan metabolisme karbohidrat, lipid dan protein sebagai akibat insufisiensi fungsi insulin. Insufisiensi fungsi insulin dapat

disebabkan oleh gangguan atau defisiensi produksi insulin oleh sel-sel beta langerhans kelenjar pankreas, atau disebabkan oleh kurang responsifnya sel-sel tubuh terhadap insulin (WHO, 1999).

Seseorang dikatakan menderita DM apabila ada keluhan khas yaitu berupa poliuria, polidipsia, polifagia, dan penurunan berat badan yang tidak dapat dijelaskan penyebabnya. Keluhan lain yang mungkin disampaikan penderita antara lain badan terasa lemah, sering kesemutan, gatal-gatal, mata kabur, disfungsi ereksi pada pria, dan pruritus vulvae pada wanita. Sedangkan untuk hasil laboratorium menunjukkan kadar glukosa darah 2 jam setelah makan ≥ 200 mg/dl dan kadar glukosa darah puasa ≥ 126 mg/dl (Depkes RI, 2005). Untuk lebih jelasnya dapat dilihat pada Tabel 2.1.

Tabel 2.1 Kriteria penegakan diagnosis

	Glukosa Plasma Puasa	Glukosa Plasma dua jam setelah makan
Normal	< 100mg/dL	< 140 mg/dL
Pra-diabetes	100-125 mg/dL	-
IFG atau IGT	-	140-199 mg/dL
Diabetes	≥ 126 mg/dL	≥ 200 mg/dL

(Sumber: Depkes RI, 2005)

2.2.2 Penggolongan Diabetes Mellitus

Menurut ADA (2004) klasifikasi atau penggolongan DM yaitu

a. Diabetes Mellitus tipe 1

Diabetes tipe ini merupakan diabetes yang jarang terjadi, diperkirakan kurang dari 5-10% dari keseluruhan populasi penderita diabetes. Gangguan produksi insulin pada DM tipe 1 umumnya terjadi karena kerusakan sel-sel β pulau langerhans yang disebabkan oleh reaksi autoimun. Namun ada pula yang disebabkan oleh bermacam-macam virus, diantaranya virus Cocksakie, Rubella, CM Virus, Herpes, dan lain sebagainya. Ada beberapa tipe autoantibodi yang dihubungkan dengan DM tipe 1, antara lain *Islet Cell Cytoplasmic Antibodies (ICCA)*, *Islet cell surface antibodies (ICSA)*, dan antibodi terhadap *Glutamic Acid Decarboxylase (GAD)*. Destruksi autoimun dari sel-sel β pulau langerhans

kelenjar pankreas mengakibatkan defisiensi sekresi insulin. Defisiensi insulin inilah yang menyebabkan gangguan metabolisme yang menyertai DM tipe 1. Selain defisiensi insulin, fungsi sel-sel α kelenjar pankreas pada penderita DM tipe 1 juga menjadi tidak normal. Pada penderita DM tipe 1 ditemukan sekresi glukagon yang berlebihan oleh sel-sel α pulau langerhans. Secara normal, hiperglikemia akan menurunkan sekresi glukagon, namun pada penderita DM tipe 1 hal ini tidak terjadi, sekresi glukagon tetap tinggi walaupun dalam keadaan hiperglikemia. Hal ini dapat memperparah kondisi hiperglikemia (Depkes RI, 2005).

b. Diabetes Mellitus Tipe 2

Diabetes Tipe 2 merupakan tipe diabetes yang lebih umum, lebih banyak penderitanya dibandingkan dengan DM Tipe 1. Etiologi DM Tipe 2 merupakan multifaktor yang belum sepenuhnya terungkap dengan jelas. Faktor genetik dan pengaruh lingkungan cukup besar dalam menyebabkan terjadinya DM tipe 2, antara lain obesitas, diet tinggi lemak dan rendah serat, serta kurang gerak badan. Obesitas atau kegemukan merupakan salah satu faktor predisposisi utama. Pada DM tipe 2 bukan disebabkan oleh kurangnya sekresi insulin, tetapi karena sel-sel sasaran insulin gagal atau tak mampu merespon insulin secara normal yang biasanya disebut dengan resistensi insulin. Selain itu juga timbul gangguan sekresi insulin dan produksi glukosa hepatic yang berlebihan tetapi tidak terjadi pengerusakan sel-sel β langerhans secara autoimun seperti DM tipe 1 (Depkes RI, 2005).

c. Diabetes Mellitus Gestasional

Diabetes Mellitus Gestasional (DMG) adalah keadaan diabetes atau intoleransi glukosa yang timbul selama masa kehamilan, dan biasanya berlangsung hanya sementara atau temporer. Umumnya terdeteksi pada setelah trimester kedua. Efek samping yang dapat terjadi pada bayi antara lain malformasi kongenital, peningkatan berat badan bayi ketika lahir dan meningkatnya risiko mortalitas

perinatal. Disamping itu, wanita yang pernah menderita DMG akan lebih besar risikonya untuk menderita lagi diabetes dimasa depan (Depkes RI, 2005).

d. Pra-diabetes

Pra-diabetes adalah kondisi dimana kadar gula darah seseorang berada diantara kadar normal dan diabetes, lebih tinggi dari pada normal tetapi tidak cukup tinggi untuk dikategorikan ke dalam DM tipe 2 (Depkes RI, 2005).

2.2.3 Pengobatan Diabetes Mellitus

Menurut Depkes RI (2005) pengobatan atau terapi pada penderita DM ada dua terapi yaitu tanpa obat dan menggunakan obat. Terapi tanpa obat terdiri dari dua terapi yaitu pengaturan diet makanan dan olahraga. Pengaturan diet makanan yaitu dengan menyeimbangkan komposisi karbohidrat (60-70%), protein (10-15%), dan lemak (20-25%). Jumlah kalori disesuaikan dsengan pertumbuhan, status gizi, umur, stres akut, dan kegiatan fisik untuk mencapai berat badan yang ideal. Sedangkan terapi olahraga harus dilaksanakan secara teratur dan rutin sehingga dapat menurunkan dan menjaga kadar gula darah tetap normal. Terapi dengan menggunakan obat ada dua macam yaitu obat hipoglikemik oral dan injeksi insulin. Terapi injeksi insulin biasanya digunakan pada penderita DM tipe 1 dan disuntikkan pada daerah di bawah kulit (subkutan). Sedangkan untuk obat hipoglikemik oral digolongkan menjadi 3 golongan yaitu:

- a. Obat-obat yang meningkatkan sekresi insulin, meliputi obat hipoglikemik oral golongan sulfonilurea dan glinida (meglitinida dan turunan fenilalanin). Obat golongan sulfonilurea bekerja merangsang sekresi insulin di kelenjar pankreas, oleh sebab itu hanya efektif apabila sel-sel β langerhans pankreas masih dapat memproduksi. Contoh obat golongan ini adalah glibenklamida, glipizida, glikazida, glimepirida, dan glikuidon. Efek samping obat ini umumnya ringan dan frekuensinya rendah, antara lain gangguan saluran cerna dan gangguan susunan syaraf pusat.

- b. Sensitizer insulin (obat-obat yang dapat meningkatkan sensitivitas terhadap insulin), meliputi obat-obat hipoglikemik golongan biguanida dan tiazolidindion (TZD), yang dapat membantu tubuh untuk memanfaatkan insulin secara lebih efektif. Obat hipoglikemik oral golongan biguanida bekerja langsung pada hati (hepar), menurunkan produksi glukosa hati. Senyawa-senyawa golongan biguanida tidak merangsang sekresi insulin, dan hampir tidak pernah menyebabkan hipoglikemia, contohnya metformin. Efek samping yang sering terjadi adalah *nausea*, muntah, kadang kadang diare, dan dapat menyebabkan asidosis laktat. Sedangkan senyawa golongan tiazolidindion bekerja meningkatkan kepekaan tubuh terhadap insulin dengan jalan berikatan dengan *peroxisome proliferator activated receptor-gamma* (PPAR γ) di otot, jaringan lemak, dan hati untuk menurunkan resistensi insulin. Senyawa-senyawa TZD juga menurunkan kecepatan glikoneogenesis, contohnya avandia dan actos.
- c. Inhibitor katabolisme karbohidrat, antara lain inhibitor alfa-glukosidase yang bekerja menghambat absorpsi glukosa dan umum digunakan untuk mengendalikan hiperglikemia *postprandial* (*post-meal hyperglycemia*). Disebut juga *starch-blocker*. Senyawa-senyawa inhibitor alfa-glukosidase bekerja menghambat enzim alfa-glukosidase yang terdapat pada dinding usus halus. Enzim alfa-glukosidase berfungsi untuk menghidrolisis oligosakarida, pada dinding usus halus. Inhibisi kerja enzim ini secara efektif dapat mengurangi pencernaan karbohidrat kompleks dan absorpsinya, sehingga dapat mengurangi peningkatan kadar glukosa *post prandial* pada penderita diabetes. Senyawa inhibitor alfa-glukosidase juga menghambat enzim alfa-amilase pankreas yang bekerja menghidrolisis polisakarida di dalam lumen usus halus. Contoh obat golongan ini adalah akarbose dan miglitol.

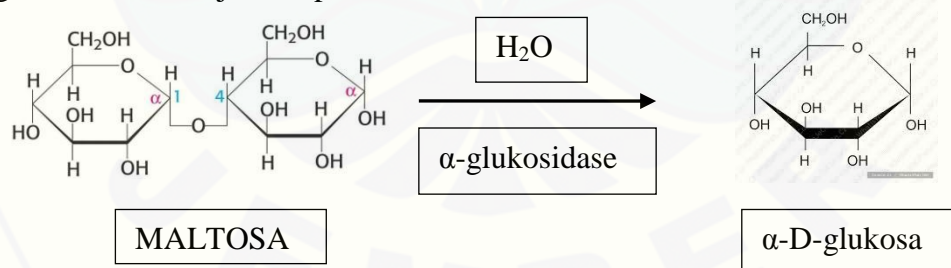
Pada penderita DM, ekspresi glukosa transporter SGLT1 dan GLUT2 mRNA meningkat hingga tiga kali lipat di dalam usus dan enzim pada mRNA pada *brush border* seperti sukrase dan laktase juga ikut meningkat 2-3 kali

lipat. Selain itu, enzim alfa-amilase dan alfa-glukosidase juga ikut meningkat. Akibatnya pengambilan glukosa pada usus meningkat tiga kali lebih cepat dibandingkan dengan orang normal. Oleh sebab itu, enzim alfa-glukosidase ini perlu untuk dihambat agar kadar glukosa darah tidak meningkat secara cepat pada penderita DM (Williamson, 2013).

2.3 Alfa-glukosidase

2.3.1 Pengertian Alfa-glukosidase

Alfa-glukosidase merupakan golongan enzim ekso alfa-glukosida yang menghidrolisis ikatan 1,4-glikosidik dan melepaskan D-glukosa dari hasil akhir substrat. Reaksi hidrolisis terjadi dengan memisahkan ikatan antara karbon anomerik dari residu glukosil dan oksigen glukosida (C₁-O). Kemudian terjadi reaksi pertukaran antara residu glukosil dan proton di kedua hidrolisis dan transglukosilasi dimana residu glukosil digantikan oleh proton dari air atau akseptor. Alfa-glukosidase menghasilkan produk anomer alfa-glukosa. Secara umum, setiap hidrolisis ikatan glikosidik oleh glikosidase merupakan reaksi yang menghasilkan produk tetap ($\alpha \rightarrow \alpha$, $\beta \rightarrow \beta$) atau membalikkan konfigurasi anomerik substrat [$\alpha \rightarrow \beta$, $\beta \rightarrow \alpha$] (Chiba, 1997). Mekanisme hidrolisis dengan katalis alfa-glukosidase ditunjukkan pada Gambar 2.3



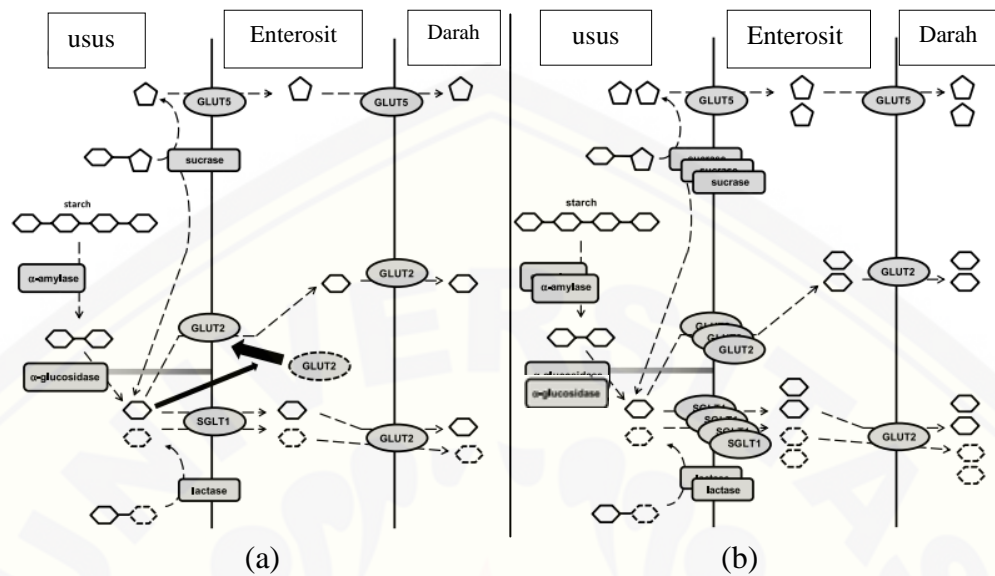
Gambar 2.3 Mekanisme hidrolisis dengan katalis alfa-glukosidase (Sumber: Chiba, 2007)

2.3.2 Mekanisme Penyerapan Glukosa Melalui Glukosa Transporter

Glukosa yang sudah dicerna seluruhnya memiliki sifat hidrofilik dan tidak bisa menyebrang membran biologis tanpa bantuan sebuah glukosa transporter. Transporter ini berfungsi untuk memindahkan glukosa dari satu kompartemen ke kompartemen lainnya dengan melintasi membran biologis sehingga glukosa ini dapat diserap oleh tubuh. Mekanisme transporter ada dua yaitu transkripsi dan translokasi intraseluler, yakni mengatur pergerakan dari sisi tidak aktif menuju sisi yang aktif. Transporter utama glukosa pada usus yaitu SGLT1 dan GLUT2, sedangkan transporter utama fruktosa adalah GLUT5 (Williamson, 2013).

SGLT1 merupakan glukosa ko-transporter yang secara permanen terletak di membran *brush border* pada sisi apikal enterosit. SGLT1 berfungsi untuk meregulasi perangsangan dalam proses pelepasan hormon inkreatin. Hormon ini berfungsi untuk mengatur respon glikemik. Hormon dilepaskan dari sel enteroendokrin di epitel usus yaitu *glukosa-independent insulintropie polipeptide* (GIP) dan *glucagon-link-peptide1*. Transporter GLUT2 merupakan tranporter terfasilitasi yang berfungsi untuk penyerapan glukosa di usus terutama pada konsentrasi yang tinggi. Jadi, ketika konsentrasi glukosa menurun yaitu dalam kondisi penyerapan telah selesai/diakhir makan maka transporter GLUT2 akan bergerak menjauh dari membran apikal (Williamson, 2013).

Setelah glukosa diserap ke dalam darah dari usus, glukosa akan masuk ke dalam sel β melalui transporter GLUT2 dan akhirnya terjadi stimulasi sekresi insulin. Pada penderita DM, glukosa tranporter SGLT1 dan GLUT2 meningkat tiga kali lipat karena pada penderita DM GLUT2 berada permanen di membran apikal sehingga absorpsi glukosa meningkat dan tidak ada pengaturan dibandingkan dengan orang normal. Selain itu, enzim sukrase, laktase, alfa-amilase juga ikut meningkat 2-3 kali lipat (Williamson, 2013). Mekanisme penyerapan glukosa di usus pada pasien normal dan penderita DM dapat dilihat pada Gambar 2.4.



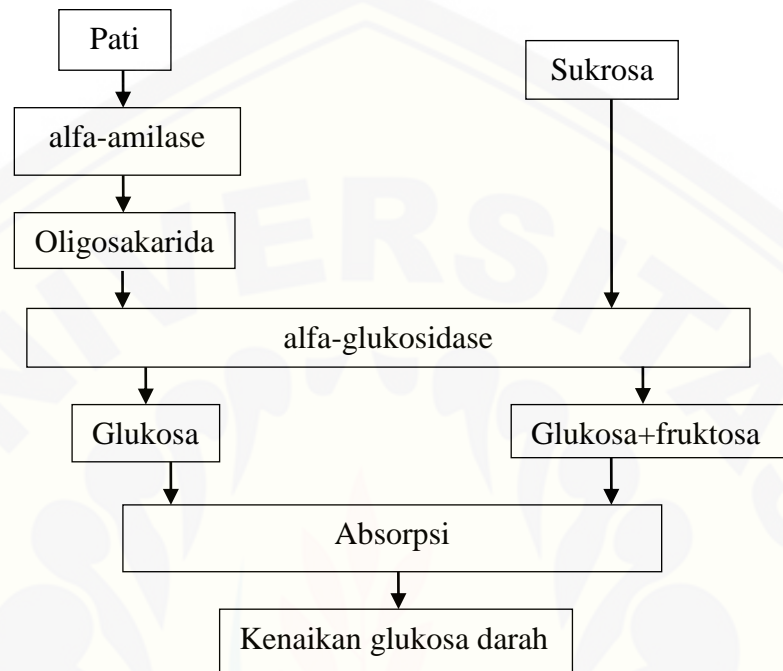
Gambar 2.4 Mekanisme penyerapan glukosa (a) pasien normal (b) pasien DM (Sumber: Williamson, 2013).

2.3.3 Mekanisme Inhibisi Alfa-glukosidase

Pati atau karbohidrat dipecah oleh enzim-enzim pencernaan yaitu alfa-amilase yang berada di pankreas dan alfa-glukosidase yang berada di usus. Proses pemecahan ini bertujuan untuk memecah gula yang kompleks contohnya polisakarida dan oligosakarida menjadi gula yang lebih sederhana yaitu monosakarida. Proses pemecahan pati (*starch*) dapat dilihat pada Gambar 2.5.

Mekanisme inhibitor enzim alfa-glukosidase di usus yaitu menghambat pemecahan reaksi enzimatik pati atau karbohidrat larut sehingga dapat memodulasi penurunan penyerapan glukosa dari makanan (Gopal dan Muralikrishna, 2009). Contoh obat yang sebagai inhibitor alfa-glukosidase adalah akarbose yang merupakan inhibitor alfa-glukosidase pertama yang dikenalkan di pasaran. Kemudian dua inhibitor lainnya yaitu voglibose di Jepang, dan miglitol di Amerika Serikat. Akarbose terbukti menghambat aktivitas alfa-amilase dan aktivitas di usus yaitu alfa-glukosidase, sukrase, maltase, dan isomaltase. Miglitol

dan voglibose lebih menghambat aktivitas alfa-glukosidase daripada alfa-amilase (Sim, 2010).

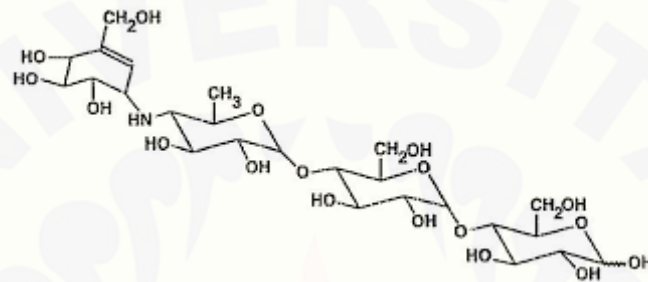


Gambar 2.5 Proses pemecahan pati dan sukrosa pada enzim alfa-glukosidase di usus. (Sumber: Bischoff, 1994).

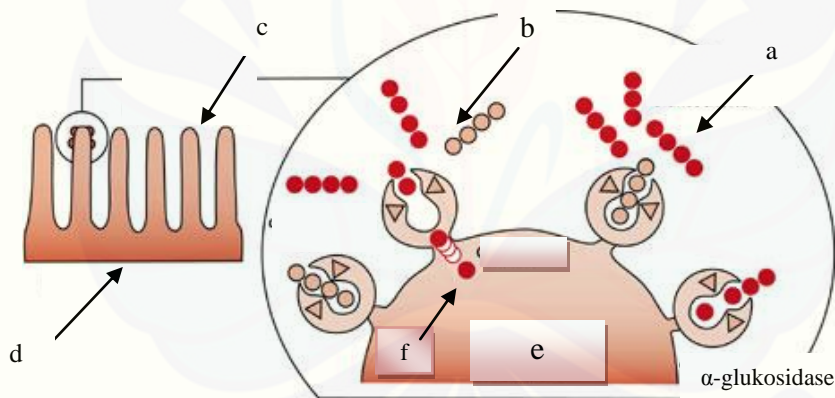
Struktur akarbose dapat dilihat pada Gambar 2.6. Karena kehadiran intramolekul nitrogen, akarbose melekat pada tempat pengikatan karbohidrat enzim alfa-glukosidase (misalnya sukrase) dengan afinitas melebihi dari substrat normal (misalnya sukrosa) dengan faktor 104-105. Reaksi enzimatik berhenti karena ikatan C-N di unit *acarviosine* dari akarbose tidak dapat dipecah. Selama akarbose tetap terikat pada enzim alfa-glukosidase, karbohidrat yang masuk tidak dapat dicerna dan glukosa tidak bisa dilepaskan untuk penyerapan (Bischoff, 1994).

