



**UJI AKTIVITAS INHIBISI ALFA-GLUKOSIDASE FRAKSI ETIL ASETAT
BEBERAPA VARIAN DAUN KENITU (*Chrysophyllum cainito* L.) DAERAH
JEMBER SEBAGAI ANTIDIABETES**

SKRIPSI

Oleh:

Liyas Atika Putri

NIM 112210101003

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS JEMBER**

2015



**UJI AKTIVITAS INHIBISI ALFA-GLUKOSIDASE FRAKSI ETIL ASETAT
BEBERAPA VARIAN DAUN KENITU (*Chrysophyllum cainito* L.) DAERAH
JEMBER SEBAGAI ANTIDIABETES**

SKRIPSI

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

Oleh:

Liyas Atika Putri

NIM 112210101003

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS JEMBER**

2015

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Ibunda Lilik Hariyati serta ayahanda M. Yasin atas kasih sayang, bimbingan dan do'a yang selalu ada dan menemani ananda
2. Bapak dan ibu guru yang telah menyalurkan ilmunya mulai dari RA Miftahul 'Ulum, MI Miftahul 'Ulum, MTsN Dawar, SMAN 1 Puri Mojokerto, dan Fakultas Farmasi Universitas Jember
3. Almamater tercinta Fakultas Farmasi Universitas Jember.

MOTTO

“Barang siapa keluar untuk mencari Ilmu maka dia berada di jalan Allah “.

(HR. Tirmidzi)

"Hai orang-orang yang beriman, apabila dikatakan kepadamu: "Berlapang-lapanglah dalam majelis", maka lapangkanlah, niscaya Allah akan memberi kelapangan untukmu. Dan apabila dikatakan: "Berdirilah kamu, maka berdirilah, niscaya Allah akan meninggikan orang-orang yang beriman di antaramu dan orang-orang yang diberi ilmu pengetahuan beberapa derajat. Dan Allah Maha Mengetahui apa yang kamu kerjakan." (QS. Al-mujadalah: 11)

“Maka sesungguhnya bersama kesulitan ada kemudahan. Sesungguhnya bersama kesulitan ada kemudahan. Maka apabila engkau telah selesai (dari sesuatu urusan), tetaplah bekerja keras (untuk urusan yang lain). Dan hanya kepada Tuhanmulah engkau berharap.” (QS. Al-Insyirah: 6-8)

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Liyas Atika Putri

NIM : 112210101003

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul: “Uji Aktivitas Inhibisi Alfa-Glukosidase Fraksi Etil Asetat Beberapa Varian Daun Kenitu (*Chrysophyllum cainito* L.) Daerah Jember sebagai Antidiabetes adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali jika dalam pengutipan substansi disebutkan sumbernya, dan 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 ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa ada tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata dikemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 12 Oktober 2015

Yang menyatakan,

Liyas Atika Putri

NIM : 112210101003

SKRIPSI

Uji Aktivitas Inhibisi Alfa-Glukosidase Fraksi Etil Asetat Beberapa Varian Daun Kenitu (*Chrysophyllum cainito* L.) Daerah Jember sebagai Antidiabetes

Oleh:

Liyas Atika Putri
NIM 112210101003

Pembimbing

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

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

PENGESAHAN

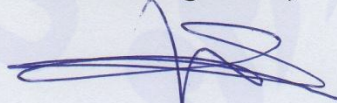
Skripsi berjudul “Uji Aktivitas Inhibisi Alfa-glukosidase Fraksi Etil Asetat Beberapa Varian Daun Kenitu (*Chrysophyllum cainito* L.) Daerah Jember sebagai Antidiabetes” telah diuji dan disahkan pada:

Hari, tanggal : Senin, 12 Oktober 2015

Tempat : Fakultas Farmasi Universitas Jember

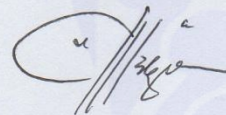
Tim Pembimbing

Pembimbing Utama,



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

Pembimbing Anggota,



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

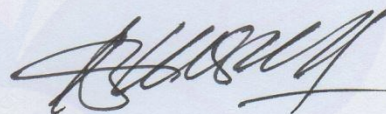
Tim Penguji

Penguji I,



Evi Umayah Ulfa S.Si., M.Si., Apt.
NIP. 197807282005012001

Penguji II,



Prof. Drs. Bambang Kuswandi M.Sc., Ph.D
NIP. 196902011994031002

Mengesahkan

Dekan,



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

RINGKASAN

Uji Aktivitas Inhibisi Alfa-Glukosidase Fraksi Etil Asetat Beberapa Varian Daun Kenitu (*Chrysophyllum cainito* L.) Daerah Jember sebagai Antidiabetes; Liyas Atika Putri; 112210101003; 2015; 71 halaman; Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Diabetes Mellitus (DM) merupakan suatu kelainan kadar glukosa dalam darah yang masuk dalam sepuluh besar penyakit di Indonesia dan jumlah penderitanya terus meningkat seiring berjalannya waktu. Hal ini menyebabkan perlunya pengembangan obat dalam mengatasi DM. Pada penelitian ini penulis menguji aktivitas daun kenitu (*Chrysophyllum cainito* L.) yang berpotensi sebagai antidiabetes dengan mekanisme inhibisi alfa-glukosidase karena adanya kandungan senyawa polifenol, flavonoid, tanin, steroid, dan saponin yang memiliki aktivitas inhibisi alfa-glukosidase. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui kandungan senyawa kimia, kadar fenolik total, dan aktivitas inhibisi alfa-glukosidase dari fraksi etil asetat daun kenitu varian hijau lonjong (HL), hijau bulat kecil (HBK), hijau bulat besar (HBB), dan merah (M) yang diambil dari Jember.

Penelitian ini merupakan penelitian *eksperimental laboratories* yang dilakukan di laboratorium Fitokimia bagian Biologi Farmasi. Masing-masing varian daun kenitu diekstraksi dengan etanol 70%, difraksinasi dengan n-heksana dan etil asetat, kemudian dipekatkan hingga diperoleh fraksi etil asetat kental. Skrining fitokimia dilakukan berdasarkan *tube test*. Uji aktivitas inhibisi alfa-glukosidase dan penetapan kadar fenolik total dilakukan berdasarkan prinsip spektrofotometri menggunakan *microplate reader*. Nilai IC_{50} diperoleh menggunakan analisis probit. Analisis data dilakukan menggunakan uji *one-way* ANOVA dan LSD.

Berdasarkan skrining fitokimia yang dilakukan, fraksi etil asetat daun kenitu varian M, HL, HBB, dan HBK mengandung senyawa fenolik, flavonoid, steroid, tanin dan saponin. Kadar fenolik total fraksi etil asetat daun kenitu varian M, HL,

HBB, dan HBK berturut-turut adalah $0,142 \pm 0,001$; $0,225$; $0,199 \pm 0,001$; dan $0,116 \pm 0,001$ mg GAE/g fraksi. Standar pembandingan pada penetapan kadar fenolik total adalah asam galat, oleh karena itu nilai kadar fenolik total setara dengan jumlah asam galat atau disebut dengan GAE (*gallic acid equivalent*). Nilai IC_{50} fraksi etil asetat daun kenitu varian M, HL, HBB, dan HBK berturut-turut yaitu $0,185 \pm 0,002$; $0,327 \pm 0,002$; $0,352 \pm 0,001$; dan $0,372 \pm 0,002$ $\mu\text{g/ml}$.