Namun, terlepas dari afinitas yang tinggi alfa-glukosidase, ikatan akarbose bersifat reversibel dan inhibisinya bersifat kompetitif. Oleh sebab itu, dalam mekanisme penyerapan karbohidrat adalah tidak melalui pencernaan di usus kecil tetapi diangkut ke ileum. Hal ini memungkinkan ileum distal untuk mengambil

bagian dalam proses pencernaan karbohidrat. Sehingga akarbose menunda pencernaan karbohidrat, memperpanjang waktu pencernaan, dan mengurangi tingkat penyerapan glukosa. Akibatnya, kenaikan *post prandial* glukosa darah menurun. Namun, akarbose tidak berinteraksi dengan transporter glukosa Na^+ di usus sehingga tidak mempengaruhi penyerapan glukosa oral (Bischoff, 1994). Mekanisme inhibisi alfa-glukosidase dapat dilihat pada Gambar 2.7.



Gambar 2.6 Struktur kimia akarbose (Sumber: Bischoff, 1994).

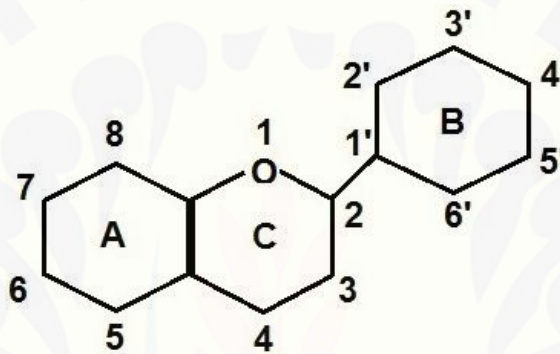


Gambar 2.7 Mekanisme inhibisi alfa-glukosidase (Sumber: Bischoff, 1994).

Keterangan: a. oligosakarida
 b. akarbose
 c. mikrovili
 d. enterosit
 e. mikrovili
 f. glukosa

2.3.4 Penghambatan Flavonoid pada Inhibitor Alfa-glukosidase

Flavonoid merupakan pigmen tumbuhan yang disintesis dari fenilalanin. Flavonoid merupakan kelompok senyawa polifenol yang ditandai dengan struktur *benzo-y-pyrone*. Sifat kimia flavonoid tergantung pada struktur, tingkat hidroksilasi, substitusi lain dan konjugasi, dan derajat polimerisasi. Secara umum, semua flavonoid merupakan turunan dari 2-fenilkromon yang terdiri dari tiga cincin fenolik yaitu cincin A, B, dan C (Yao *et al.*, 2004) Struktur umum dari golongan flavonoid dapat dilihat pada Gambar 2.8.



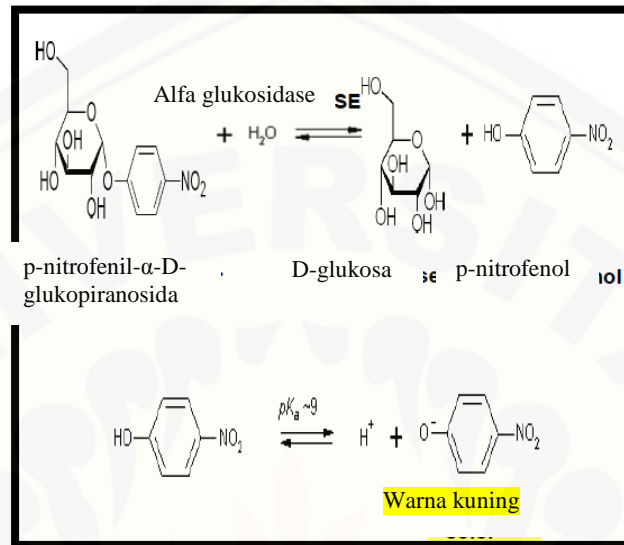
Gambar 2.8 Struktur umum flavonoid (Sumber: Lazarush dan Harold, 2000).

Gugus flavonoid yang berperan dalam menghambat inhibitor alfa-glukosidase adalah 3', 4'-dihidroksi pada cincin B dan 3-OH pada cincin C. Gugus 3' dan 4' dihidroksi di cincin B berperan dalam interaksi dengan sisi aktif dari enzim alfa-glukosidase. Sedangkan gugus 3-OH di cincin C berfungsi untuk mempertahankan pengikatan yang tepat pada molekul flavonoid (Xu, 2010). Sisi aktif dari enzim alfa-glukosidase adalah Asp214 dan Glu276. Asam amino ini dikenal sebagai kunci katalitik dalam enzim. Asp214 berperan sebagai nukleofilik sedangkan Glu276 berperan sebagai donor proton (Phan *et al.*, 2013).

2.3.5 Uji Penghambatan Alfa-glukosidase

Reaksi enzimatik dalam pengujian penghambatan enzim alfa-glukosidase dilakukan menggunakan substrat p-nitrofenil-alfa-D-glukopiranosida (PNPG). Alfa-glukosidase akan menghidrolisis substrat PNPG menjadi p-nitrofenol dan

glukosa. Reaksi enzimatik yang terjadi dapat dilihat pada Gambar 2.9 (Cihan *et al.*, 2010).



Gambar 2.5 Reaksi enzimatik alfa-glukosidase dan p-nitrofenil- α -D-glukopiranosida (Sumber: Cihan *et al.*, 2010).

Intensitas warna kuning yang terbentuk ditentukan absorbansinya dengan menggunakan *microplate reader* pada panjang gelombang 415 nm. Aktivitas enzim ditentukan berdasarkan hasil pengukuran absorbansi p-nitrofenol. Apabila inhibitor (akarbose dan ekstrak daun kenit) memiliki kemampuan menghambat aktivitas alfa-glukosidase maka p-nitrofenol yang dihasilkan akan berkurang (Cihan *et al.*, 2010).

BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Penelitian ini menggunakan jenis penelitian *experimental laboratories* untuk mengetahui pengaruh berbagai varian fraksi etanol daun kenitu terhadap aktivitas inhibisi alfa-glukosidase *in vitro*. Penelitian *experimental laboratories* merupakan kegiatan penelitian yang bertujuan untuk mengetahui suatu pengaruh yang timbul akibat adanya perlakuan tertentu (Notoatmojo, 2010).

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Fitokimia Bagian Biologi Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Jember. Penelitian dimulai pada bulan Agustus 2014 sampai Juni 2015.

3.3 Variabel Penelitian

Variabel yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

- a. Variabel bebas pada penelitian ini adalah fraksi etanol daun kenitu HL, BK, BB, dan MR
- b. Variabel terikat pada penelitian ini adalah aktivitas inhibisi enzim alfa-glukosidase dan kadar fenolik total
- c. Variabel terkontrol pada penelitian ini adalah metode ekstraksi, pelarut, prosedur pengujian aktivitas inhibitor alfa-glukosidase, dan prosedur pengujian kadar fenolik total

3.4 Definisi Operasional

Definisi operasional dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

- a. Lokasi pengambilan sampel daun kenitu HL di daerah Karimata, Jember; daun kenitu BK diambil dari daerah Antirogo, Jember; sedangkan daun kenitu BB dan MR di daerah Kalisat, Jember. Daun kenitu yang digunakan adalah daun yang diambil 5 helai dari pangkal cabang pada pohon yang sudah pernah berbuah.
- b. Ekstrak daun kenitu adalah ekstrak yang diperoleh dengan mengekstraksi simplisia daun kenitu dengan pelarut etanol 70% menggunakan cara ultrasonikasi selama 1 jam. Kemudian ekstrak kental di fraksinasi menggunakan etanol 70%:akuades (1:1), n-heksana, dan etil asetat dengan corong pisah sehingga diperoleh fraksi etanol.
- c. IC_{50} merupakan konsentrasi efektif ekstrak daun kenitu untuk menghambat enzim alfa-glukosidase sebanyak 50%.
- d. Kadar fenolik total dinyatakan dalam mg/GAE

3.5 Alat dan Bahan

3.5.1 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *micropipet* (Socorex), tip, alat-alat gelas, *vacuum filtration*, *rotary evaporator* (Heidolph Laborata 4000), *hotplate* (Cimarec Thermo Scientific), neraca analitik (Pioneer), *microplate reader* (Dialab Elx800), *microplate 96 well*, *vortex mixer* (Barnstead Termolyne), pH meter (Elmetro CP-502), dan ultrasonikator (Elmasonic S180H), dan inkubator (Clifton).

3.5.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun segar kenitu (*C. cainito* L.) dengan empat varian yaitu daun kenitu HL, BK, BB, dan MR dari daerah Jember yang dikumpulkan selama bulan Juli hingga Agustus. Pelarut

etanol 70% (teknis), etil asetat (teknis), n-heksana (teknis). Enzim alfa-glukosidase dari *Saccharomyces cerevisiae* (Sigma-Aldrich), akarbose (Sigma-Aldrich), para-nitrofenil-alfa D-glukopiranosida (PNPG) (Sigma-Aldrich), natrium karbonat (teknis), HCl 2N (teknis), KH₂PO₄ (teknis), NaCl (teknis), pereaksi Mayer (Sigma-Aldrich), NH₄OH (Merck), kloroform (Sigma-Aldrich), H₂SO₄ (Sigma-Aldrich), CH₃COOH (tenis), magnesium (Merck), larutan gelatin, pereaksi Wagner, butanol (teknis), asam asetat glasial (Sigma-Aldrich), FeCl₃ (Merck), reagen Folin (Sigma-Aldrich), NaOH (teknis), dan akuades.

3.6 Cara Kerja

3.6.1 Penyiapan Simplisia

Daun pada berbagai varian kenitu (HL, BK, BB, dan MR) yang telah dikumpulkan disortasi basah dan dilakukan pencucian dengan air mengalir. Setelah tahap pencucian, dilakukan perajangan dan pengeringan di ruangan dan di dalam oven pada suhu 45 °C selama 10 menit. Selanjutnya daun yang telah dikeringkan dihaluskan menggunakan mesin penggiling hingga menjadi serbuk.

3.6.2 Ekstraksi

Masing-masing 100 gram serbuk dari berbagai varian kenitu di ekstraksi menggunakan pelarut etanol 70% sebanyak 1 liter dengan cara ultrasonifikasi selama 1 jam dengan suhu 40 °C. Ampas dan filtrat dipisahkan dengan cara disaring menggunakan penyaring *vacuum filtration*. Filtrat yang didapat diuapkan pada *rotary rotavapour* hingga menjadi ekstrak kental.

3.6.3 Fraksinasi

Masing-masing ekstrak kental etanol 70% ditimbang sebanyak 5 gram dan dilarutkan dalam etanol 70%:akuades suhu 40°C (1:1), kemudian ditambahkan n-heksana dengan volume yang sama banyak ke dalam corong pisah. Campuran dikocok selama 15 menit lalu dibiarkan hingga membentuk dua lapisan terpisah.

Lapisan teratas merupakan fraksi n-heksana sedangkan lapisan bawah merupakan etanol. Fraksinasi dilakukan sebanyak tiga kali.

Lapisan fraksi etanol dicampur kembali dengan etil asetat dengan volume yang sama banyak ke dalam corong pisah. Campuran dikocok selama 15 menit lalu dibiarkan hingga membentuk dua lapisan terpisah. Lapisan teratas merupakan fraksi etil asetat sedangkan lapisan bawah merupakan etanol. Fraksinasi dilakukan sebanyak tiga kali. Kemudian, fraksi lapisan etanol diambil dan dipekatkan di atas penangas air hingga semua pelarut menguap. Hasil akhir berupa fraksi kental yang kemudian ditimbang.

3.6.4 Uji Aktivitas Inhibitor Alfa-glukosidase

Uji aktivitas inhibitor alfa-glukosidase dilakukan terhadap larutan kontrol negatif, larutan akarbose sebagai kontrol positif dan larutan sampel (ekstrak). Setiap larutan uji dibuat larutan blanko masing-masing (Moradi-Afrapoli *et al.*, 2012).

Sebelum dilakukan pengujian aktivitas inhibitor alfa-glukosidase maka dilakukan optimasi panjang gelombang, konsentrasi substrat, enzim, dan waktu inkubasi. Optimasi ini merujuk pada Zuhro (2015). Panjang gelombang, konsentrasi substrat, enzim, waktu inkubasi terpilih adalah 415 nm, 10 mM; 0,1 unit/ml; dan 60 menit.

1. Penyiapan larutan pereaksi

a. Larutan dapar fosfat pH 6,8

Dibuat dengan cara mencampurkan 125 mL larutan kalium dihidrogen fosfat KH_2PO_4 0,2 M (4,0827 gram dalam 150 mL akuades) dengan 56 mL larutan natrium hidroksida (NaOH) 0,2 M (0,8 gram dalam 100 mL akuades) kemudian diencerkan dengan akuades hingga 500 mL (Depkes RI, 1995).

b. Larutan natrium karbonat 0,2 M

Larutan natrium karbonat 0,2 M dibuat dengan menimbang 1,06 g serbuk natrium karbonat dan dilarutkan dalam akuades hingga 50 mL.

c. Larutan substrat p-nitrofenil-alfa D-glukopiranosida (PNPG)

Larutan substrat 10 mM dibuat dengan menimbang 60,25 mg PNPG dan dilarutkan dalam dapar fosfat hingga 10 mL. Kemudian dari larutan induk tersebut, dilakukan pengenceran hingga diperoleh konsentrasi substrat PNPG 10 mM.

d. Larutan enzim alfa glukosidase (0,1 U/mL)

Larutan enzim dibuat dengan cara melarutkan 100 U enzim alfa glukosidase dengan 2 mL dapar fosfat pH 6,8 kemudian membagi larutan tersebut dalam 2 vial sehingga didapatkan larutan enzim alfa glukosidase 50 U/mL dalam masing-masing vial. Satu vial disimpan sedangkan vial lain diencerkan dengan menambahkan 9 mL dapar fosfat pH 6,8 sehingga didapatkan enzim alfa glukosidase dengan konsentrasi 5 U/mL. Larutan enzim tersebut kemudian dibagi ke dalam 10 vial, masing-masing vial ditambahkan 9 mL dapar fosfat pH 6,8 untuk mendapatkan larutan enzim alfa glukosidase dengan konsentrasi 0,5 U/mL.

Kemudian diambil 1 mL larutan enzim alfa glukosidase dengan konsentrasi 0,5 U/mL dimasukkan ke labu ukur 5 mL dan ditambahkan dapar fosfat sampai tepat tanda sehingga diperoleh larutan enzim alfa glukosidase dengan konsentrasi 0,1 U/mL.

e. Larutan akarbose

Larutan akarbose 20000 µg/ml dibuat dengan menimbang 200 mg serbuk akarbose dan dilarutkan dalam dapar fosfat pH 6,8 hingga 10 mL dalam labu ukur. Selanjutnya dilakukan pengenceran dari larutan induk tersebut hingga diperoleh larutan akarbose beberapa konsentrasi.

f. Larutan sampel

Sebanyak 10 mg sampel (ekstrak) dilarutkan dalam 10 mL etanol 70% untuk memperoleh konsentrasi larutan sampel 1000 µg/ml. Selanjutnya dilakukan pengenceran dari larutan sampel tersebut hingga diperoleh beberapa konsentrasi.

2. Pengujian aktivitas inhibitor alfa-glukosidase

a. Pengujian kontrol negatif

Masing-masing campuran reaksi terdiri dari 10 μL dimetil sulfoksida (DMSO) ditambah 120 μL dapar fosfat pH 6,8 dan 20 μL larutan enzim alfa-glukosidase 0,1 U/mL dalam *microplate 96 well*. Kemudian diinkubasi selama 15 menit suhu 37 °C. Setelah itu, ditambahkan 20 μL substrat PNPG 10 mM, lalu diinkubasi selama 60 menit suhu 37 °C. Reaksi dihentikan dengan penambahan 80 μL natrium karbonat 0,1 M. Para-nitofenil yang dihasilkan dibaca absorbansinya pada 415 nm. Pada uji kontrol negatif, blanko dilakukan tanpa penambahan enzim. Semua pengujian dilakukan tiga kali replikasi.

b. Pengujian kontrol positif

Masing-masing campuran reaksi terdiri dari 10 μL larutan akarbose ditambah 120 μL dapar fosfat pH 6,8 dan 20 μL larutan enzim alfa-glukosidase 0,1 U/mL dalam *microplate 96 well*. Kemudian diinkubasi selama 15 menit suhu 37 °C. Setelah itu, ditambahkan 20 μL substrat PNPG 10 mM, lalu diinkubasi selama 60 menit suhu 37 °C. Reaksi dihentikan dengan penambahan 80 μL natrium karbonat 0,1 M. Para-nitrofenol yang dihasilkan dibaca absorbansinya pada 415 nm. Pada uji kontrol positif, blanko dilakukan tanpa penambahan enzim. Semua pengujian dilakukan tiga kali replikasi.

c. Pengujian sampel

Masing-masing campuran reaksi terdiri dari 10 μL larutan sampel ditambah 120 μL dapar fosfat pH 6,8 dan 20 μL larutan enzim alfa-glukosidase 0,1 U/mL dalam *microplate 96 well*. Kemudian diinkubasi selama 15 menit suhu 37 °C. Setelah itu, ditambahkan 20 μL substrat PNPG 10 mM, lalu diinkubasi selama 60 menit suhu 37 °C. Reaksi dihentikan dengan penambahan 80 μL natrium karbonat 0,1 M. Para-nitrofenol yang dihasilkan dibaca absorbansinya pada 415 nm. Pada uji sampel (ekstrak), blanko dilakukan tanpa penambahan enzim. Semua pengujian dilakukan tiga kali replikasi.

Tabel 3.1 Prosedur uji inhibitor aktivitas alfa-glukosidase

Reagen	Volume (μL)			
	K_1	K_0	S_1	S_0
DMSO	10	10	-	-
Sampel / Inhibitor	-	-	10	10
Dapar fosfat pH 6,8	120	140	120	140
Enzim alfa-glukosidase 0,1 U/mL	20	-	20	-
Inkubasi 37 °C, 15 menit				
Substrat PNPG 10 mM	20	20	20	20
Inkubasi 37 °C, 60 menit				
Natrium karbonat 0,2 M	80	80	80	80
Mengukur absorbansi pada 415 nm				

Keterangan: K_1 =Kontrol negatif, K_0 = Blanko kontrol negatif, S_1 = Kontrol positif (akarbose) / Sampel, S_0 = Blanko kontrol positif (akarbose) /Blanko sampel

Aktivitas inhibitor alfa-glukosidase dapat dihitung dengan rumus:

$$\text{inhibisi (\%)} = \frac{K - S}{K} \times 100\%$$

Keterangan: K= Absorbansi kontrol (K_1 - K_0)

S= Absorbansi sampel / Absorbansi standar (S_1 - S_0)

3.6.5 Identifikasi Golongan Senyawa Kimia

3.6.5.1 Identifikasi alkaloid (Depkes, 1995)

a. Penyiapan sampel

Ekstrak sebanyak 0,3 gram ditambah 5 ml HCl 2 N, dipanaskan di atas penangas air selama 2-3 menit, sambil diaduk. Setelah dingin ditambah 0,3 gram NaCl, diaduk rata kemudian disaring. Filtrat yang diperoleh ditambah 5 ml HCl 2N dan dibagi menjadi dua bagian yang disebut sebagai larutan IA dan IB

b. Reaksi pengendapan

Larutan IA ditambah pereaksi Mayer, larutan IB ditambah dengan pereaksi Wagner dan larutan IC dipakai sebagai blanko. Adanya kekeruhan atau endapan menunjukkan adanya alkaloid.

3.6.5.2 Identifikasi Flavonoid (Depkes, 1995)

a. Penyiapan sampel

Ekstrak sebanyak 0,3 gram dikocok dengan 3 ml n-heksana berkali-kali sampai ekstrak n-heksana tidak berwarna. Residu dilarutkan dalam etanol dan menjadi 3 bagian, masing-masing disebut sebagai larutan IIA, IIB, dan IIC.

b. Uji Bate-Smith dan Metcalf

Larutan IIA sebagai blanko, larutan IIB ditambah 0,5 ml HCl pekat dan diamati perubahan warna yang terjadi, kemudian dipanaskan di atas penangas air dan diamati lagi perubahan warna yang terjadi. Bila perlahan-lahan menjadi warna merah terang atau ungu menunjukkan adanya senyawa leukoantosianidin (dibandingkan dengan blanko).

c. Uji Wilstater

Larutan IIA sebagai blanko. Larutan IIC ditambah 0,5 ml HCl pekat dan 4 potong magnesium. Diamati warna yang terjadi. Lalu diencerkan dengan akuades kemudian ditambahkan 1 ml butanol. Diamati warna yang terjadi disetiap lapisan. Perubahan warna merah jingga menunjukkan adanya flavon, merah pucat menunjukkan adanya flavonol, merah tua menunjukkan adanya flavanon.