Berdasarkan penjelasan tersebut diketahui bahwa semua varian daun kenitu memiliki aktivitas inhibisi alfa-glukosidase yang berasal dari *Saccharomyces cerevisiae*. Senyawa yang terkandung dalam fraksi etil asetat daun kenitu diduga memberikan aktivitas inhibisi alfa-glukosidase. Namun, masih perlu pembuktian lebih lanjut dengan mengisolasi senyawa kimia dalam fraksi etil asetat daun kenitu sehingga dapat diketahui aktivitas inhibisi alfa-glukosidase dari masing-masing senyawa isolat.

PRAKATA

Puji syukur ke hadirat ALLAH SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Uji Inhibisi Alfa-Glukosidase Fraksi Etil Asetat Beberapa Varian Daun Kenitu (*Chrysophyllum cainito* L.) Daerah Jember sebagai Antidiabetes”. Sholawat dan salam semoga tetap tercurahkan kepada Nabi Muhammad SAW beserta keluarga dan sahabatnya. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) Fakultas Farmasi Universitas Jember.

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

1. Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember, Ibu Lestyo Wulandari S.Si.,M.Farm., Apt.;
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 atas waktu, pikiran dan perhatiannya dalam membimbing dan memberi petunjuk sehingga terselesaikannya penulisan skripsi ini;
3. Bapak Moch. Amrun Hidayat, yang telah meluangkan waktu, materi, pikiran, tenaga, dan perhatiannya dalam membantu dan membimbing penulis hingga terselesaikannya penulisan skripsi ini;
4. Ibu Evi Umayah Ulfa S.Si.,M.Si.,Apt., sebagai dosen penguji yang banyak memberikan kritik, saran dan masukan yang membangun dalam penulisan skripsi ini;
5. Prof. Drs. Bambang Kuswandi M.Sc., Ph.D selaku Dosen Pembimbing Akademik dan dosen penguji yang telah mengarahkan dan membimbing penulis selama menempuh studi serta dalam penulisan skripsi ini;
6. Bapak dan Ibu dosen Fakultas Farmasi Universitas Jember yang telah menyalurkan ilmunya selama penulis menempuh masa kuliah;

7. Pimpinan dan para karyawan Fakultas Farmasi Universitas Jember atas bantuannya selama penulis belajar di Fakultas Farmasi Universitas Jember;
8. Kedua orang tua penulis, Ibunda Lilik Hariyati dan ayahanda M. Yasin atas kasih sayang, perhatian, dukungan, motivasi serta doa yang terus mengalir tiada henti;
9. Bapak dan ibu guru yang telah menyalurkan ilmunya mulai dari RA Miftahul ‘Ulum, MI Miftahul ‘Ulum, MTsN Dawar, SMAN 1 Puri Mojokerto, dan Fakultas Farmasi Universitas Jember;
10. Sahabat kenitu Liza, Iik, dan Zuhro atas kerjasama, kekompakan, semangat selama penelitian dan penulisan skripsi ini;
11. Sahabat *trouble maker* Nurul, Vita, Liza, Dyah, Ani, Dhitya, Dewi, dan Ely yang selalu kompak memberi semangat dan menghibur penulis dari awal masuk fakultas farmasi;
12. Sahabat biologi farmasi Fitria, Risti, Estika, Elisa atas kebersamaan, bantuan, dan semangatnya dalam menyelesaikan penelitian ini;
13. Sahabat kost Astika dan Binta yang telah memberi semangat dan masukan selama penulisan skripsi ini
14. Sahabat slamet *lovers*, Eva, mbak Icha, Siska, Jely, Indah, Mega, Dessy atas kebersamaan dan kekompakan selama ini;
15. Teman seperjuangan ASMEF 2011;
16. Bu Widi dan Mbak Anggra selaku teknisi laboratorium Biologi farmasi atas bantuannya;
17. Serta Semua pihak yang terlibat baik secara langsung maupun tidak langsung memberikan bantuan dan dukungan dalam penyelesaian 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, 12 Oktober 2015

Penulis

DAFTAR ISI

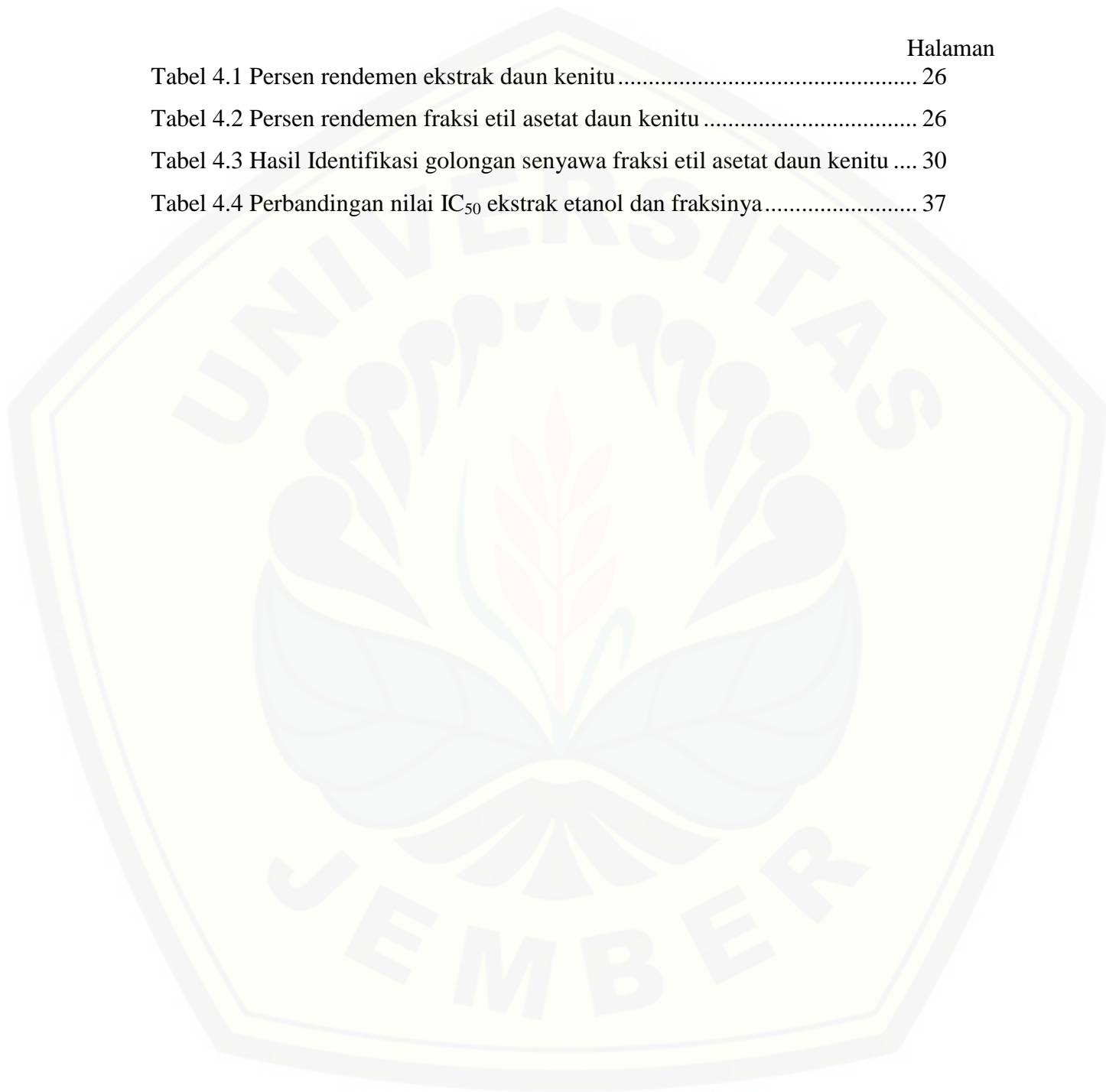
	Halaman
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
HALAMAN MOTTO	iv
HALAMAN PERNYATAAN	v
HALAMAN PEMBIMBINGAN	vi
HALAMAN PENGESAHAN	vii
RINGKASAN	viii
PRAKATA	x
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
DAFTAR SINGKATAN	xviii
BAB 1. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan	2
1.4 Manfaat	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Kenitu	
2.1.1 Definisi dan Klasifikasi.....	4
2.1.2 Morfologi	4
2.1.3 Manfaat	5
2.1.4 Kandungan Kimia	7
2.1.5 Ekstraksi dan Fraksinasi Daun Kenitu.....	8