3.6.5.3 Identifikasi golongan polifenol dan tanin (Depkes, 1995)

a. Penyiapan sampel

Ekstrak sebanyak 0,3 gram ditambah 10 ml akuades panas, diaduk dan dibiarkan sampai temperatur kamar, lalu tambahkan 3-4 tetes 10% NaCl, diaduk, dan disaring. Filtrat dibagi menjadi tiga bagian masing-masing ± 4 ml dan disebut sebagai larutan IVA, IVB, dan IVC.

b. Uji ferriklorida

Larutan IVC diberi beberapa tetes larutan FeCl_3 , kemudian diamati terjadinya perubahan warna. Jika terjadi warna hijau kehitaman menunjukkan adanya senyawa polifenol.

c. Uji gelatin

Larutan IVA digunakan sebagai blanko, larutan IVB ditambah dengan sedikit larutan gelatin dan 5 ml larutan NaCl 10%. Jika terjadi endapan putih menunjukkan adanya tanin.

3.6.5.4 Identifikasi sterol dan triterpenoid (Harbone, 1987)

Sampel fraksi etanol daun kenitu berbagai varian ditimbang masing-masing 0,3 gram, kemudian ditambahkan CH_3COOH 10 tetes dan H_2SO_4 2 tetes. Setelah itu dikocok beberapa menit. Jika berwarna hijau kebiruan maka positif mengandung steroid namun jika berwarna ungu atau merah maka positif mengandung triterpenoid.

3.6.6 Penetapan Kadar Total Polifenol

Penetapan kadar fenol total ini menggunakan metode Folin-Ciocalteu termodifikasi (Kemenkes RI, 2011)

a. Penyiapan Larutan Standar

Larutan standar dibuat dengan melarutkan 5 mg asam galat dalam akuades sampai 10 ml hingga diperoleh konsentrasi standar 500 $\mu\text{g/ml}$. Larutan standar tersebut diencerkan menjadi beberapa konsentrasi.

b. Penyiapan larutan sampel

Masing-masing varian ekstrak kenitu ditimbang sebanyak 20 mg dilarutkan dalam akuades sampai 10 ml sehingga didapatkan konsentrasi 2000 $\mu\text{g/ml}$. Kemudian diencerkan menjadi beberapa konsentrasi.

c. Penyiapan larutan reagen folin 7,5%

Sebanyak 750 μl reagen folin dilarutkan dalam akuades hingga 10 ml

d. Penyiapan larutan NaOH 1%

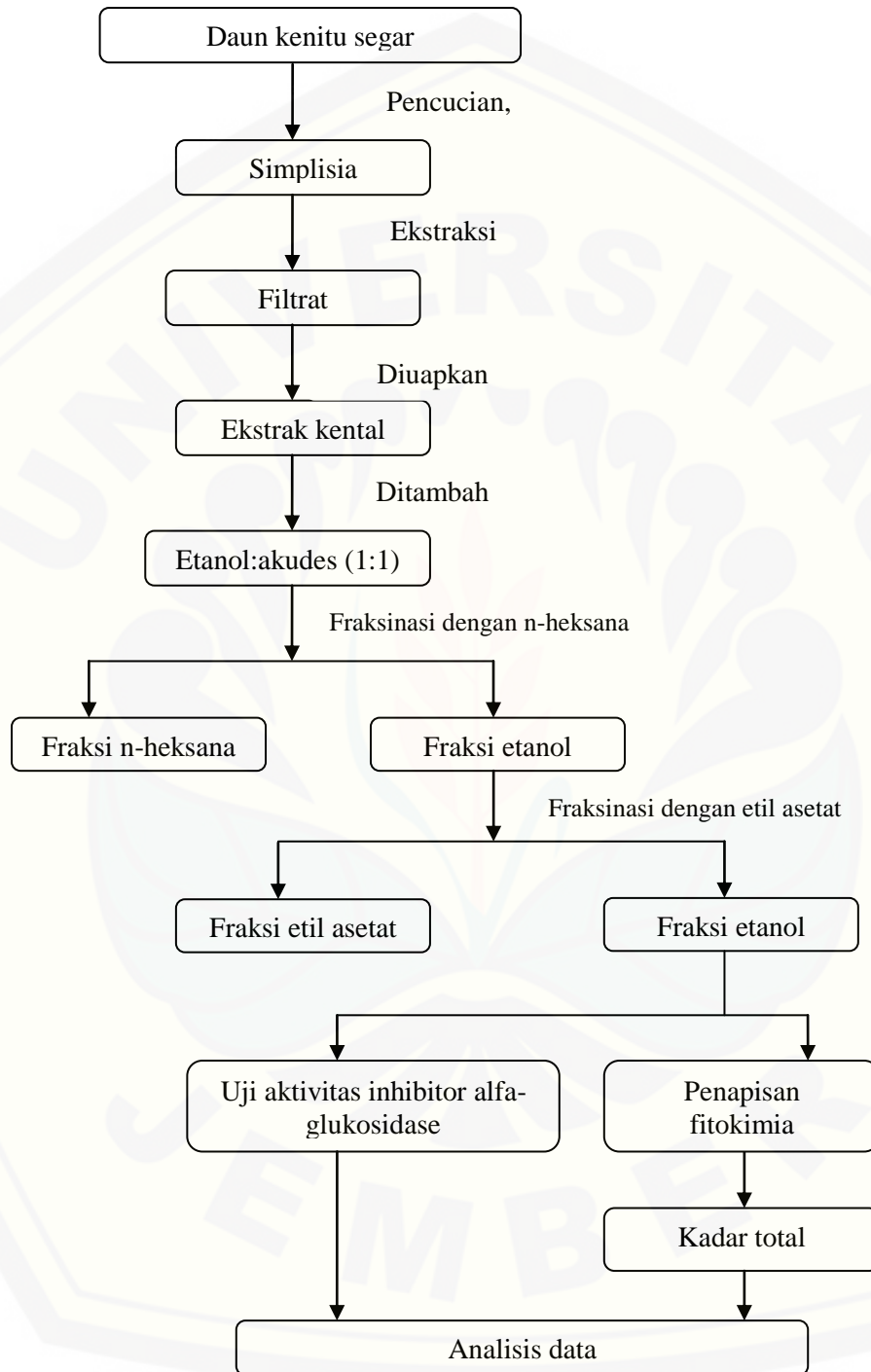
Sebanyak 0,1 gram NaOH ditimbang kemudian dilarutkan dalam 10 ml akuades

e. Pengujian kadar total fenol

Sebanyak 30 μl larutan sampel atau larutan standar ditambah 150 μl reagen folin, lalu di inkubasi selama 8 menit. Setelah itu, ditambah NaOH 1% sebanyak 120 μl , inkubasi selama 1 jam pada suhu 29°C. Hasilnya diukur dengan *microplate reader* pada panjang gelombang 730 nm. Kandungan polifenol total dinyatakan dalam mg/g ekuivalen GAE

3.7 Analisis Data

Data yang diperoleh dari inhibisi (%) dianalisis menggunakan analisis probit untuk menghitung nilai IC_{50} . Selanjutnya, data yang diperoleh dari nilai IC_{50} dan kadar fenolik total diolah menggunakan *one way ANOVA* untuk melihat perbedaan nilai IC_{50} dan kadar fenolik total dengan taraf kepercayaan 95%. Jika diperoleh hasil yang berbeda signifikan, maka dilanjutkan dengan uji LSD (*Least Significant Difference*). Hasil uji *one way ANOVA* dan LSD signifikan bila didapatkan harga $p < 0,05$. Sedangkan untuk korelasi antara kadar fenolik total dan IC_{50} dilihat dengan nilai r^2 pada persamaan regresi antar kadar fenolik total dengan IC_{50} (Besral, 2010).

3.8 Skema Penelitian

Gambar 3.1 Skema penelitian aktivitas inhibitor alfa-glukosidase

BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Ekstraksi

Masing-masing simplisia ditimbang sebanyak 100 gram, didapatkan ekstrak kental yang kemudian ditimbang beratnya. Rendemen ekstrak dapat dilihat pada Tabel 4.1

Tabel 4.1 Rendemen ekstrak etanol 70%

Varian	Bobot simplisia (g)	Bobot ekstrak (g)	Rendemen ekstrak (%)
HL	100,115	16,690	16,671
BK	100,057	7,560	7,556
BB	100,094	13,640	13,627
MR	100,000	5,440	5,440

4.2 Hasil Fraksinasi

Masing-masing ekstrak kental etanol berbagai varian ditimbang sebanyak 5 gram, kemudian difraksinasi dan didapatkan fraksi etanol dari tiap varian daun kenitu. Dari tiap fraksi daun kenitu berbagai varian didapatkan ekstrak kental yang kemudian ditimbang beratnya. Rendemen fraksi etanol dapat dilihat pada Tabel 4.2.

Tabel 4.2 Rendemen fraksi etanol

Varian	Bobot ekstrak (g)	Bobot fraksi (g)	Rendemen fraksi (%)
HL	5,045	2,940	58,276
BK	5,183	4,340	83,735
BB	5,024	2,860	56,927
MR	5,012	2,630	52,474

4.3 Hasil Identifikasi Golongan Senyawa Kimia

Identifikasi golongan senyawa kimia dilakukan secara kualitatif dengan *tube test*. Identifikasi golongan senyawa kimia yang dilakukan meliputi alkaloid, flavonoid, triterpeneoid, fenolik, dan tanin. Pada varian HL positif mengandung

flavonoid (flavon), triterpeneoid, tanin, dan fenolik; varian BB positif mengandung flavonoid (flavon, flavonol, dan flavonon), triterpeneoid, tanin, dan fenolik; varian BK positif mengandung flavonoid (flavon dan flavonol), triterpeneoid, tanin, dan fenolik; dan varian MR positif mengandung flavonoid (flavon dan flavonol), triterpeneoid, tanin, dan fenolik. Keempat varian tersebut tidak mengandung alkaloid, hasilnya dapat dilihat di Tabel 4.3 dan Lampiran 8.

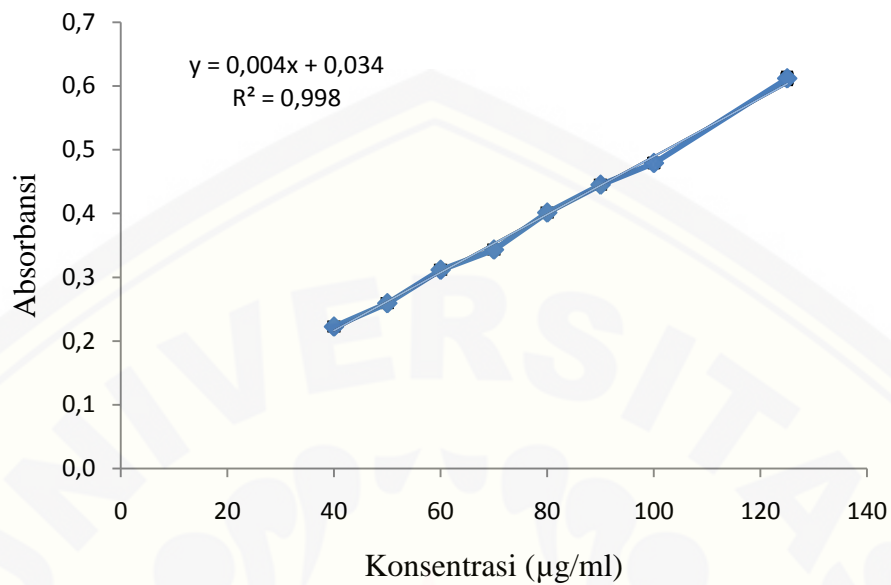
Tabel 4.3 Identifikasi senyawa kimia berbagai varian

Kandungan Kimia	Alkaloid	Flavonoid			Tanin	Polifenol	Triterpenoid
		Flavon	Flavonol	Falvonon			
HL	-	+	-	-	+	+	+
BK	-	+	+	+	+	+	+
BB	-	+	+	-	+	+	+
MR	-	+	+	-	+	+	+

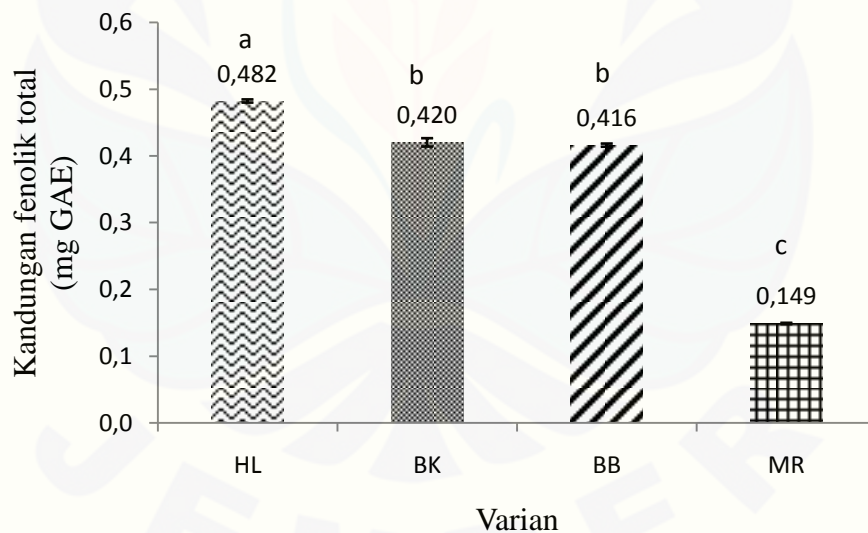
4.4 Hasil Kadar Fenolik Total

Hasil kadar fenolik total fraksi etanol daun kenitu berbagai varian memberikan kadar yang berbeda-beda pada setiap jenis variannya. Asam galat digunakan sebagai standar dalam penetapan kadar fenolik total. Standar asam galat ini dibuat persamaan regresi antara konsentrasi asam galat vs absorbansi. Konsentrasi yang dibuat adalah 125, 100, 90, 80, 70, 60, 50, dan 40 $\mu\text{g/ml}$ dan didapatkan persamaan regresi yang dapat dilihat pada Gambar 4.1.

Kandungan fenolik total pada masing-masing varian dinyatakan sebagai mg setara dengan asam galat *Gallic Acid Equivalen* (GAE) per gram ekstrak kering (Moradi-Afrapoli *et al.*, 2012). Dari data hasil perhitungan, varian HL memiliki kadar fenolik total yang paling tinggi yaitu $0,482 \pm 0,002$ mg GAE dan kadar fenolik total terendah adalah varian MR dengan $0,149 \pm 0,001$ mg GAE . Hasilnya dapat dilihat pada Gambar 4.2



Gambar 4.1 Persamaan regresi standar asam galat untuk menghitung mg GAE kadar fenolik total oleh fraksi etanol daun kenitu berbagai varian.



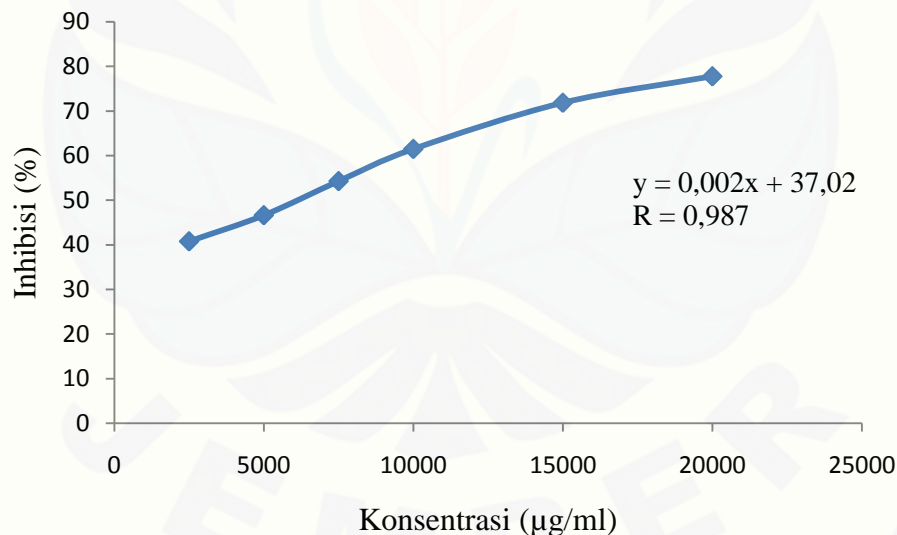
Gambar 4.2 Kadar fenolik total fraksi etanol daun kenitu berbagai varian. Data disajikan dengan rata-rata kadar fenolik total \pm SD. Nilai a, b, dan c berbeda signifikan berdasarkan LSD ($p < 0,05$) ($n=4$).

Hasil uji statistik didapatkan bahwa ada perbedaan yang signifikan kandungan fenolik total pada masing-masing varian ($p < 0,05$) kecuali antara

varian BK dengan BB tidak ada perbedaan signifikan ($p > 0,05$) yaitu $0,42 \pm 0,006$ mg GAE dan $0,416 \pm 0,002$ mg GAE. Urutan kandungan fenolik total dalam beberapa varian secara berturut-turut adalah $HL > BK \geq BB > MR$.

4.5 Hasil Uji Aktivitas Inhibitor Alfa-glukosidase

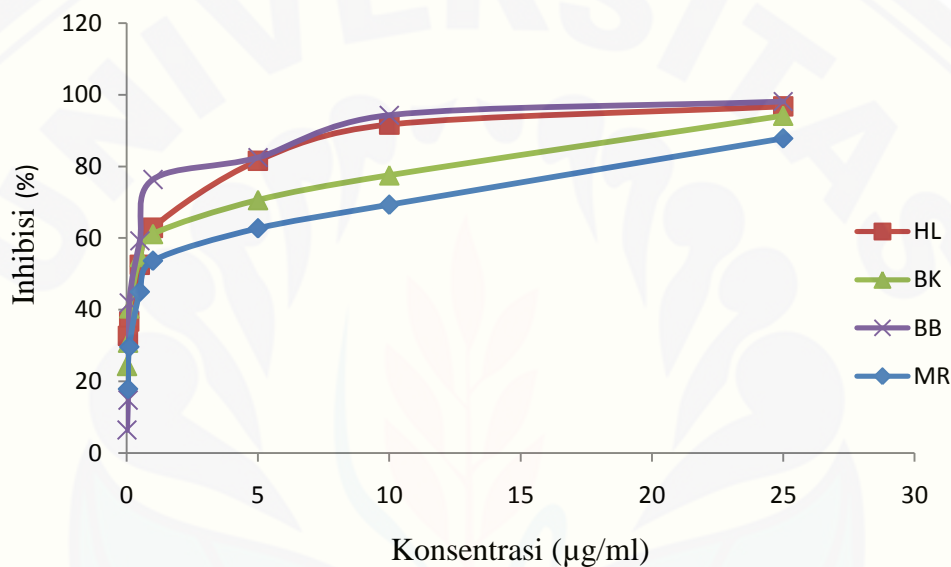
Pengujian aktivitas inhibitor alfa-glukosidase pada kontrol positif atau akarbose dilakukan pada berbagai konsentrasi yaitu 2.500, 5.000, 7.500, 10.000, 15.000, dan 20.000 $\mu\text{g/ml}$. Dari variasi konsentrasi tersebut dibuat persamaan regresi antara konsentrasi akarbose dengan inhibisi (%) dan didapatkan nilai IC_{50} (Gambar 4.3). Diperoleh nilai rata-rata IC_{50} akarbose yaitu $6488,333 \pm 80,830$ $\mu\text{g/ml}$. Artinya, dengan konsentrasi 6.488,333 $\mu\text{g/ml}$ dapat menghambat aktivitas enzim alfa-glukosidase sebanyak 50% dari 100% penghambatan. Nilai IC_{50} akarbose menunjukkan hasil yang jauh lebih besar daripada keempat varian fraksi daun kenitu.



Gambar 4.3 Profil persamaan regresi konsentrasi akarbose vs inhibisi (%).

Hasil uji aktivitas inhibitor alfa-glukosidase menunjukkan bahwa fraksi etanol daun kenitu berbagai varian memberikan nilai IC_{50} yang berbeda-beda tiap

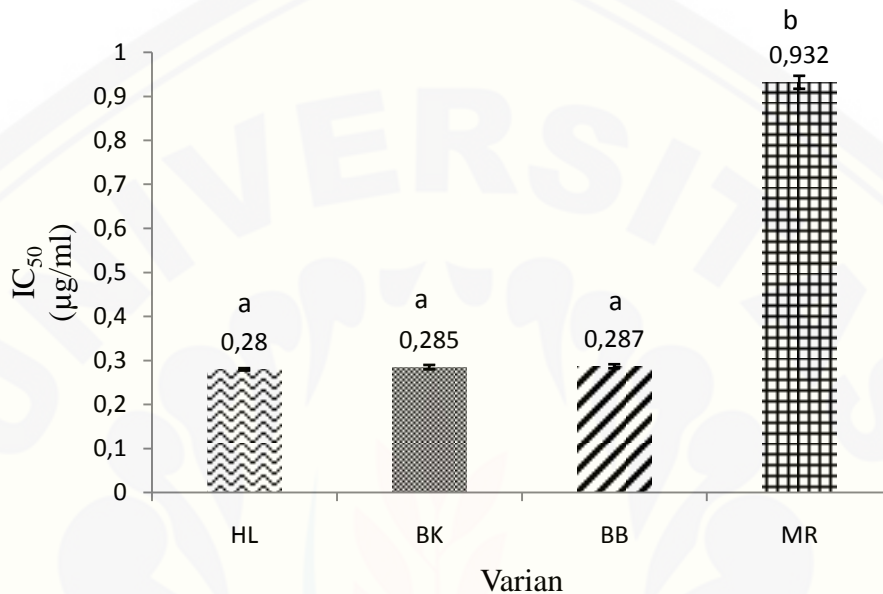
variannya. Masing-masing ekstrak kental berbagai varian kenitu dibuat beberapa konsentrasi yaitu 25; 10; 5; 1; 0,5; 0,1; 0,05; dan 0,01 $\mu\text{g/ml}$. Kemudian dibuat persamaan regresi antara konsentrasi ekstrak kental vs inhibisi (%). Pengujian dilakukan 3 kali replikasi sehingga didapatkan nilai IC_{50} 3 kali replikasi. Hasil persamaan regresi dari konsentrasi fraksi kenitu dengan rata-rata inhibisi (%) dapat dilihat pada Gambar 4.4



Gambar 4.4 Profil persamaan regresi konsentrasi fraksi etanol daun kenitu vs inhibisi (%)

Nilai IC_{50} dihitung dengan menggunakan program probit dengan konsentrasi dibanding inhibisi (%) fraksi etanol dari masing-masing varian kenitu. Diperoleh nilai rata-rata IC_{50} dari 3 kali pengujian adalah $0,280 \pm 0,003 \mu\text{g/ml}$ untuk varian HL; $0,285 \pm 0,005 \mu\text{g/ml}$ untuk varian BK; $0,287 \pm 0,005 \mu\text{g/ml}$ untuk varian BB; dan $0,932 \pm 0,015 \mu\text{g/ml}$ untuk varian MR. Nilai IC_{50} menunjukkan konsentrasi yang dibutuhkan untuk dapat menghambat aktivitas enzim alfa-glukosidase sebesar 50% dari 100% penghambatan. Artinya, dengan konsentrasi $0,280 \mu\text{g/ml}$ untuk varian HL; $0,285 \mu\text{g/ml}$ untuk varian BK; $0,287 \mu\text{g/ml}$ untuk

varian BB; dan 0,932 $\mu\text{g/ml}$ untuk varian MR dapat menghambat aktivitas enzim alfa-glukosidase sebanyak 50% dari 100% penghambatan. Nilai IC_{50} fraksi etanol daun kenitu berbagai varian dapat dilihat pada Gambar 4.5.



Gambar 4.5 Nilai IC_{50} fraksi etanol daun kenitu berbagai varian. Data disajikan dengan rata-rata $\text{IC}_{50} \pm \text{SD}$. Nilai a dan b berbeda signifikan berdasarkan LSD ($p < 0,05$) ($n=4$).

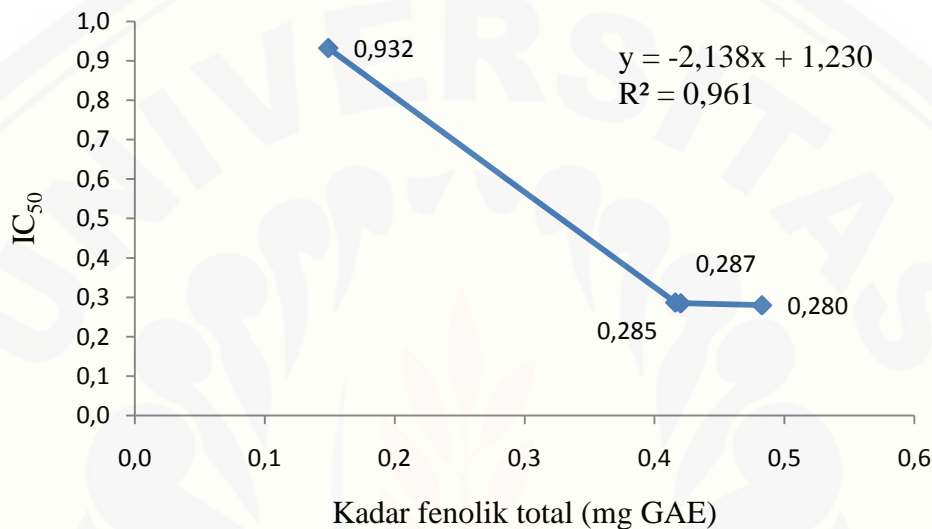
*Akarbose tidak ditambahkan didalam gambar karena nilai IC_{50} nya tertalu besar yaitu $6488,333 \pm 80,830 \mu\text{g/ml}$.

Hasil uji statistik didapatkan bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan aktivitas inhibisi enzim alfa-glukosidase antara varian HL, BK, dan BB ($p > 0,05$). Pada varian MR ada perbedaan signifikan dengan varian HL, BK, BB, dan Akarbose ($p < 0,05$). Sedangkan untuk akarbose terdapat perbedaan signifikan dengan keempat varian ($p < 0,05$). Urutan aktivitas inhibisi enzim alfa-glukosidase dalam beberapa varian secara berturut-turut adalah $\text{HL} \geq \text{BK} \geq \text{BB} > \text{MR} > \text{akarbose}$.

4.6 Korelasi antara Kadar Fenolik Total dengan Nilai IC_{50}

Korelasi antara kadar fenolik total dengan IC_{50} pada keempat varian kenitu dihitung menggunakan persamaan regresi antara kadar fenolik total dengan nilai

IC_{50} kemudian dilihat nilai r^2 . Nilai r hitung $>$ nilai r tabel dengan taraf kepercayaan 95% ($n=4$). Hasil menunjukkan bahwa nilai r hitung $>$ r tabel yaitu $0,961 > 0,950$ (Gambar 4.6). Jadi korelasi antara kadar fenolik total dengan nilai IC_{50} sebesar 96,1% .



Gambar 4.6 Persamaan regresi kadar fenolik total fraksi daun kenitu berbagai varian vs IC_{50}

4.7 Pembahasan

Identifikasi senyawa kimia bertujuan untuk mengetahui jenis metabolit sekunder apa yang terkandung dalam ekstrak. Jenis metabolit sekunder yang ditentukan dalam penelitian ini adalah alkaloid, flavonoid, triterpeneoid, polifenol, dan tanin. Hasilnya menunjukkan keempat varian tersebut tidak mengandung alkaloid. Sedangkan untuk uji polifenol, tanin, triterpeneoid, dan flavonoid positif terdapat dalam keempat varian tersebut (Tabel 4.3 dan Lampiran 7). Hasil identifikasi golongan senyawa kimia, ekstrak daun kenitu mengandung alkaloid, fenol, flavonoid, sterol dan triterpeneoid (N'guessan, 2008 dalam Koffi *et al.*, 2009). Berdasarkan hasil tersebut, fraksi etanol daun kenitu

tidak mengandung alkaloid, hal ini berbeda dengan teori. Perbedaan kemungkinan disebabkan golongan senyawa alkaloid yang terkandung pada fraksi etanol daun kenitu jumlahnya sangat kecil sehingga tidak terdeteksi dengan reagen Mayer dan Wagner. Oleh sebab itu, perlu dilakukan pengujian yang lebih sensitif pada pengujian alkaloid seperti menggunakan metode KLT.

Uji kadar fenolik total ekstrak fraksi etanol daun kenitu berbagai varian dilakukan menggunakan metode Folin-Ciocalteu. Prinsip dari metode ini adalah berdasarkan kekuatan mereduksi dari gugus hidroksi fenolik. Semua senyawa fenolik termasuk fenol sederhana dapat bereaksi dengan Folin-Ciocalteu. Adanya inti aromatis pada senyawa fenol (gugus hidroks fenolik) dapat mereduksi fosfomolibdat fosfotungstat menjadi molibdenum yang berwarna biru. Semakin tinggi intensitas warna biru yang terbentuk, semakin tinggi kadar fenolik totalnya dan semakin rendah intensitas warna biru yang terbentuk, semakin rendah pula kadar fenolik totalnya (Febrinda *et al.*, 2013).

Berdasarkan hasil pengujian kadar fenolik total (Gambar 4.2), varian HL memiliki kadar fenolik yang lebih tinggi yaitu $0,482 \pm 0,002$ mg GAE dibandingkan dengan varian lainnya dan varian MR memiliki kadar fenolik yang jauh lebih rendah yaitu $0,149 \pm 0,001$ mg GAE dibandingkan dengan varian yang lainnya. Hal ini dimungkinkan tempat pertumbuhan dari masing-masing varian berbeda. Faktor lingkungan seperti *stress* defisit air dapat meningkatkan metabolit sekunder pada tanaman obat. Kadar flavonoid daun tempuyung tinggi apabila mendapatkan *stress* defisit air sebesar 60% (Trisilawati *et al.*, 2012).

Senyawa polifenol banyak ditemukan pada makanan dalam bentuk terkonjugasi dan berikatan kovalen dengan gula yakni pada O-glikosidik atau C-glikosidik dan berperan dalam interaksi dengan sisi aktif enzim alfa-glukosidase yaitu antara ikatan hidrogen antara gugus hidroksi dari ligan polifenol dengan residu katalitik dari tempat pengikatan sehingga terjadi pembentukan sistem konjugasi π . Jika ini terjadi maka gula tidak bisa berikatan dengan enzim sehingga tidak terjadi pemecahan gula tersebut. Selain itu, senyawa polifenol

berperan dalam penyerapan gula ke dalam membran *brush border* yaitu menghambat transporter glukosa, seperti GLUT2 dan SGLT1. Transporter glukosa ini berperan dalam pemasukan glukosa ke dalam membran *brush border*. Jika ini dihambat maka glukosa yang masuk ke dalam pembuluh darah akan semakin sedikit dan kadar glukosa akan menurun (Williamson, 2013). Adanya kandungan polifenol ini, fraksi etanol daun kenitu kemungkinan dapat menghambat enzim alfa-glukosidase. Selain dapat menghambat enzim alfa-glukosidase, fraksi etanol daun kenitu, kemungkinan dapat menghambat transporter glukosa karena mengandung senyawa polifenol. Namun demikian, perlu dilakukan pengujian lebih lanjut pada fraksi etanol daun kenitu dalam penghambatan glukosa transporter.

Selanjutnya dilakukan uji aktivitas inhibisi enzim alfa-glukosidase ekstrak fraksi daun kenitu pada masing-masing varian dan kontrol positif (akarbose). Uji aktivitas ini bertujuan untuk mengetahui konsentrasi yang dapat menghambat 50% dari 100% penghambatan. Akarbose digunakan sebagai pembanding karena akarbose adalah obat penghambat aktivitas alfa-glukosidase yang umum digunakan di Indonesia, mudah didapatkan, dan banyak digunakan sebagai pembanding pada berbagai literatur (Loranza, 2012). Secara uji statistik, nilai IC_{50} antara varian HL, BK, dan BB tidak ada perbedaan signifikan ($p > 0,05$). Sedangkan pada varian MR dengan ketiga varian lainnya dan akarbose dengan keempat varian lainnya secara uji statistik berbeda signifikan ($p < 0,05$) (Gambar 4.5).

Tabel 4.4 Perbandingan nilai IC_{50} berbagai ekstrak daun kenitu berbagai varian

Varian	Nilai IC_{50} rata-rata \pm SD ($\mu\text{g/ml}$)		
	Ekstrak etanol 70% (Zuhro, 2015)	Fraksi etil asetat (Putri, 2015)	Fraksi etanol
HL	9,641 \pm 0,030	0,327 \pm 0,002	0,280 \pm 0,003
BK	5,574 \pm 0,041	0,372 \pm 0,003	0,285 \pm 0,005
BB	4,921 \pm 0,329	0,352 \pm 0,001	0,287 \pm 0,005
MR	11,665 \pm 0,083	0,185 \pm 0,002	0,932 \pm 0,015

Berdasarkan uji statistik nilai IC_{50} ekstrak etanol 70%, fraksi etil asetat, dan fraksi etanol daun kenitu berbagai varian memiliki nilai yang berbeda signifikan pada semua varian ($p < 0,05$) (Lampiran 8). Aktivitas inhibitor alfa-glukosidase pada ekstrak etanol 70%, fraksi etil asetat, dan fraksi etanol daun kenitu berbagai varian, varian HL; BK; dan BB memiliki kemampuan inhibisi enzim alfa-glukosidase yang baik pada fraksi etanol sedangkan pada varian MR memiliki kemampuan inhibisi enzim alfa-glukosidase yang baik pada fraksi etil asetat (Tabel 4.4).

Perbedaan nilai IC_{50} dari keempat varian fraksi etanol daun kenitu yaitu HL, BK, BB, dan MR dikarenakan kandungan senyawa yang ada pada keempat varian tersebut berbeda. Berdasarkan uji identifikasi senyawa kimia flavonoid, varian BB dan MR memiliki kandungan yang sama (Tabel 4.3). Menurut Tadera *et al* (2006), pada golongan flavonoid yang memiliki aktivitas penghambatan alfa-glukosidase dari yang terbesar hingga terkecil berturut-turut adalah antosianidin \geq isoflavon \geq flavonol \geq flavon \geq flavanon \geq flavan-3-ol. Selain itu, pada penelitian yang dilakukan Tan *et al.* (2013) tentang penghambatan enzim alfa-glukosidase pada isolasi 7 senyawa fenolik ekstrak etil asetat daun *Gynura medica* yaitu kamferol, kuersetin, kamferol-3-O- β -D-glukopiranosida, kamferol-3-O-rutinosida, rutin, asam kolinergik, dan 3,5-dicaffeoylquinic acid methyl ester, menunjukkan golongan flavonol dan glikosidanya memberikan aktivitas penghambatan yang lebih baik daripada senyawa lainnya.

Nilai IC_{50} akarbose lebih tinggi daripada keempat varian fraksi etanol daun kenitu lainnya yaitu $6.488,333 \pm 80,830 \mu\text{g/ml}$. Pada penelitian Phan *et al.* (2013) tentang aktivitas inhibitor enzim alfa-glukosidase pada beberapa flavonoid dari *Epimedium brevicornum* yaitu Baohuoside I, kamferol, kuersetin, dan ekstrak air *Epimedium brevicornum*; memiliki nilai IC_{50} berturut-turut yaitu 11,8; 28,9; 18,6; dan 11,2 $\mu\text{mol/L}$. Sedangkan akarbose memiliki nilai IC_{50} yang lebih besar dari ketiga flavonoid dan ekstrak air *Epimedium brevicornum* tersebut yaitu 236 $\mu\text{mol/L}$. Perbedaan nilai IC_{50} akarbose yang terlalu jauh tersebut juga

sama pada penelitian fraksi etanol daun kenitu, hal tersebut dikarenakan akarbose merupakan penghambat alfa-glukosidase yang memiliki efek inhibisi yang tinggi terhadap alfa-glukosidase mamalia tetapi tidak memiliki efek inhibisi terhadap alfa-glukosidase dari *Saccharomyces cerevisiae* dan *Bacillus stearothermophilus* (Kim K.Y *et al.*, 2008). Sedangkan pada penelitian fraksi etanol daun kenitu menggunakan enzim yang berasal dari *Saccharomyces cerevisiae*. Sehingga perlu dilakukan pengujian dengan penggunaan enzim lain seperti enzim yang berasal dari pankreas babi atau manusia untuk memastikan apakah akarbose dapat dijadikan pembanding dan kontrol positif dalam pengujian ini.

Korelasi antara kadar fenolik total dengan efek inhibisi enzim alfa-glukosidase dianalisis menggunakan persamaan regresi antara kadar fenolik total dengan nilai IC_{50} kemudian dilihat nilai r^2 . Nilai r didapatkan 0,961 sehingga dapat diartikan bahwa korelasi antara kadar fenolik total dengan nilai IC_{50} adalah 96,1% dengan taraf kepercayaan 95%. Jadi, senyawa polifenol berpengaruh pada aktivitas penghambatan enzim alfa-glukosidase sedangkan untuk sisanya dipengaruhi oleh senyawa lainnya seperti triterpenoid. Berdasarkan uji identifikasi golongan senyawa kimia, fraksi etanol daun kenitu semua varian mengandung senyawa triterpenoid (Tabel 4.3). Pada penelitian yang dilakukan oleh Liu *et al.* (2014) tentang aktivitas inhibitor alfa-glukosidase dan antioksidan pada tanaman *Agrimonia pilosa* yang mengandung flavonoid dan triterpenoid menunjukkan bahwa nilai IC_{50} *Agrimonia pilosa* yang mengandung flavonoid dan terpenoid berturut-turut yaitu 8,72 dan 3,67 $\mu\text{g/ml}$. Hal ini menunjukkan bahwa tanaman *Agrimonia pilosa* yang mengandung triterpenoid lebih tinggi aktivitas penghambatan enzim alfa-glukosidasenya daripada yang mengandung flavonoid.

Uji antidiabetes dengan mekanisme inhibitor enzim alfa-glukosidase memiliki keuntungan dan kerugian. Keuntungannya jika dibandingkan dengan uji secara *in vivo* adalah mekanisme penurunan kadar glukosa darah dapat diketahui

secara pasti. Sedangkan untuk kerugiannya adalah uji ini masih perlu dilakukan pengujian lebih lanjut meliputi uji pra klinik dan uji klinik.



BAB 5. PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Kesimpulan dari penelitian ini adalah:

- Fraksi etanol daun kenitu varian HL, BK, BB, dan MR memiliki aktivitas sebagai inhibitor alfa-glukosidase. Aktivitas inhibitor alfa-glukosidase fraksi etanol daun kenitu HL=BK=BB>MR.
- Hasil identifikasi golongan senyawa kimia fraksi etanol daun kenitu varian HL, BK, BB, dan MR menunjukkan adanya senyawa flavonoid, tanin, dan polifenol namun tidak menunjukkan adanya senyawa alkaloid
- Fraksi etanol daun kenitu berbagai varian yaitu HL, BK, BB, dan MR memiliki kadar fenolik total berturut-turut yaitu $0,483 \pm 0,000$; $0,42 \pm 0,006$; $0,416 \pm 0,002$; dan $0,149 \pm 0,001$ mg GAE. Jadi, kadar fenolik total HL>BK=BB>MR.
- Kadar fenolik total dan IC_{50} pada fraksi etanol daun kenitu berbagai varian memiliki korelasi r hitung $>$ r tabel yaitu $0,961 > 0,950$ dengan taraf kepercayaan 95% ($n=4$)

5.2 Saran

Hasil penelitian ini perlu dilakukan penelitian yang lebih lanjut dengan menggunakan enzim alfa-glukosidase yang bukan berasal dari *Saccharomyces cerevisiae* dan *Bacillus stearothermophilus* seperti dari pankreas babi, yang bertujuan untuk memastikan apakah akarbosa dapat dijadikan pembanding dan kontrol positif dalam pengujian aktivitas inhibitor alfa-glukosidase. Selain itu, dapat dilakukan penelitian lebih lanjut dengan mekanisme lain sebagai antidiabetes seperti penghambatan transporter glukosa.

DAFTAR PUSTAKA

- American Diabetes Association. 2004. Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care*. 27(1):5-10.
- Al-Aboundi, A dan Fatma, U. A. 2011. Plants Used for The Treatment of Diabetes in Jordan: A Review of Scientific Evidence. *Pharmaceutical Biology*, 49(3): 221-239.
- Bischoff, H. 1994. Pharmacology of Alpha-glucosidase Inhibition. *European Journal of Clinical Investigation*, 24 (3): 3-10.
- Besral. 2010. *Pengolahan dan Analisis data-I menggunakan SPSS*. Depok: Universitas Indonesia.
- Chiba, S. 1997. Review: Molecular Mechanism in Alpha-glucosidase and Glucoamylase. *Bioscience Biotechnology Biochemistry*, 61 (8):1233-1239.
- Cihan, A. C., Ozcan, B., Tekin, N., dan Cokmus, C. 2010. Characterization of a Thermostable Alpha-glucosidase from *Geobacillus thermodenitrificans* F84a. *Formatex*.
- D'Archivio, M., Carmela, F., Roberta, D., Raffaella, G., Claudio, G., dan Roberta, M. 2007. Polyphenols, Dietary Sources and Bioavailability. *Annali Dell'istituto Superiore Sanita*, 43 (4): 348-361.
- Departemen Kesehatan RI. 2005. *Pharmaceutical Care untuk Penyakit Diabetes Mellitus*. Jakarta: Direktorat Bina Farmasi Komunitas dan Klinik Depkes RI.
- Departemen Kesehatan RI. 1995. *Materia Medika Indonesia Jilid IV*. Jakarta: Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan.
- Febrinda, A.E., Made, A., Tuti W., dan Nancy D. Y. 2013. Kapasitas Antioksidan dan Inhibitor Alfa-glukosidase Ekstrak Umbi Bawang Dayak. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*, 24(2): 161-167.
- Gopal, A dan G. Muralikhrisna. 2009. Alpha-amylase: Structure and Function Relationship. *Trends in Carbohydrate Research*, 1(4):1-11.
- Hanhineva, K., Ritta, T., Isabel, B., Jenna, P., Marjukka, K., Hannu, M., dan Kaisa, P. 2010. Impact of Dietary Polyphenol on Carbohydrate Metabolism. *International Journal of Molecular Sciences*, 11: 1365-1402.