2.2 Diabetes	
2.2.1 Definisi Diabetes Mellitus	8
2.2.2 Klasifikasi Diabetes Mellitus.....	9
2.2.3 Diagnosis.....	10
2.2.4 Penatalaksanaan	11
2.3 Enzim Alfa-Glukosidase	
2.3.1 Peran Enzim Alfa-Glukosidase.....	12
2.3.2 Tanaman yang Memiliki Aktivitas Inhibisi Alfa-Glukosidase	13
2.3.3 Prinsip Uji Inhibisi Alfa-Glukosidase.....	14
BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN	
3.1 Jenis Penelitian	16
3.2 Lokasi dan Waktu Penelitian	16
3.3 Variabel Penelitian	16
3.4 Definisi Operasional	16
3.5 Bahan dan Alat Penelitian	
3.5.1 Bahan-bahan Penelitian	17
3.5.2 Alat-alat Penelitian.....	17
3.6 Cara Kerja	
3.6.1 Penyiapan Simplisia.....	18
3.6.2 Ekstraksi.....	18
3.6.3 Fraksinasi	18
3.6.4 Identifikasi Golongan Senyawa Kimia	19
3.6.5 Penetapan Kadar Fenolik Total.....	20
3.6.6 Uji Aktivitas Inhibisi Alfa-Glukosidase	20
3.7 Analisis Data	23
3.8 Skema Penelitian	24
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1 Hasil Ekstraksi	26

4.2 Hasil Fraksinasi	26
4.3 Hasil Identifikasi Golongan Senyawa Kimia	27
4.4 Hasil Uji Kadar Fenolik Total	30
4.5 Hasil Uji Antivitas Inhibitor Enzim Alfa-Glukosidase	31
4.6 Pembahasan	33
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN	
5.1 Kesimpulan.....	38
5.2 Saran	38
DAFTAR PUSTAKA	39
LAMPIRAN.....	43

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 4.1 Persen rendemen ekstrak daun kenitu	26
Tabel 4.2 Persen rendemen fraksi etil asetat daun kenitu	26
Tabel 4.3 Hasil Identifikasi golongan senyawa fraksi etil asetat daun kenitu	30
Tabel 4.4 Perbandingan nilai IC ₅₀ ekstrak etanol dan fraksinya	37