- Harborne, J.B. 1987. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan* Cetakan II. Terjemahan oleh Kosasih Padmawinata. Bandung: ITB-Press.
- Heyne K. 1987. *Tumbuhan Berguna Indonesia*. Jilid III. Diterjemahkan oleh Badan Litbang Kehutanan Jakarta.
- Hidayat, M. A., Umiyah, dan Ulfa, E. U. 2007. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Air dan Ekstrak Metanol Beberapa Varian Buah Kenitu (*Chrysophyllum cainito* L.) dari Daerah Jember. *Berkarya Penelitian Hayati*, 13: 45–50.
- International Diabetes Federation. 2013. IDF Diabetes Atlas Sixth Edition. www.idf.org/diabetesatlas [diakses tanggal 1 Juli 2015]
- Katzung, B. G. 2002. *Farmakologi dasar dan Klinik Edisi VI*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran.
- Kementerian Kesehatan RI. 2011. *Suplemen II Farmakope Herbal Indonesia*, Edisi II. Jakarta: Kemenkes RI.
- Kementerian Kesehatan RI. 2014. *Situasi dan Analisis Diabetes*. Infodatin, Pusat Data dan Informasi Kementerian Kesehatan RI.
- Kim, K. Y., Nam, K.A., Kurihara, H., dan Kim., S.M. 2008. Potent Alpha-glucosidase Inhibitors Purified from The Red Alga *Grateloupis elliptica*. *Phytochemistry*, 69:2820-2825
- Koffi, N., Amoikon, K. E., Tiebre, M. S., Kadja, B., dan Zirihi, G. N. 2009. Effect of Aqueous Extract of *Chrysophyllum cainito* Leaves on The Glycaemia of Diabetic Rabbits. *African Journal Pharmacy Pharmacology*, 3 (10):501-506.
- Kwon, O., Peter, E., Sheeglin, C., Christoper, P., Je-Hyuk, L., Michael, K., dan Mark, L. 2007. Inhibition of The Intestinal Glucose Transporter GLUT2 by Flavonoids. *The FASEB Journal*, 12: 366-378.
- Lazarus, S. A dan Harold, H. S. 2000. Dietary Flavonoids May Promote Health, Prevent Heart Disease. *California Agriculture*, 54 (5): 33-39.
- Lebovitz, H. E. 1997. Alpha-Glucosidase Inhibitors. *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America*, 26 (3): 539-551.
- Liu, X., Zhu, L., Tan, J., Zhou, X., Xiao, L., Yang, X., dan Wang, B. 2014. Glucosidase Inhibitory Activity and Antioxidant Activity of Flavonoid Compound and Triterpenoid Compound from *Agrimonia Pilosa* Ledeb. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 14(12): 1-10

- Loranza, B. 2012. Uji Penghambatan Aktivitas Enzim Alfa-glukosidase dan Identifikasi Golongan Senyawa Kimia dari Fraksi Teraktif Daun Buni (*Antidesma bunius* L.). *Fakultas MIPA, PS. Farmasi UI*.
- Luo XD, Basile, MJ, dan Kennely, EJ, 2002. Polyphenolic Antioxidants from *Chrysophyllum cainito* L. (Star Apple). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(6): 1379–1382.
- Moradi-Afrapoli, F., Behavar. A., Soodabeh, S., Yusef, A., Mobina, M., Maryam. M., Reza, D. B., Abbas, H., Peyman, S., Matlas, H., dan Narguess, Y. 2012. *In vitro* Alpha-glucosidase Inhibitory Activity of Phenolic Constituents from Aerial Parts of *Polygonum hyrcanicum*. *DARU Journal of Pharmaceutical Sciences*, 20 (37): 3-6.
- Morton J, 1987. Star Apple, in Morton J, Fruits of Warm Climates. *Miami Florida*, 408-410.
- Nagmoti, D dan Archana R. 2013. *In vitro* Inhibitory Effects of *Pithecellobium dulce*(Roxb.) Benth. Seeds on Intestinal Alpha-glucosidase and Pancreatic Alpha-amylase. *Journal Biochemistry Technology*, 4 (3): 616-621
- N'Guessan, K. 2008. Plantes médicinales et pratiques médicalestraditionnelles chez les peuples Abbey et Krobou du Département d'Agboville (Côte-d'Ivoire). Thèse de Doctorat ès Sciences Naturelles. *Université de Cocody-Abidjan; U.F.R. Bioscience; Laboratoire de Botanique. N° d'ordre,561: 235*. Dalam: Koffi, N., Amoikon, K. E., Tiebre, M. S., Kadja, B., dan Zirihi, G. N. 2009. Effect of Aqueous Extract of *Chrysophyllum cainito* Leaves on The Glycaemia of Diabetic Rabbits. *African Journal Pharmacy Pharmacology*, 3 (10):501-506.
- National Diabetes Statistic Report. 2014. *Estimates of Diabetes and Its Burden in The United States* USA: National Center for Chronic Disease Prevention and Health Promotion, Division of Diabetes Translation.
- Notoatmodjo, S. 2010. *Metodologi Penelitian Kesehatan*. Jakarta: PT Rineka Cipta.
- Oboh, G., Ayodele, J., Adedayo, O., dan Fatai, O. 2013. Inhibition of Alpha-amylase and Alpha-glucosidase Activities by Ethanolic Extract of *Amaranthus cruentus* Leaf as Affected by Blanching. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 7(17): 1026-1032.
- Phan, M. A.T., Jin, W., Jingyi, T., Yan, Z. L., dan Ken, N. 2013. Evaluation of Alpha-glucosidase Inhibition Potential of Some Flavonoids from *Epimedium brevicornu*. *Food Science and Technology*, 53: 492-498.

- Philippine Medical Plants. Caimito *Chrysophyllum cainito* L. <http://www.stuartxchange.org/Caimito.html> [diakses tanggal 6 Maret 2015].
- Putri, L. A. 2015. Uji Aktivitas Inhibitor Alfa-glukosidase Fraksi Etil Asetat Daun Kenitu (*Chrysophyllum cainito* L.) Berbagai Varian di Daerah Jember. *Fakultas Farmasi Universitas Jember* [belum dipublikasikan].
- Shailahan, S dan Deepti, A. 2014. Pharmacognostic and Phytochemical Evaluation of *Chrysophyllum cainito* L. Leaves. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 26 (1): 106-111.
- Sim, L. 2010. Structural and Inhibition Studies of Human Intestinal Glucosidases. *Graduate Department of Medical Biophysics University of Toronto*.
- Striegel, L., Bouhee, K., Sarah, J. P., Michael, R., dan Emmanouil, A. 2015. Effect of Black Tea and Black Tea Pomace Polyphenols on Alpha-glucosidase and Alpha-amylase Inhibition, Relevant to Type 2 Diabetes Prevention. *Frontiers in Nutrition, Food Chemistry*, 2(3): 1-6
- Sugiwati, S., Setiasi, S., dan Afifah, W. 2009. Antihyperglycemic Activity of The Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa*) Leaf Extracts as an Alpha-glucosidase Inhibitor. *Makara Kesehatan*, 13:74-78.
- Tadera, K., Yuji, M., Kouta, T., dan Tamoko, M. 2006. Inhibition of Alpha-glucosidase and Alpha-amylase by Flavonoids. *Journal Nutrition Sciences Vitaminol*, 52: 149-153.
- Tan, C., Qunxing, W., Chunhua, L., Sai, C., Qianyuan, L., dan Peng, L. 2013. Yeast Alpha-glucosidase Inhibitory Phenolic Compounds Isolated from *Gynura medica* Leaf. *International Journal of Molecular Sciences*, 14: 2551-2558.
- Trisilawati, O dan Joko, P. 2012. Pengaruh Cekaman Defesit Air Terhadap Pembentukan Bahan Aktif Pada Purwoceng. *Buletin Littro*, 23(1): 34-47
- Williamson, G. 2013. Possible effects of Dietary Polyphenol on Sugar Absorption and Digestion. *Moluculer Nutrition Food Research*, 57: 48-57.
- WHO Department of Noncommunicable Disease Surveillance Geneva. 1999. Definition, Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus and its Complications. *Report of a WHO Consultation Part 1: Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus*.
- United States Department of Agriculture (USDA). *Chrysophyllum cainito* L. Star Apple. <http://www.plants.usda.gov/core/profile?symbol=CHCA10> [diakses tanggal 4 Maret 2015].

- Xu, H. 2010. Inhibition Kinetics of Flavonoids on Yeast α -glucosidase Merged with Docking Simulation. *Protein and Peptide Letters*, 17(10): 1270-1279.
- Yao, L. H., Jiang, Y. M., Shi, J., Tomas. B. F. A., Datta, N., Singanusong, R., dan Chen S. S. 2004. Flavonoids in Food and Their Health Benefits. *Plant Food for Human Nutrition*, 59: 113-122.
- Zuhro, F. 2015. Uji Aktivitas Antidiabetes Ekstrak Etanol 70% Daun Kenitu (*Chrysophyllum cainito* L.) Berbagai Varian di Daerah Jember. *Fakultas Farmasi Universitas Jember* [belum dipublikasikan].
- Zulaikhah, S. 2015. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Air, Aseton, dan Etanol Beberapa Varian Ekstrak Daun Kenitu (*Chrysophyllum cainito* L.) dari Daerah Jember. *Fakultas Farmasi Universitas Jember* [belum dipublikasikan].

LAMPIRAN

Lampiran 1

1.1 Hasil uji aktivitas inhibitor alfa-glukosidase

a. Kontrol Negatif

Absorbansi			Blanko			Absorbansi-blanko		
Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3
0,812	0,811	0,811	0,058	0,056	0,055	0,754	0,755	0,756

b. Kontrol positif

Sampel	Absorbansi			Blanko			Absorbansi-blanko			% inhibisi			Rata-rata inhibisi (%)	SD
	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3		
Kontrol negatif	0,840	0,841	0,843	0,056	0,058	0,055	0,784	0,783	0,788					
1500	0,770	0,766	0,771	0,055	0,054	0,055	0,715	0,712	0,716	8,801	9,068	9,137	9,002	0,177
2500	0,515	0,514	0,517	0,050	0,049	0,051	0,465	0,465	0,465	40,689	40,613	40,990	40,764	0,199
5000	0,470	0,473	0,472	0,051	0,053	0,054	0,419	0,419	0,419	46,556	46,488	46,827	46,624	0,180
7500	0,412	0,415	0,414	0,054	0,055	0,055	0,358	0,360	0,359	54,337	54,023	54,442	54,267	0,218
10000	0,358	0,359	0,361	0,056	0,058	0,057	0,302	0,301	0,304	61,480	61,558	61,421	61,486	0,069
15000	0,278	0,279	0,279	0,057	0,058	0,059	0,221	0,222	0,220	71,811	71,648	72,081	71,847	0,219
20000	0,235	0,234	0,234	0,059	0,060	0,061	0,176	0,174	0,173	77,551	77,778	78,046	77,791	0,248

c. HL

Sampel	Absorbansi			Blanko			Absorbansi-blanko			% inhibisi			Rata-rata inhibisi (%)	SD
	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3		
25	0,101	0,101	0,100	0,078	0,076	0,074	0,023	0,025	0,026	96,950	96,689	96,561	96,733	0,198
10	0,140	0,139	0,137	0,077	0,077	0,073	0,063	0,062	0,064	91,645	91,788	91,534	91,656	0,127
5	0,219	0,214	0,213	0,083	0,075	0,071	0,136	0,139	0,142	81,963	81,589	81,217	81,590	0,373
1	0,355	0,352	0,351	0,073	0,072	0,072	0,282	0,280	0,279	62,599	62,914	63,095	62,870	0,251
0,5	0,437	0,430	0,429	0,076	0,074	0,072	0,361	0,356	0,357	52,122	52,848	52,778	52,582	0,400
0,1	0,550	0,560	0,549	0,076	0,075	0,075	0,474	0,485	0,474	37,135	35,762	37,302	36,733	0,845
0,05	0,577	0,574	0,571	0,067	0,067	0,065	0,510	0,507	0,506	32,361	32,848	33,069	32,759	0,362

d. BK

Sampel	Absorbansi			Blanko			Absorbansi-blanko			% inhibisi			Rata-rata Inhibisi (%)	SD
	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	Replikasi 1	% inhibisi	Replikasi 3	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3		
25	0,114	0,111	0,110	0,069	0,068	0,065	0,045	0,043	0,045	94,032	94,297	94,032	94,120	0,153
10	0,238	0,236	0,233	0,066	0,066	0,066	0,172	0,170	0,167	77,188	77,454	77,851	77,498	0,334
5	0,288	0,280	0,280	0,061	0,061	0,061	0,227	0,219	0,219	69,894	70,955	70,955	70,601	0,613
1	0,363	0,361	0,359	0,069	0,069	0,066	0,294	0,292	0,293	61,008	61,273	61,141	61,141	0,133
0,5	0,409	0,407	0,406	0,067	0,066	0,065	0,342	0,341	0,341	54,642	54,775	54,775	54,730	0,077
0,1	0,518	0,517	0,515	0,069	0,067	0,066	0,449	0,450	0,449	40,451	40,318	40,451	40,407	0,077
0,05	0,588	0,587	0,585	0,066	0,065	0,065	0,522	0,522	0,520	30,769	30,769	31,034	30,858	0,153
0,01	0,635	0,633	0,630	0,065	0,061	0,061	0,570	0,572	0,569	24,403	24,138	24,536	24,359	0,203

e. BB

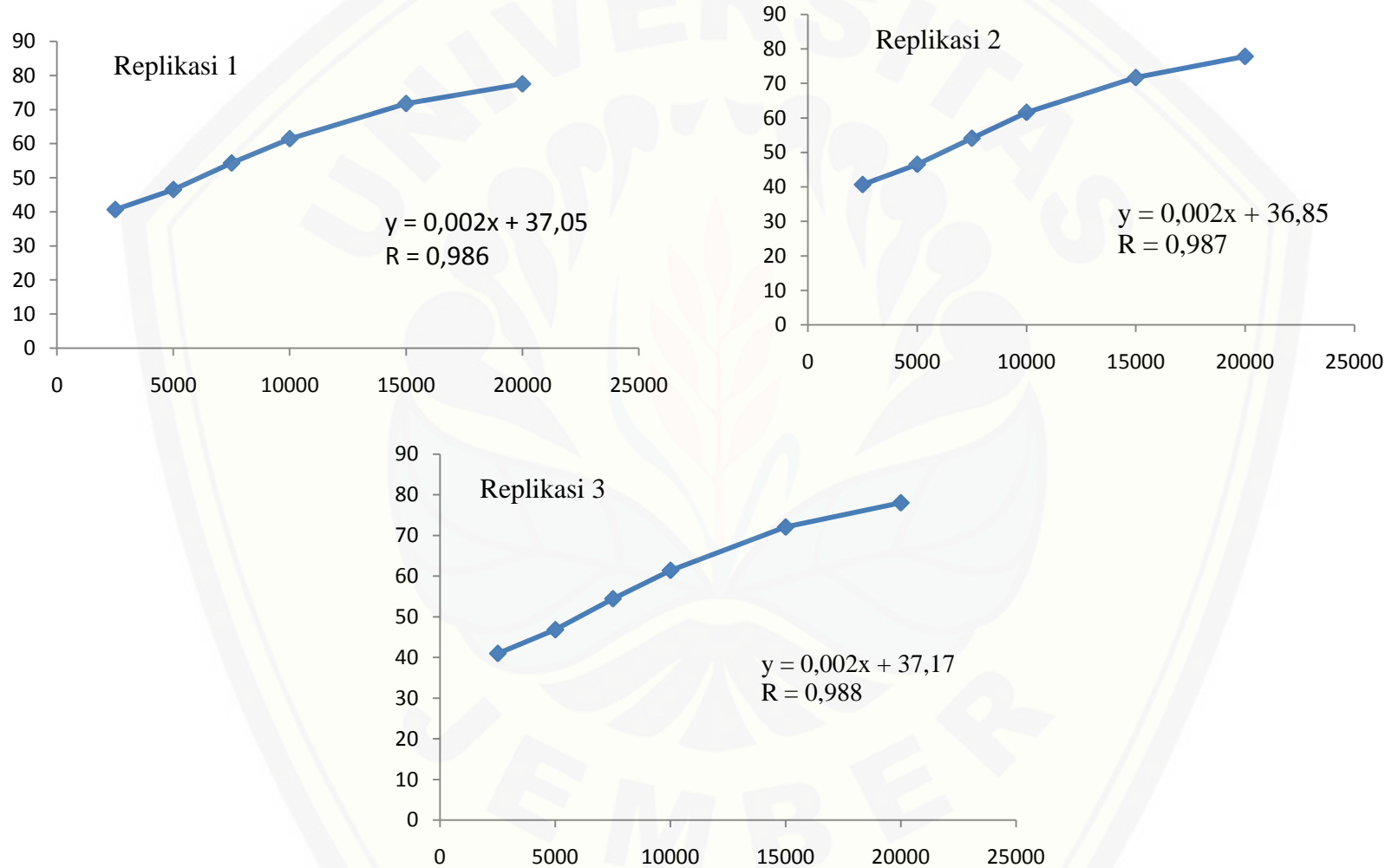
Sampel	Absorbansi			Blanko			Abs-Blanko			% inhibisi			Rata-rata Inhibisi (%)	SD
	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3		
25	0,097	0,095	0,092	0,080	0,080	0,081	0,017	0,015	0,011	97,745	98,013	98,545	98,101	0,407
10	0,123	0,122	0,121	0,079	0,079	0,079	0,044	0,043	0,042	94,164	94,305	94,444	94,305	0,140
5	0,209	0,208	0,208	0,076	0,079	0,073	0,133	0,129	0,135	82,361	82,914	82,143	82,473	0,397
1	0,256	0,255	0,254	0,076	0,078	0,076	0,180	0,177	0,178	76,127	76,556	76,455	76,380	0,224
0,5	0,379	0,377	0,377	0,071	0,072	0,067	0,308	0,305	0,310	59,151	59,603	58,995	59,250	0,316
0,1	0,513	0,504	0,501	0,076	0,066	0,061	0,437	0,438	0,440	42,042	41,987	41,799	41,943	0,128
0,05	0,718	0,712	0,712	0,073	0,069	0,071	0,645	0,643	0,641	14,456	14,834	15,212	14,834	0,378
0,01	0,775	0,777	0,771	0,069	0,068	0,068	0,706	0,709	0,703	6,366	6,093	7,011	6,490	0,471

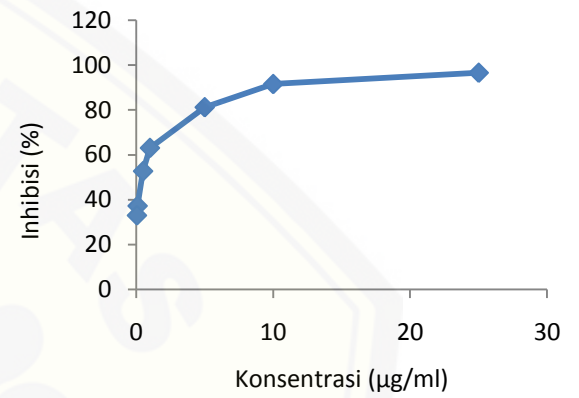
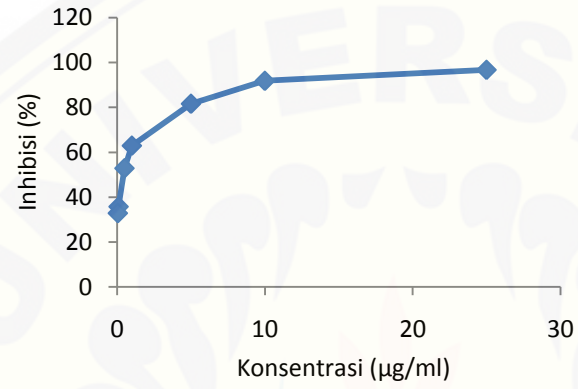
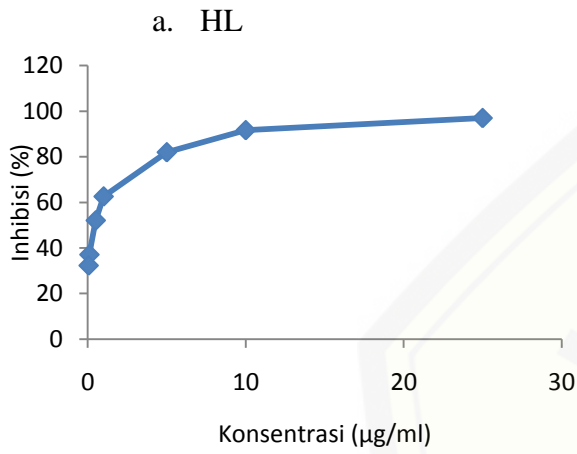
f. MR

Sampel	Absorbansi			Blanko			Abs-Blanko			% inhibisi			Rata-rata Inhibisi (%)	SD
	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3		
25	0,160	0,155	0,153	0,065	0,063	0,063	0,095	0,092	0,090	87,401	87,815	88,095	87,770	0,349
10	0,296	0,295	0,294	0,065	0,062	0,062	0,231	0,233	0,232	69,363	69,139	69,312	69,272	0,118
5	0,349	0,349	0,345	0,068	0,068	0,062	0,281	0,281	0,283	62,732	62,781	62,566	62,693	0,113
1	0,349	0,349	0,345	0,068	0,068	0,062	0,281	0,281	0,283	62,732	62,781	62,566	62,693	0,113
0,5	0,479	0,476	0,473	0,062	0,062	0,058	0,417	0,414	0,415	44,695	45,166	45,106	44,989	0,256
0,1	0,594	0,592	0,587	0,061	0,060	0,058	0,533	0,532	0,529	29,310	29,536	30,026	29,624	0,366
0,05	0,682	0,681	0,681	0,062	0,061	0,061	0,620	0,620	0,620	17,772	17,881	17,989	17,881	0,109

1.2 Persamaan regresi konsentrasi sampel vs inhibisi

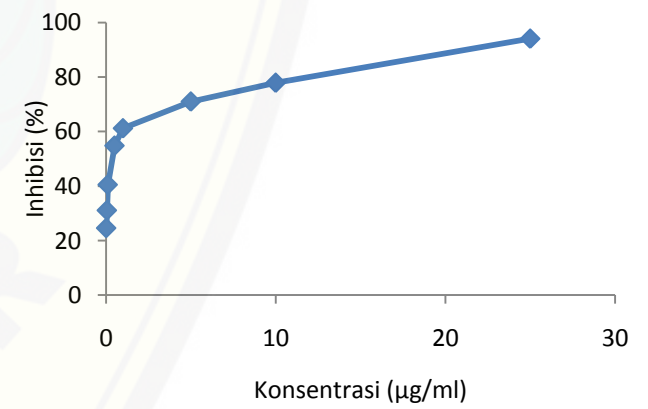
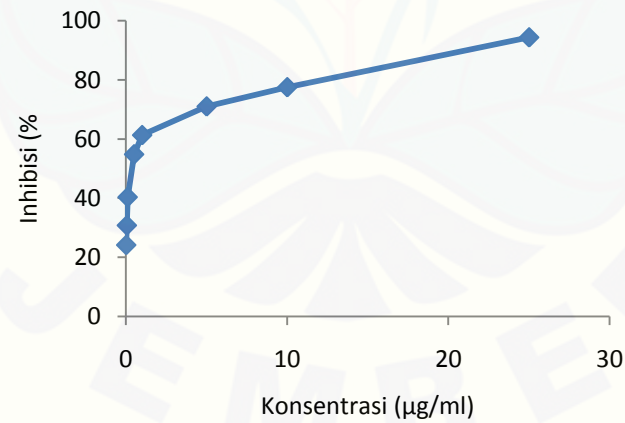
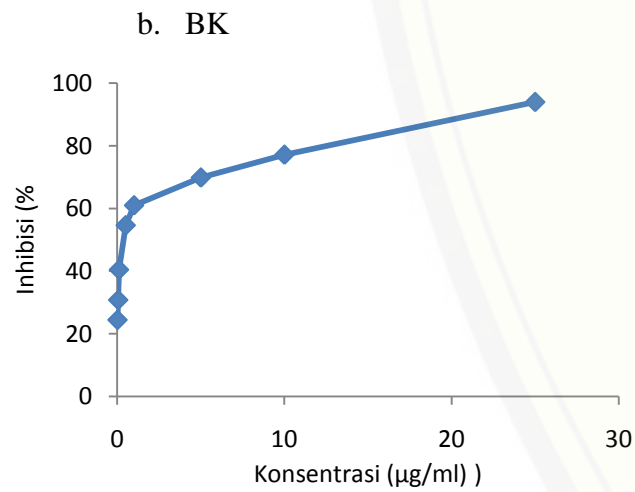
a. Akarbose





Replikasi 2

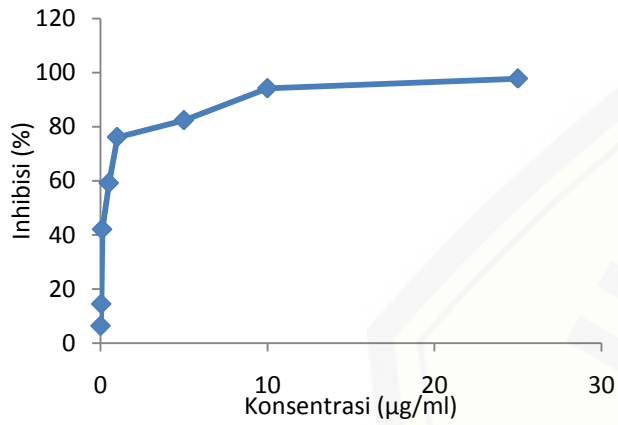
Replikasi 3



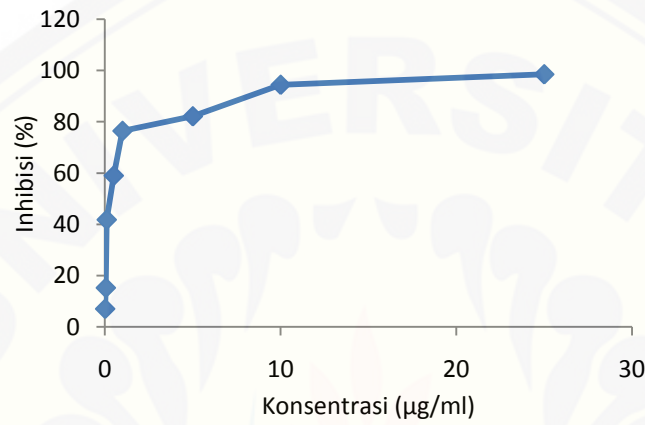
Replikasi 1

Replikasi 2

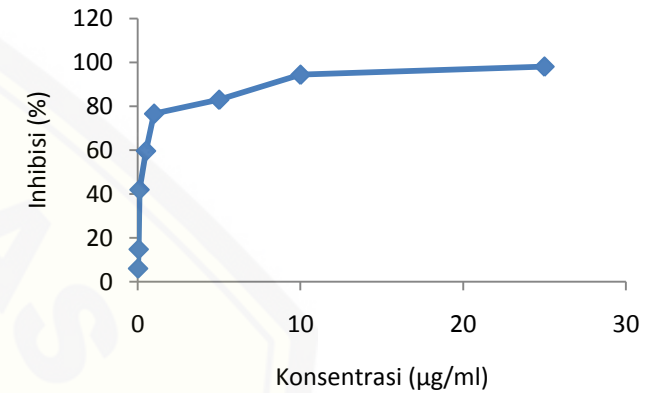
Replikasi 3



Replikasi 1

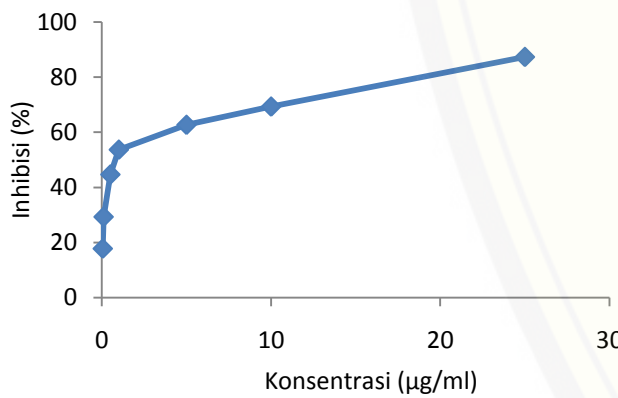


Replikasi 2

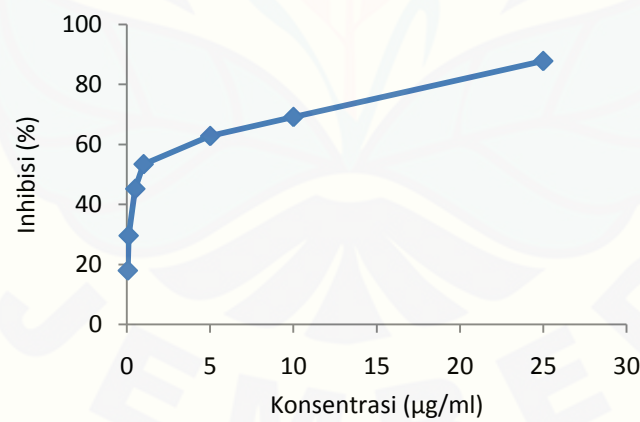


Replikasi 3

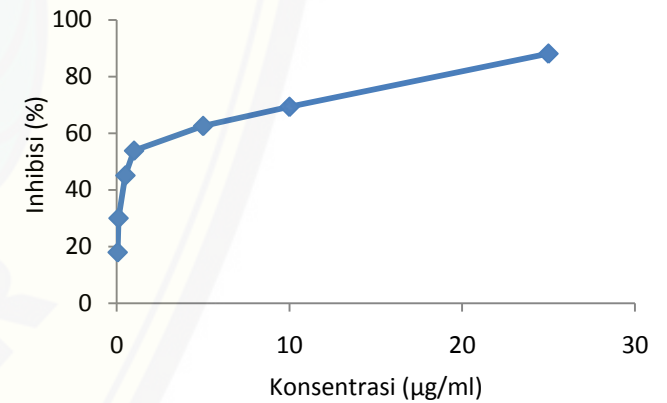
d. MR



Replikasi 1



Replikasi 2



Replikasi 3

Lampiran 2

2.1 Nilai IC₅₀ fraksi kenitu berbagai varian

Varian	Replikasi			IC ₅₀	SD	CV
	1	2	3			
HL	0,281	0,282	0,277	0,280	0,003	0,945
BK	0,290	0,285	0,280	0,285	0,005	1,754
BB	0,292	0,286	0,283	0,287	0,005	1,597
MR	0,945	0,935	0,916	0,932	0,015	1,581
Akarbose	6475	6575	6415	6488,333	80,829	1,246

2.2 Analisis Probit

a. HL

1) Replikasi 1

Confidence Limits

Probability	95% Confidence Limits for konsentrasi			95% Confidence Limits for log(konsentrasi)*		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT 0.01	.000	.000	.001	-3.450	-4.060	-2.997
0.02	.001	.000	.002	-3.110	-3.661	-2.701
0.03	.001	.000	.003	-2.895	-3.408	-2.512
0.04	.002	.001	.004	-2.733	-3.218	-2.371
0.05	.003	.001	.006	-2.601	-3.063	-2.255
0.06	.003	.001	.007	-2.489	-2.932	-2.157
0.07	.004	.002	.009	-2.390	-2.817	-2.070
0.08	.005	.002	.010	-2.302	-2.714	-1.993
0.09	.006	.002	.012	-2.222	-2.620	-1.922
0.1	.007	.003	.014	-2.148	-2.534	-1.858
0.15	.014	.007	.026	-1.843	-2.178	-1.588
0.2	.025	.013	.042	-1.600	-1.896	-1.373
0.25	.041	.022	.065	-1.392	-1.655	-1.187
0.3	.062	.036	.096	-1.205	-1.440	-1.019
0.35	.093	.057	.137	-1.031	-1.242	-.862
0.4	.136	.088	.195	-.867	-1.057	-.711
0.45	.196	.132	.274	-.708	-.879	-.563
0.5	.281	.196	.386	-.551	-.707	-.414
0.55	.403	.290	.547	-.395	-.538	-.262
0.6	.582	.426	.788	-.235	-.371	-.103
0.65	.849	.627	1.163	-.071	-.203	.065
0.7	1.266	.931	1.772	.102	-.031	.249
0.75	1.947	1.410	2.828	.289	.149	.451
0.8	3.145	2.211	4.814	.498	.345	.682
0.85	5.501	3.694	9.051	.740	.568	.957
0.9	11.115	6.969	20.261	1.046	.843	1.307
0.91	13.173	8.113	24.646	1.120	.909	1.392
0.92	15.843	9.565	30.505	1.200	.981	1.484
0.93	19.408	11.458	38.585	1.288	1.059	1.586

2) Replikasi 2

Confidence Limits						
Probability	95% Confidence Limits for konsentrasi			95% Confidence Limits for log(konsentrasi)*		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT						
0.01	.000	.000	.001	-3.452	-4.063	-2.999
0.02	.001	.000	.002	-3.112	-3.663	-2.702
0.03	.001	.000	.003	-2.896	-3.410	-2.513
0.04	.002	.001	.004	-2.734	-3.219	-2.371
0.05	.003	.001	.006	-2.602	-3.064	-2.255
0.06	.003	.001	.007	-2.489	-2.933	-2.157
0.07	.004	.002	.009	-2.391	-2.817	-2.070
0.08	.005	.002	.010	-2.302	-2.714	-1.993
0.09	.006	.002	.012	-2.222	-2.620	-1.922
0.1	.007	.003	.014	-2.148	-2.534	-1.857
0.15	.014	.007	.026	-1.842	-2.178	-1.588
0.2	.025	.013	.042	-1.599	-1.895	-1.372
0.25	.041	.022	.065	-1.391	-1.654	-1.186
0.3	.063	.036	.096	-1.203	-1.439	-1.018
0.35	.093	.057	.138	-1.030	-1.241	-.860
0.4	.136	.088	.195	-.865	-1.055	-.709
0.45	.197	.133	.275	-.706	-.877	-.561
0.5	.282	.197	.387	-.549	-.705	-.412
0.55	.405	.291	.550	-.392	-.536	-.260
0.6	.585	.428	.793	-.233	-.369	-.101
0.65	.854	.630	1.170	-.068	-.200	.068
0.7	1.274	.937	1.785	.105	-.028	.252
0.75	1.961	1.419	2.849	.292	.152	.455
0.8	3.170	2.227	4.854	.501	.348	.686
0.85	5.548	3.724	9.134	.744	.571	.961
0.9	11.220	7.030	20.467	1.050	.847	1.311
0.91	13.300	8.185	24.903	1.124	.913	1.396
0.92	16.000	9.653	30.831	1.204	.985	1.489
0.93	19.604	11.566	39.009	1.292	1.063	1.591

3) Replikasi 3

Confidence Limits						
Probability	95% Confidence Limits for konsentrasi			95% Confidence Limits for log(konsentrasi)*		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT						
0.01	.000	.000	.001	-3.522	-4.156	-3.053
0.02	.001	.000	.002	-3.174	-3.747	-2.750
0.03	.001	.000	.003	-2.954	-3.487	-2.558
0.04	.002	.001	.004	-2.788	-3.292	-2.414
0.05	.002	.001	.005	-2.653	-3.134	-2.296
0.06	.003	.001	.006	-2.538	-2.999	-2.195
0.07	.004	.001	.008	-2.438	-2.881	-2.107
0.08	.004	.002	.009	-2.348	-2.775	-2.028
0.09	.005	.002	.011	-2.266	-2.679	-1.956
0.1	.006	.003	.013	-2.190	-2.591	-1.890
0.15	.013	.006	.024	-1.878	-2.226	-1.615
0.2	.023	.012	.040	-1.630	-1.936	-1.396
0.25	.038	.020	.062	-1.417	-1.690	-1.206
0.3	.059	.034	.092	-1.226	-1.469	-1.035
0.35	.089	.054	.134	-1.048	-1.266	-.874
0.4	.132	.084	.191	-.880	-1.076	-.720
0.45	.192	.128	.270	-.717	-.894	-.569
0.5	.277	.192	.383	-.557	-.717	-.417
0.55	.401	.286	.547	-.397	-.544	-.262
0.6	.583	.424	.794	-.234	-.373	-.100
0.65	.858	.630	1.182	-.066	-.201	.073
0.7	1.291	.944	1.819	.111	-.025	.260
0.75	2.005	1.443	2.936	.302	.159	.468
0.8	3.274	2.285	5.064	.515	.359	.705
0.85	5.799	3.858	9.676	.763	.586	.986
0.9	11.904	7.373	22.104	1.076	.868	1.344
0.91	14.162	8.610	27.022	1.151	.935	1.432
0.92	17.103	10.185	33.626	1.233	1.008	1.527
0.93	21.047	12.247	42.787	1.323	1.088	1.631

b. BK

1) Replikasi 1

Confidence Limits						
Probability	95% Confidence Limits for konsentrasi			95% Confidence Limits for log(konsentrasi) ^a		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT	.001	.000	.000	-4.696	-5.548	-4.071
	.002	.000	.000	-4.208	-4.971	-3.648
	.003	.000	.000	-3.899	-4.606	-3.380
	.004	.000	.001	-3.667	-4.331	-3.177
	.005	.000	.001	-3.478	-4.108	-3.013
	.006	.000	.001	-3.317	-3.918	-2.872
	.007	.001	.002	-3.176	-3.751	-2.749
	.008	.001	.002	-3.049	-3.602	-2.639
	.009	.001	.003	-2.934	-3.467	-2.538
	.01	.001	.004	-2.828	-3.343	-2.446
	.015	.004	.009	-2.390	-2.828	-2.061
	.02	.009	.018	-2.042	-2.421	-1.754
	.025	.018	.032	-1.744	-2.074	-1.489
	.03	.033	.057	-1.475	-1.765	-1.248
	.035	.059	.095	-1.227	-1.481	-1.022
	.04	.102	.157	-.991	-1.215	-.804
	.045	.173	.258	-.763	-.962	-.588
	.05	.290	.426	-.538	-.720	-.370
	.055	.486	.716	-.314	-.484	-.145
	.06	.821	1.234	-.085	-.253	.091
	.065	1.414	2.208	.150	-.021	.344
	.07	2.506	4.146	.399	.215	.618
	.075	4.647	8.306	.667	.463	.919
	.08	9.245	18.228	.966	.735	1.261
	.085	20.608	46.058	1.314	1.046	1.663
	.09	56.505	149.349	1.752	1.434	2.174
	.091	72.092	198.653	1.858	1.527	2.298
	.092	93.934	270.929	1.973	1.628	2.433
	.093	125.662	381.249	2.099	1.739	2.581
	.094	173.004	559.284	2.245	1.869	2.747

2) Replikasi 2

Confidence Limits						
Probability	95% Confidence Limits for konsentrasi			95% Confidence Limits for log(konsentrasi) ^a		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT	.001	.000	.000	-4.639	-5.468	-4.028
	.002	.000	.000	-4.159	-4.902	-3.611
	.003	.000	.000	-3.855	-4.543	-3.346
	.004	.000	.001	-3.626	-4.273	-3.147
	.005	.000	.001	-3.439	-4.054	-2.984
	.006	.001	.001	-3.281	-3.867	-2.846
	.007	.001	.002	-3.142	-3.703	-2.725
	.008	.001	.002	-3.018	-3.557	-2.616
	.009	.001	.003	-2.904	-3.424	-2.517
	.01	.002	.004	-2.800	-3.302	-2.425
	.015	.004	.009	-2.369	-2.797	-2.046
	.02	.009	.018	-2.026	-2.397	-1.743
	.025	.019	.033	-1.732	-2.056	-1.481
	.03	.034	.057	-1.468	-1.752	-1.244
	.035	.060	.095	-1.223	-1.473	-1.021
	.04	.102	.156	-.991	-1.211	-.806
	.045	.171	.255	-.766	-.963	-.594
	.05	.285	.417	-.545	-.724	-.379
	.055	.474	.695	-.324	-.492	-.158
	.06	.796	1.187	-.099	-.264	.075
	.065	1.358	2.103	.133	-.036	.323
	.07	2.386	3.904	.378	.197	.591
	.075	4.383	7.722	.642	.442	.888
	.08	8.628	16.709	.936	.710	1.223
	.085	18.998	41.524	1.279	1.017	1.618
	.09	51.291	131.860	1.710	1.400	2.120
	.091	65.196	174.507	1.814	1.492	2.242
	.092	84.606	236.695	1.927	1.591	2.374
	.093	112.679	331.072	2.052	1.701	2.520
	.094	155.177	481.809	2.191	1.823	2.683

3) Replikasi 3

		Confidence Limits					
Probability	95% Confidence Limits for konsentrasi			95% Confidence Limits for log(konsentrasi) ^a			
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	
PROBIT	0.01	.000	.000	.000	-4.672	-5.513	-4.055
	0.02	.000	.000	.000	-4.190	-4.942	-3.636
	0.03	.000	.000	.000	-3.883	-4.581	-3.369
	0.04	.000	.000	.001	-3.653	-4.309	-3.169
	0.05	.000	.000	.001	-3.465	-4.088	-3.005
	0.06	.000	.000	.001	-3.306	-3.900	-2.866
	0.07	.001	.000	.002	-3.166	-3.735	-2.744
	0.08	.001	.000	.002	-3.041	-3.587	-2.634
	0.09	.001	.000	.003	-2.927	-3.453	-2.535
	0.1	.002	.000	.004	-2.822	-3.330	-2.443
	0.15	.004	.002	.009	-2.388	-2.821	-2.062
	0.2	.009	.004	.017	-2.043	-2.418	-1.757
	0.25	.018	.008	.032	-1.747	-2.075	-1.494
	0.3	.033	.017	.056	-1.481	-1.768	-1.255
	0.35	.058	.033	.093	-1.235	-1.487	-1.031
	0.4	.100	.060	.153	-1.001	-1.224	-.815
	0.45	.168	.106	.250	-.775	-.974	-.601
	0.5	.280	.185	.412	-.552	-.733	-.385
	0.55	.468	.317	.687	-.330	-.499	-.163
	0.6	.788	.538	1.178	-.104	-.269	.071
	0.65	1.350	.912	2.094	.130	-.040	.321
	0.7	2.380	1.566	3.905	.377	.195	.592
	0.75	4.389	2.764	7.763	.642	.442	.890
	0.8	8.678	5.139	16.893	.938	.711	1.228
	0.85	19.206	10.477	42.265	1.283	1.020	1.626
	0.9	52.188	25.409	135.374	1.718	1.405	2.132
	0.91	66.439	31.436	179.532	1.822	1.497	2.254
	0.92	86.365	39.598	244.065	1.936	1.598	2.388
	0.93	115.237	51.019	342.236	2.062	1.708	2.534
	0.94	159.030	67.678	499.451	2.201	1.830	2.698