DAFTAR GAMBAR

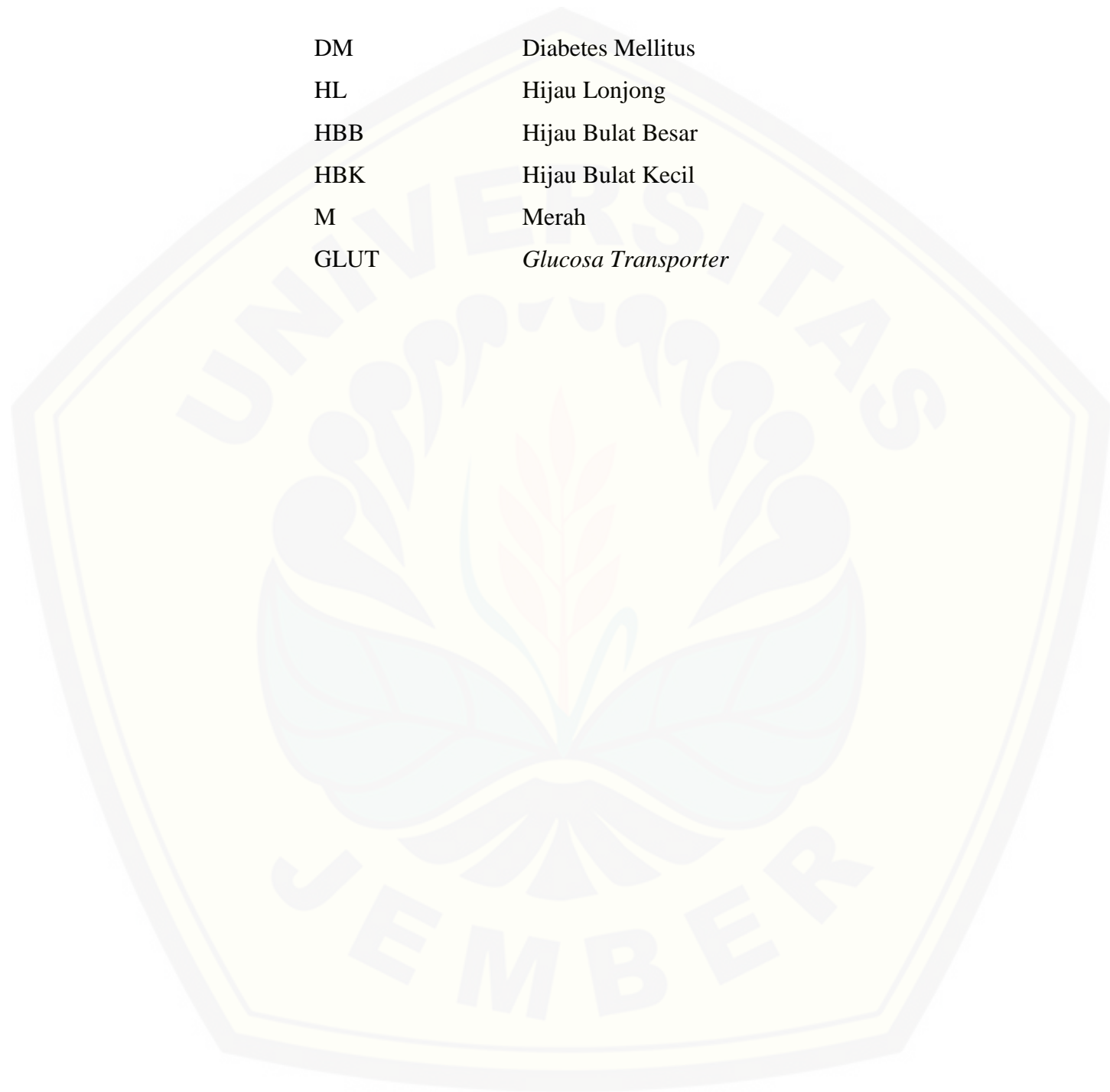
	Halaman
Gambar 2.1 Morfologi buah kenitu.....	6
Gambar 2.2 Morfologi daun kenitu.....	7
Gambar 2.3 Skema degradasi polisakarida dan oligosakarida oleh enzim alfa-glukosidase.....	13
Gambar 2.4 Reaksi hidrolisis PNPG oleh alfa-glukosidase.....	15
Gambar 3.1 Prosedur uji inhibitor enzim alfa-glukosidase.....	22
Gambar 3.2 Skema uji aktivitas inhibitor enzim alfa-glukosidase	24
Gambar 3.3 Skema fraksinasi	25
Gambar 4.1 Hasil identifikasi senyawa terpenoid dan steroid.....	27
Gambar 4.2 Hasil identifikasi senyawa saponin	27
Gambar 4.3 Hasil identifikasi senyawa polifenol	28
Gambar 4.4 Hasil identifikasi senyawa tanin.....	28
Gambar 4.5 Hasil identifikasi senyawa flavonoid	29
Gambar 4.6 Hasil identifikasi senyawa alkaloid.....	29
Gambar 4.7 Kadar fenolik total fraksi etil asetat daun kenitu.....	31
Gambar 4.8 Profil konsentrasi vs inhibisi (%) fraksi etil asetat daun kenitu menggunakan regresi linier.....	32
Gambar 4.9 Nilai IC ₅₀ fraksi etil asetat daun kenitu	32
Gambar 4.10 Model ikatan senyawa 4,7-Dihydroxy-3-methoxyflavone pada sisi aktif enzim alfa-glukosidase	34
Gambar 4.11 Model ikatan senyawa 3,4,7,8-tetrahydroxyflavanone pada sisi aktif enzim alfa-glukosidase	35
Gambar 4.12 Model ikatan senyawa 2-(3, 4-dihydroxyphenyl)-5,7-dihydroxy-4H-chromen-4-one pada sisi aktif enzim alfa-glukosidase	35
Gambar 4.13 Model ikatan diosgenin pada sisi aktif enzim alfa-glukosidase....	36