3. BB

1) Replikasi 1

		Confidence Limits					
Probability	95% Confidence Limits for konsentrasi			95% Confidence Limits for log(konsentrasi) ^a			
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	
PROBIT ^a	0.01	.001	.000	.004	-2.885	-3.652	-2.386
	0.02	.002	.001	.007	-2.610	-3.301	-2.157
	0.03	.004	.001	.010	-2.435	-3.079	-2.011
	0.04	.005	.001	.013	-2.303	-2.912	-1.901
	0.05	.006	.002	.015	-2.197	-2.777	-1.811
	0.06	.008	.002	.018	-2.106	-2.661	-1.735
	0.07	.009	.003	.022	-2.026	-2.561	-1.667
	0.08	.011	.003	.025	-1.954	-2.471	-1.607
	0.09	.013	.004	.028	-1.889	-2.389	-1.552
	0.1	.015	.005	.032	-1.830	-2.314	-1.501
	0.15	.026	.010	.051	-1.582	-2.005	-1.289
	0.2	.041	.017	.076	-1.385	-1.761	-1.118
	0.25	.061	.028	.107	-1.217	-1.555	-.969
	0.3	.086	.042	.147	-1.065	-1.372	-.832
	0.35	.119	.062	.198	-.925	-1.205	-.703
	0.4	.162	.089	.264	-.791	-1.050	-.578
	0.45	.218	.125	.352	-.662	-.902	-.453
	0.5	.292	.173	.471	-.535	-.761	-.327
	0.55	.390	.237	.636	-.408	-.624	-.196
	0.6	.525	.324	.872	-.279	-.490	-.060
	0.65	.714	.442	1.220	-.146	-.355	.086
	0.7	.987	.607	1.756	-.006	-.217	.245
	0.75	1.399	.845	2.630	.146	-.073	.420
	0.8	2.064	1.209	4.168	.315	.083	.620
	0.85	3.246	1.817	7.206	.511	.259	.858
	0.9	5.741	2.995	14.524	.759	.476	1.162
	0.91	6.588	3.375	17.229	.819	.528	1.236
	0.92	7.651	3.839	20.753	.884	.584	1.317
	0.93	9.019	4.422	25.479	.955	.646	1.406
	0.94	10.837	5.175	32.061	1.035	.714	1.506

2) Replikasi 2

Confidence Limits							
Probability	95% Confidence Limits for konsentrasi			95% Confidence Limits for log(konsentrasi)*			
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	
PROBIT*	0.01	.001	.000	.004	-2.866	-3.606	-2.380
	0.02	.003	.001	.007	-2.594	-3.261	-2.153
	0.03	.004	.001	.010	-2.421	-3.043	-2.008
	0.04	.005	.001	.013	-2.291	-2.879	-1.899
	0.05	.007	.002	.015	-2.185	-2.746	-1.810
	0.06	.008	.002	.018	-2.096	-2.633	-1.734
	0.07	.010	.003	.022	-2.017	-2.534	-1.667
	0.08	.011	.004	.025	-1.946	-2.445	-1.607
	0.09	.013	.004	.028	-1.882	-2.365	-1.553
	0.1	.015	.005	.031	-1.823	-2.291	-1.502
	0.15	.026	.010	.051	-1.578	-1.987	-1.292
	0.2	.041	.018	.075	-1.384	-1.748	-1.123
	0.25	.061	.029	.106	-1.217	-1.545	-.975
	0.3	.086	.043	.145	-1.067	-1.365	-.840
	0.35	.118	.063	.194	-.928	-1.201	-.712
	0.4	.160	.090	.258	-.797	-1.048	-.588
	0.45	.214	.125	.343	-.669	-.903	-.465
	0.5	.286	.172	.457	-.544	-.764	-.340
	0.55	.382	.235	.614	-.418	-.629	-.212
	0.6	.512	.319	.838	-.291	-.496	-.077
	0.65	.693	.434	1.167	-.159	-.363	.067
	0.7	.954	.594	1.670	-.020	-.226	.223
	0.75	1.347	.824	2.485	.129	-.084	.395
	0.8	1.978	1.175	3.908	.296	.070	.592
	0.85	3.096	1.758	6.696	.491	.245	.826
	0.9	5.437	2.885	13.336	.735	.460	1.125
	0.91	6.230	3.247	15.774	.794	.511	1.198
	0.92	7.222	3.690	18.940	.859	.567	1.277
	0.93	8.497	4.244	23.172	.929	.628	1.365

3) Replikasi 3

Confidence Limits							
Probability	95% Confidence Limits for konsentrasi			95% Confidence Limits for log(konsentrasi)*			
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	
PROBIT*	0.01	.001	.000	.004	-2.891	-3.663	-2.391
	0.02	.002	.000	.007	-2.617	-3.312	-2.163
	0.03	.004	.001	.010	-2.443	-3.090	-2.018
	0.04	.005	.001	.012	-2.312	-2.924	-1.908
	0.05	.006	.002	.015	-2.205	-2.788	-1.819
	0.06	.008	.002	.018	-2.114	-2.673	-1.742
	0.07	.009	.003	.021	-2.035	-2.573	-1.675
	0.08	.011	.003	.024	-1.964	-2.483	-1.615
	0.09	.013	.004	.028	-1.899	-2.401	-1.560
	0.1	.014	.005	.031	-1.839	-2.326	-1.510
	0.15	.026	.010	.050	-1.592	-2.017	-1.298
	0.2	.040	.017	.075	-1.396	-1.774	-1.128
	0.25	.059	.027	.105	-1.228	-1.568	-.979
	0.3	.084	.041	.143	-1.077	-1.385	-.843
	0.35	.116	.060	.193	-.937	-1.219	-.715
	0.4	.157	.086	.257	-.804	-1.063	-.589
	0.45	.211	.121	.343	-.675	-.917	-.465
	0.5	.283	.168	.458	-.549	-.776	-.339
	0.55	.378	.230	.618	-.422	-.639	-.209
	0.6	.509	.313	.846	-.293	-.504	-.073
	0.65	.691	.427	1.183	-.161	-.370	.073
	0.7	.954	.585	1.702	-.021	-.233	.231
	0.75	1.351	.815	2.547	.131	-.089	.406
	0.8	1.990	1.165	4.033	.299	.066	.606
	0.85	3.127	1.747	6.968	.495	.242	.843
	0.9	5.521	2.875	14.032	.742	.459	1.147
	0.91	6.333	3.238	16.642	.802	.510	1.221
	0.92	7.352	3.682	20.041	.866	.566	1.302
	0.93	8.662	4.239	24.600	.938	.627	1.391

4. MR

1) Replikasi 1

Confidence Limits

Probability	95% Confidence Limits for konsentrasi			95% Confidence Limits for log(konsentrasi) ^a		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT 0.01	.000	.000	.001	-3.648	-4.436	-3.086
0.02	.001	.000	.002	-3.223	-3.925	-2.721
0.03	.001	.000	.003	-2.954	-3.602	-2.490
0.04	.002	.000	.005	-2.751	-3.358	-2.315
0.05	.003	.001	.007	-2.586	-3.161	-2.173
0.06	.004	.001	.009	-2.446	-2.993	-2.052
0.07	.005	.001	.011	-2.323	-2.845	-1.946
0.08	.006	.002	.014	-2.213	-2.714	-1.850
0.09	.008	.003	.017	-2.113	-2.594	-1.764
0.1	.010	.003	.021	-2.020	-2.484	-1.684
0.15	.023	.009	.045	-1.639	-2.029	-1.352
0.2	.046	.021	.082	-1.335	-1.670	-1.086
0.25	.084	.043	.140	-1.075	-1.364	-.855
0.3	.144	.081	.226	-.841	-1.092	-.645
0.35	.237	.144	.357	-.625	-.843	-.448
0.4	.381	.245	.555	-.419	-.611	-.256
0.45	.602	.405	.862	-.220	-.393	-.064
0.5	.945	.654	1.350	-.024	-.184	.130
0.55	1.483	1.040	2.152	.171	.017	.333
0.6	2.345	1.635	3.516	.370	.213	.546
0.65	3.764	2.569	5.934	.576	.410	.773
0.7	6.199	4.082	10.441	.792	.611	1.019
0.75	10.619	6.653	19.425	1.026	.823	1.288
0.8	19.337	11.359	39.133	1.286	1.055	1.593
0.85	38.888	21.025	89.226	1.590	1.323	1.950
0.9	93.667	45.286	253.567	1.972	1.656	2.404
0.91	115.823	54.460	326.604	2.064	1.736	2.514
0.92	145.871	66.526	430.102	2.164	1.823	2.634
0.93	187.982	82.874	582.311	2.274	1.918	2.765

2) Replikasi 2

Confidence Limits

Probability	95% Confidence Limits for konsentrasi			95% Confidence Limits for log(konsentrasi) ^a		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT 0.01	.000	.000	.001	-3.657	-4.447	-3.093
0.02	.001	.000	.002	-3.232	-3.936	-2.728
0.03	.001	.000	.003	-2.962	-3.612	-2.496
0.04	.002	.000	.005	-2.759	-3.368	-2.322
0.05	.003	.001	.007	-2.594	-3.170	-2.179
0.06	.004	.001	.009	-2.454	-3.002	-2.058
0.07	.005	.001	.011	-2.330	-2.855	-1.952
0.08	.006	.002	.014	-2.220	-2.723	-1.857
0.09	.008	.002	.017	-2.120	-2.603	-1.770
0.1	.009	.003	.020	-2.028	-2.493	-1.690
0.15	.023	.009	.044	-1.645	-2.037	-1.357
0.2	.046	.021	.081	-1.342	-1.677	-1.091
0.25	.083	.043	.138	-1.081	-1.371	-.860
0.3	.142	.080	.224	-.847	-1.099	-.651
0.35	.234	.141	.353	-.630	-.849	-.453
0.4	.376	.241	.549	-.424	-.617	-.261
0.45	.595	.400	.852	-.225	-.398	-.069
0.5	.935	.646	1.335	-.029	-.189	.126
0.55	1.467	1.028	2.128	.167	.012	.328
0.6	2.321	1.618	3.478	.366	.209	.541
0.65	3.727	2.544	5.873	.571	.405	.769
0.7	6.141	4.044	10.341	.788	.607	1.015
0.75	10.525	6.595	19.251	1.022	.819	1.284
0.8	19.179	11.266	38.815	1.283	1.052	1.589
0.85	38.598	20.866	88.591	1.587	1.319	1.947
0.9	93.057	44.978	252.093	1.969	1.653	2.402
0.91	115.095	54.100	324.809	2.061	1.733	2.512
0.92	144.989	66.098	427.886	2.161	1.820	2.631
0.93	186.896	82.357	579.536	2.272	1.916	2.763
0.94	248.169	105.253	813.527	2.395	2.022	2.910

3) Replikasi 3

Confidence Limits							
Probability	95% Confidence Limits for konsentrasi			95% Confidence Limits for log(konsentrasi) ^a			
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	
PROBIT	.01	.000	.000	.001	-3.672	-4.467	-3.106
	.02	.001	.000	.002	-3.246	-3.955	-2.740
	.03	.001	.000	.003	-2.976	-3.630	-2.508
	.04	.002	.000	.005	-2.773	-3.386	-2.333
	.05	.002	.001	.006	-2.608	-3.188	-2.191
	.06	.003	.001	.009	-2.467	-3.019	-2.070
	.07	.005	.001	.011	-2.344	-2.871	-1.963
	.08	.006	.002	.014	-2.233	-2.739	-1.868
	.09	.007	.002	.017	-2.133	-2.619	-1.781
	.1	.009	.003	.020	-2.040	-2.508	-1.700
	.15	.022	.009	.043	-1.657	-2.052	-1.367
	.2	.044	.020	.079	-1.353	-1.691	-1.101
	.25	.081	.041	.135	-1.092	-1.384	-.870
	.3	.139	.078	.219	-.857	-1.110	-.660
	.35	.229	.138	.345	-.640	-.861	-.462
	.4	.368	.236	.538	-.434	-.628	-.269
	.45	.583	.391	.836	-.234	-.408	-.078
	.5	.916	.633	1.310	-.038	-.199	.117
	.55	1.440	1.008	2.089	.158	.003	.320
	.6	2.280	1.589	3.416	.358	.201	.534
	.65	3.665	2.502	5.773	.564	.398	.761
	.7	6.045	3.981	10.175	.781	.600	1.008
	.75	10.372	6.500	18.967	1.016	.813	1.278
	.8	18.923	11.117	38.299	1.277	1.046	1.583
	.85	38.137	20.614	87.577	1.581	1.314	1.942
	.9	92.108	44.498	249.813	1.964	1.648	2.398
	.91	113.971	53.541	322.063	2.057	1.729	2.508
	.92	143.640	65.438	424.544	2.157	1.816	2.628
	.93	185.251	81.569	575.420	2.268	1.912	2.760
	.94	246.126	104.291	808.397	2.391	2.018	2.908
	---	---	---	---	---	---	---

Lampiran 3 Uji *one way anova* IC₅₀ berbagai varain kenitu

Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
HL	3	.483000	.0000000	.0000000	.483000	.483000	.4830	.4830
BK	3	.420333	.0065064	.0037565	.404171	.436496	.4140	.4270
BB	3	.416333	.0025166	.0014530	.410082	.422585	.4140	.4190
MERAH	3	.149000	.0010000	.0005774	.146516	.151484	.1480	.1500
Total	12	.367167	.1344597	.0388152	.281735	.452598	.1480	.4830

Test of Homogeneity of Variances

IC50			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3.143	3	8	.087

ANOVA

IC50					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.199	3	.066	5.338E3	.000
Within Groups	.000	8	.000		
Total	.199	11			

Post Hoc

Multiple Comparisons

IC50 LSD						
(I) varian	(J) varian	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
HL	BK	.0626667*	.0028771	.000	.056032	.069301
	BB	.0666667*	.0028771	.000	.060032	.073301
	MERAH	.3340000*	.0028771	.000	.327365	.340635
BK	HL	-.0626667*	.0028771	.000	-.069301	-.056032
	BB	.0040000	.0028771	.202	-.002635	.010635
	MERAH	.2713333*	.0028771	.000	.264699	.277968
BB	HL	-.0666667*	.0028771	.000	-.073301	-.060032
	BK	-.0040000	.0028771	.202	-.010635	.002635
	MERAH	.2673333*	.0028771	.000	.260699	.273968
MERAH	HL	-.3340000*	.0028771	.000	-.340635	-.327365
	BK	-.2713333*	.0028771	.000	-.277968	-.264699
	BB	-.2673333*	.0028771	.000	-.273968	-.260699

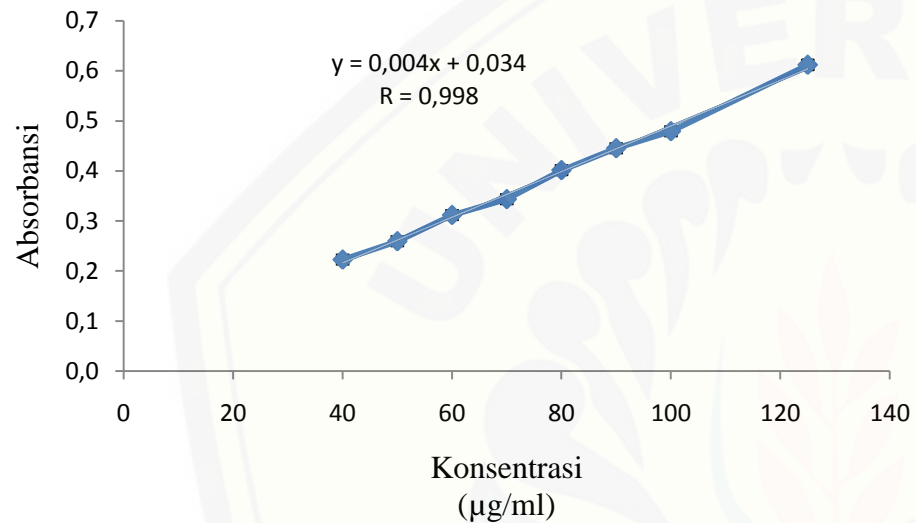
*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Lampiran 4 Penetapan kadar fenolik total

4.1 Standar asam galat

Sampel	Absorbansi			Absorbansi-blanko			Rata-rata absorbansi
	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	
125	0,657	0,665	0,645	0,613	0,621	0,601	0,612
100	0,529	0,526	0,514	0,485	0,482	0,470	0,479
90	0,490	0,490	0,487	0,446	0,446	0,443	0,445
80	0,444	0,446	0,446	0,400	0,402	0,402	0,401
70	0,387	0,389	0,386	0,343	0,345	0,342	0,343
60	0,352	0,356	0,359	0,308	0,312	0,315	0,312
50	0,304	0,305	0,301	0,260	0,261	0,257	0,259
40	0,265	0,266	0,269	0,221	0,222	0,225	0,223

4.2 Persamaan regresi standar asam galat (konsentrasi vs absorbansi)



4.3 Sampel fraksi etanol kenitu berbagai varian

Varian	Absorbansi			Absorbansi-blanko			Rata-rata absorbansi	SD	CV
	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3			
HL	0,387	0,387	0,387	0,343	0,343	0,343	0,149	0,001	0,674
BK	0,343	0,347	0,351	0,299	0,303	0,307	0,420	0,006	1,487
BB	0,346	0,343	0,344	0,302	0,299	0,300	0,483	0,000	0,000
Ungu	0,557	0,551	0,556	0,513	0,507	0,512	0,416	0,002	0,574

Lampiran 5

5.1 Perhitungan sampel inhibitor alfa-glukosidase

a. Pengenceran akarbose

$$\text{Induk: } \frac{200 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 = 20.000 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{3,75 \text{ ml}}{5 \text{ ml}} \times 20.000 = 15.000 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{5 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 20.000 = 10.000 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{3,75 \text{ ml}}{5 \text{ ml}} \times 10.000 = 7.500 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{2,5 \text{ ml}}{5 \text{ ml}} \times 10.000 = 5.000 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{1,25 \text{ ml}}{5 \text{ ml}} \times 10.000 = 2500 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

b. Pengenceran sampel fraksi kenitu berbagai varian

$$\text{Induk: } \frac{5 \text{ mg}}{5 \text{ ml}} \times 1000 = 1000 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{0,5 \text{ ml}}{5 \text{ ml}} \times 1000 = 100 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{2,5 \text{ ml}}{5 \text{ ml}} \times 100 = 50 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{2,5 \text{ ml}}{5 \text{ ml}} \times 50 = 25 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{0,5 \text{ ml}}{5 \text{ ml}} \times 100 = 10 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{0,5 \text{ ml}}{5 \text{ ml}} \times 50 = 5 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{0,5 \text{ ml}}{5 \text{ ml}} \times 10 = 1 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{0,5 \text{ ml}}{5 \text{ ml}} \times 5 = 0,5 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{0,5 \text{ ml}}{5 \text{ ml}} \times 1 = 0,1 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{0,5 \text{ ml}}{5 \text{ ml}} \times 0,5 = 0,05 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{0,5 \text{ ml}}{5 \text{ ml}} \times 0,1 = 0,01 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

5.2 Perhitungan sampel kadar fenolik total

a. Pengenceran sampel

$$\text{Induk: } \frac{20 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 = 2000 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{3,75 \text{ ml}}{5 \text{ ml}} \times 2000 = 1500 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{2 \text{ ml}}{5 \text{ ml}} \times 2000 = 800 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{1,25 \text{ ml}}{5 \text{ ml}} \times 2000 = 500 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{2,5 \text{ ml}}{5 \text{ ml}} \times 500 = 250 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{1 \text{ ml}}{5 \text{ ml}} \times 800 = 160 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{2 \text{ ml}}{5 \text{ ml}} \times 250 = 100 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

b. Perhitungan fenolik total

1) Pengenceran sampel varian MR 800 ppm

Misal absorbansi sampel = 0,513

$$y = 0,004x + 0,034$$

$$0,513 = 0,004x + 0,034$$

$$x = 119,75 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{119,75 \text{ } \mu\text{g}}{1000 \text{ } \mu\text{l}} = \frac{x}{30 \text{ } \mu\text{l}}$$

$$x = 3,5925 \text{ } \mu\text{g}/30 \mu\text{l}$$

$$\frac{3,5925 \text{ } \mu\text{g}}{30 \text{ } \mu\text{l}} = \frac{x}{5000 \text{ } \mu\text{l}}$$

$$x = 598,75 \text{ } \mu\text{g}/5 \text{ ml}$$

$$\frac{598,75 \text{ } \mu\text{g}}{2 \text{ ml}} = \frac{x}{10 \text{ ml}}$$

$$x = 2993,75 \text{ } \mu\text{g}/10 \text{ ml}$$

$$= 2,99375 \text{ mg}/20 \text{ mg ekstrak}$$

$$= 0,150 \text{ mg}$$

2) Pengenceran sampel varian HL, BK, dan BB 160 ppm

Misal absorbansi sampel = 0,229

$$y = 0,004x + 0,034$$

$$0,299 = 0,004x + 0,034$$

$$x = 66,25 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{66,25 \text{ } \mu\text{g}}{1000 \text{ } \mu\text{l}} = \frac{x}{30 \text{ } \mu\text{l}}$$

$$x = 1,9875 \text{ } \mu\text{g}/30 \mu\text{l}$$

$$\frac{1,9875 \text{ } \mu\text{g}}{30 \text{ } \mu\text{l}} = \frac{x}{5000 \text{ } \mu\text{l}}$$

$$x = 331,25 \text{ } \mu\text{g}/5 \text{ ml}$$

$$\frac{331,25 \text{ } \mu\text{g}}{1 \text{ ml}} = \frac{x}{5 \text{ ml}}$$

$$x = 1656,25 \text{ } \mu\text{g}/5 \text{ ml}$$

$$\frac{1656,25 \text{ } \mu\text{g}}{2 \text{ ml}} = \frac{x}{10 \text{ ml}}$$

$$x = 8281,25 \text{ } \mu\text{g}/10 \text{ ml}$$

$$= 8,28125 \text{ mg}/20 \text{ mg ekstrak}$$

$$= 0,414$$

Lampiran 6 Uji *one way annova* kadar fenolik total

Descriptives

IC50								
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
HL	3	.280000	.0026458	.0015275	.273428	.286572	.2770	.2820
BK	3	.285000	.0050000	.0028868	.272579	.297421	.2800	.2900
BB	3	.287000	.0045826	.0026458	.275616	.298384	.2830	.2920
MR	3	.932000	.0147309	.0085049	.895406	.968594	.9160	.9450
Total	12	.446000	.2931649	.0846294	.259732	.632268	.2770	.9450

Test of Homogeneity of Variances

IC50			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3.104	3	8	.089

ANOVA

IC50					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.945	3	.315	4.666E3	.000
Within Groups	.001	8	.000		
Total	.945	11			

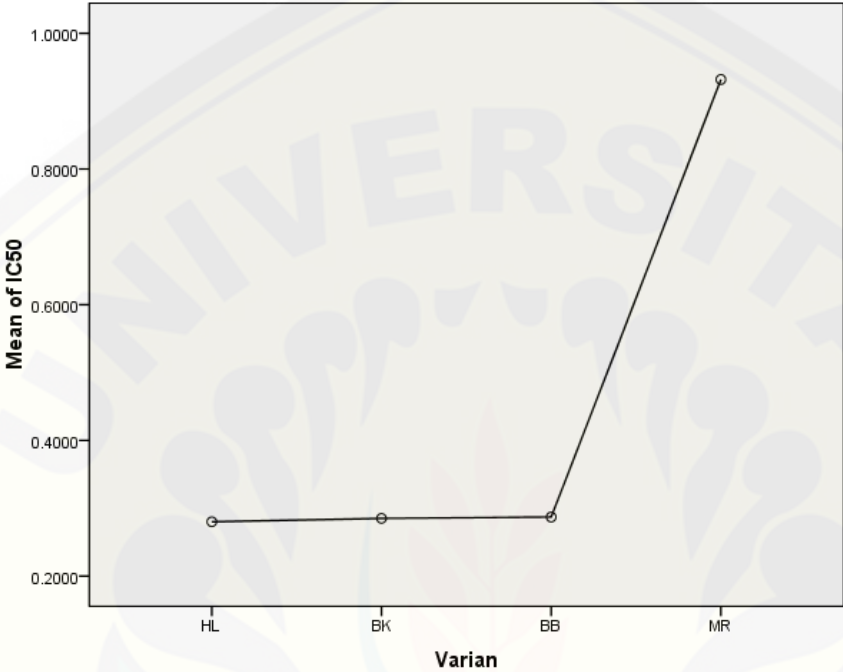
Post Hoc

Multiple Comparisons

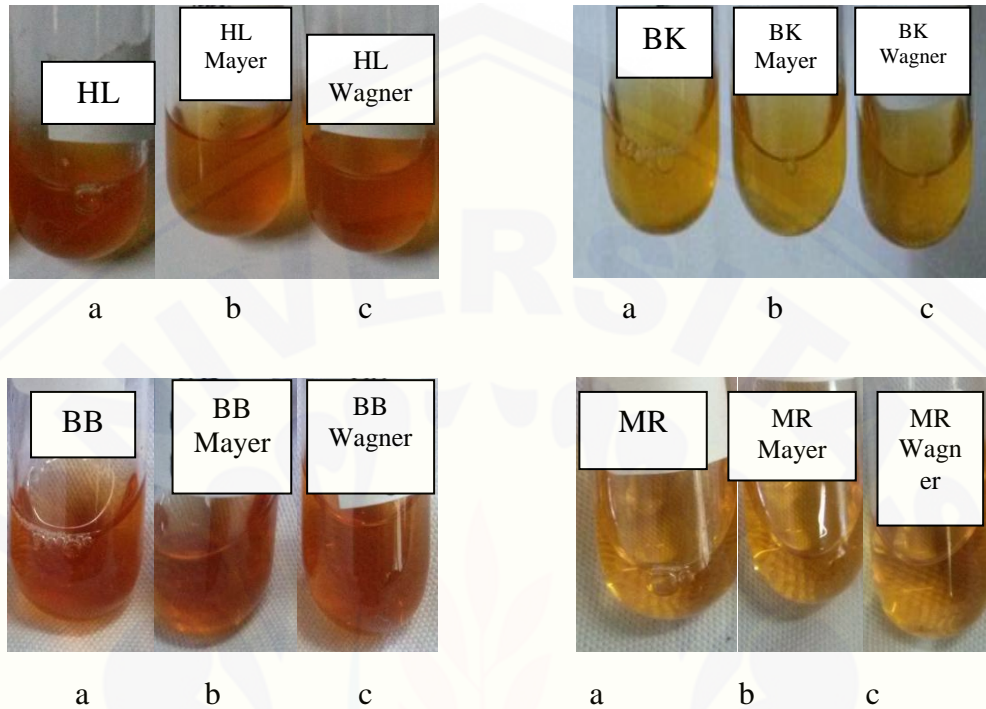
IC50 LSD						
(I) Variance	(J) Variance	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
HL	BK	-.0050000	.0067082	.477	-.020469	.010469
	BB	-.0070000	.0067082	.327	-.022469	.008469
	MR	-.6520000*	.0067082	.000	-.667469	-.636531
BK	HL	.0050000	.0067082	.477	-.010469	.020469
	BB	-.0020000	.0067082	.773	-.017469	.013469
	MR	-.6470000*	.0067082	.000	-.662469	-.631531
BB	HL	.0070000	.0067082	.327	-.008469	.022469
	BK	.0020000	.0067082	.773	-.013469	.017469
	MR	-.6450000*	.0067082	.000	-.660469	-.629531
MR	HL	.6520000*	.0067082	.000	.636531	.667469
	BK	.6470000*	.0067082	.000	.631531	.662469
	BB	.6450000*	.0067082	.000	.629531	.660469

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

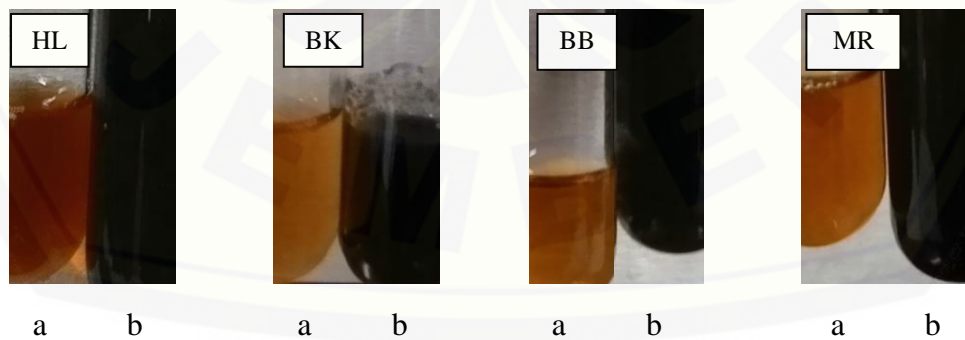
Means



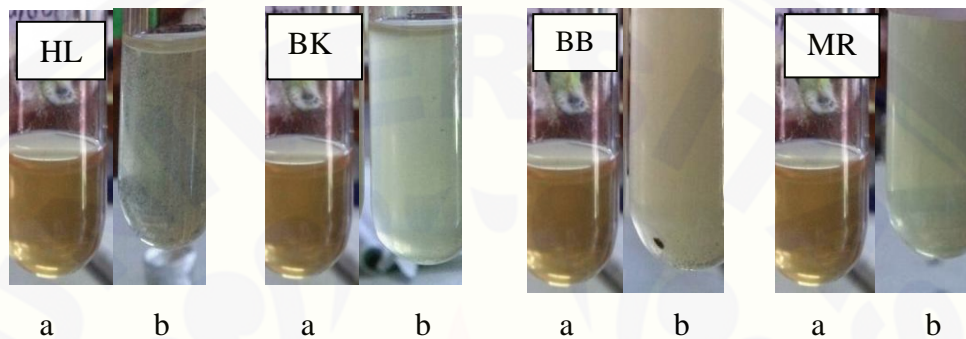
Lampiran 7 Hasil identifikasi golongan senyawa kimia



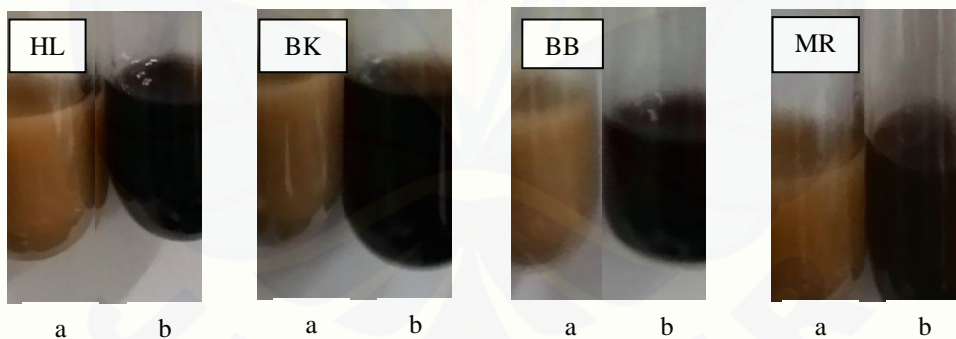
Hasil uji identifikasi golongan senyawa alkaloid (a) kontrol, tidak terjadi reaksi (b) setelah penambahan pereaksi Mayer, tidak terbentuk endapan dan (c) setelah penambahan pereaksi Wagner, tidak terbentuk endapan. Hasil menunjukkan tidak ada perubahan reaksi sehingga semua varian tidak mengandung alkaloid.



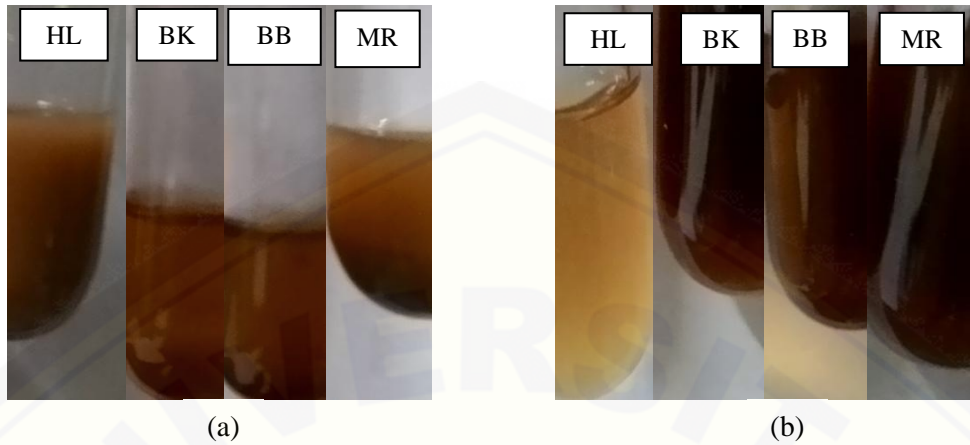
Hasil uji identifikasi golongan senyawa polifenol (a) kontrol, tidak terjadi reaksi dan (b) setelah penambahan FeCl_3 , terjadi perubahan warna kehitaman yang menunjukkan positif mengandung polifenol. Semua varian positif mengandung polifenol.



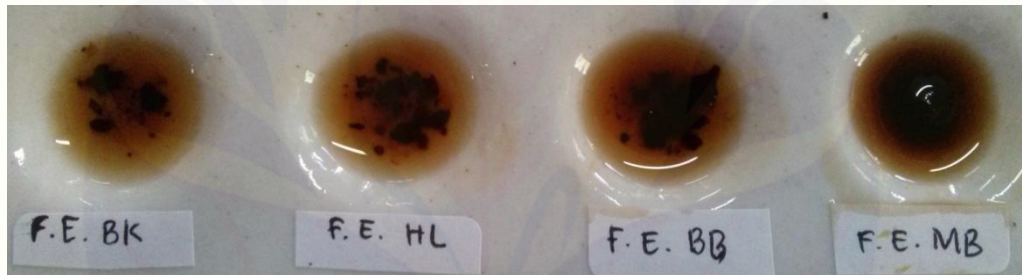
Hasil uji identifikasi golongan senyawa tanin (a) kontrol dan (b) setelah ditambahkan larutan gelatin dan NaCl 10%, terdapat endapan putih yang menunjukkan positif mengandung tanin. Semua varian kenitu positif mengandung tanin.



Hasil uji identifikasi golongan senyawa leukoantosianin (a) kontrol, tidak ada reaksi dan (b) uji Bate-Smith dan Metcalf, terjadi perubahan warna merah terang yang menunjukkan adanya leukoantosianin. Semua varian mengandung leukoantosianin.



Hasil uji identifikasi golongan senyawa flavon, flavonol, dan flavonon (a) kontrol, tidak terjadi reaksi dan (b) uji Wilstater, terjadi perubahan warna merah jingga (flavon); merah pucat (flavonol); dan merah tua (flavonon). Hasil menunjukkan keempat varian memiliki kandungan yang berbeda-beda.



Hasil uji identifikasi golongan senyawa triterpenoid terjadi perubahan warna menjadi merah. Hasil menunjukkan bahwa keempat varian mengandung senyawa triterpenoid.

Lampiran 8 Hasil *one way anova* nilai IC₅₀ pada ekstrak etanol 70%, fraksi etil asetat, dan fraksi etanol daun kenitu berbagai varian.

1. HL

Descriptives

IC50HL	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Elstrak etanol 70%	3	9.64133	.029569	.017072	9.56788	9.71479	9.613	9.672
fraksi etil asetat	3	.32700	.002000	.001155	.32203	.33197	.325	.329
fraksi etanol	3	.28000	.002646	.001528	.27343	.28657	.277	.282
Total	9	3.41611	4.668985	1.556328	-.17279	7.00501	277	9.672

Test of Homogeneity of Variances

IC50HL	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
	4.240	2	6	.071

ANOVA

IC50HL	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	174.394	2	87.197	2.955E5	.000
Within Groups	.002	6	.000		
Total	174.395	8			

Post Hoc

Multiple Comparisons

IC50HL LSD		Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
(I) sampelHL	(J) sampelHL				Lower Bound	Upper Bound
Elstrak etanol 70%	fraksi etil asetat	9.314333 [*]	.014026	.000	9.28001	9.34865
	fraksi etanol	9.361333 [*]	.014026	.000	9.32701	9.39565
fraksi etil asetat	Elstrak etanol 70%	-9.314333 [*]	.014026	.000	-9.34865	-9.28001
	fraksi etanol	.047000 [*]	.014026	.015	.01268	.08132
fraksi etanol	Elstrak etanol 70%	-9.361333 [*]	.014026	.000	-9.39565	-9.32701
	fraksi etil asetat	-.047000 [*]	.014026	.015	-.08132	-.01268

* The mean difference is significant at the 0.05 level

2. BK

Descriptives

IC50BK									
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum	
					Lower Bound	Upper Bound			
Ekstrak etanol 70%	3	5.57400	.041328	.023861	5.47134	5.67666	5.540	5.620	
Fraksi etil asetat	3	.37233	.002517	.001453	.36608	.37858	.370	.375	
Fraksi etanol	3	.28500	.005000	.002887	.27258	.29742	.280	.290	
Total	9	2.07711	2.623022	.874341	.06088	4.09334	.280	5.620	

Test of Homogeneity of Variances

IC50BK				
Levene Statistic	df1	df2	Sig.	
7.733	2	6	.022	

ANOVA

IC50BK					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	55.038	2	27.519	4.747E4	.000
Within Groups	.003	6	.001		
Total	55.042	8			

Post Hoc

Multiple Comparisons

IC50BK LSD						
(I) sampelBK	(J) sampelBK	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Ekstrak etanol 70%	Fraksi etil asetat	5.201667*	.019660	.000	5.15356	5.24977
	Fraksi etanol	5.289000*	.019660	.000	5.24089	5.33711
Fraksi etil asetat	Ekstrak etanol 70%	-5.201667*	.019660	.000	-5.24977	-5.15356
	Fraksi etanol	.087333*	.019660	.004	.03923	.13544
Fraksi etanol	Ekstrak etanol 70%	-5.289000*	.019660	.000	-5.33711	-5.24089
	Fraksi etil asetat	-.087333*	.019660	.004	-.13544	-.03923

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

3. BB

Descriptives

IC50BB									
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum	
					Lower Bound	Upper Bound			
Ekstrak etanol 70%	3	4.92067	.016623	.009597	4.87937	4.96196	4.903	4.936	
Fraksi etil asetat	3	.35233	.001155	.000667	.34946	.35520	.351	.353	
Fraksi etanol	3	.28700	.004583	.002646	.27562	.29838	.283	.292	
Total	9	1.85333	2.300690	.766897	.08487	3.62180	.283	4.936	

Test of Homogeneity of Variances

IC50BB				
Levene Statistic	df1	df2	Sig.	
4.039	2	6	.077	

ANOVA

IC50BB					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	42.345	2	21.172	2.127E5	.000
Within Groups	.001	6	.000		
Total	42.345	8			

Post Hoc

Multiple Comparisons

IC50BB
LSD

(I) sampelBB	(J) sampelBB	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Ekstrak etanol 70%	Fraksi etil asetat	4.568333 [*]	.008147	.000	4.54840	4.58827
	Fraksi etanol	4.633667 [*]	.008147	.000	4.61373	4.65360
Fraksi etil asetat	Ekstrak etanol 70%	-4.568333 [*]	.008147	.000	-4.58827	-4.54840
	Fraksi etanol	.065333 [*]	.008147	.000	.04540	.08527
Fraksi etanol	Ekstrak etanol 70%	-4.633667 [*]	.008147	.000	-4.65360	-4.61373
	Fraksi etil asetat	-.065333 [*]	.008147	.000	-.08527	-.04540

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

4. MR

Descriptives

IC50MR

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Ekstrak etanol 70%	3	1.1664E1	.082954	.047893	11.45860	11.87074	11.594	11.756
Fraksi etil asetat	3	.18533	.002082	.001202	.18016	.19050	.183	.187
Fraksi etanol	3	.93200	.014731	.008505	.89541	.96859	.916	.945
Total	9	4.26067	5.562564	1.854188	-.01510	8.53643	.183	11.756

Test of Homogeneity of Variances

IC50MR

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
6.721	2	6	.029

ANOVA

IC50MR

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	247.523	2	123.761	5.227E4	.000
Within Groups	.014	6	.002		
Total	247.537	8			

Post Hoc

Multiple Comparisons

IC50MR
LSD

(I) sampelMR	(J) sampelMR	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Ekstrak etanol 70%	Fraksi etil asetat	11.479333 [*]	.039729	.000	11.38212	11.57655
	Fraksi etanol	10.732667 [*]	.039729	.000	10.63545	10.82988
Fraksi etil asetat	Ekstrak etanol 70%	-11.479333 [*]	.039729	.000	-11.57655	-11.38212
	Fraksi etanol	-.746667 [*]	.039729	.000	-.84388	-.64945
Fraksi etanol	Ekstrak etanol 70%	-10.732667 [*]	.039729	.000	-10.82988	-10.63545
	Fraksi etil asetat	.746667 [*]	.039729	.000	.64945	.84388

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

Lampiran 9 Determinasi daun kenitu



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

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

**SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI**

No. 0644/IPH.06/HM/IV/2015

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

Siti Zulaikhah, NIM : 102210101018

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

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

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

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

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

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



Deden Mudiana, S.Hut, M.Si