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1	
1.1 Hasil uji aktivitas inhibisi enzim alfa-glukosidase	43
1.2 Profil konsentrasi vs inhibisi sampel	45
Lampiran 2	
2.1 Nilai IC_{50} fraksi etil asetat daun kenitu	49
2.2 Uji normalitas analisis probit	49
2.3 Analisis probit	55
Lampiran 3. Uji <i>one way annova</i> IC_{50} fraksi etil asetat daun kenitu	62
Lampiran 4. Penetapan kadar fenolik total	
4.1 Standar Asam galat	64
4.2 Persamaan regresi asam galat	64
4.3 Sampel fraksi etil asetat daun kenitu.....	64
4.4 Perhitungan pengenceran uji inhibisi alfa-glukosidase.....	65
Lampiran 5.Perhitungan kadar fenolik total.....	66
Lampiran 6 Uji <i>one way annova</i> kadar fenolik total.....	69
Lampiran 7 Determinasi daun kenitu	71

DAFTAR SINGKATAN

DM	Diabetes Mellitus
HL	Hijau Lonjong
HBB	Hijau Bulat Besar
HBK	Hijau Bulat Kecil
M	Merah
GLUT	<i>Glucosa Transporter</i>



BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Diabetes Mellitus (DM) merupakan suatu kelainan metabolisme yang ditandai dengan meningkatnya kadar glukosa darah atau hiperglikemia. DM dapat menyebabkan gangguan metabolisme lemak dan protein (Departemen Farmakologi dan Terapi FK UI, 2007). Selain itu, DM juga dapat meningkatkan risiko terjadinya kerusakan mikrovaskular (retinopati, nefropati, dan neuropati) dan makrovaskular (penyakit jantung, stroke, dan kerusakan pembuluh darah) (WHO, 2006).

Menurut Badan Kesehatan Dunia (WHO), terdapat 171 juta penderita DM di dunia pada tahun 2000. Jumlah ini diperkirakan akan meningkat menjadi 366 juta pada tahun 2030 (WHO, 2006). Menurut Riset Kesehatan Dasar tahun 2013, prevalensi DM pada tahun 2007 sebesar 1,1% meningkat menjadi 2,1% pada tahun 2013 (Balitkes, 2013). Jumlah penderita DM terus meningkat, oleh karena itu perlu adanya pengembangan terapi DM.

Salah satu terapi DM yang banyak digunakan adalah dengan mengonsumsi obat antidiabetes. Namun, beberapa obat DM yang beredar saat ini memiliki efek samping seperti diare, perut terasa penuh dan tidak nyaman (Lebovitz, 1997). Oleh karena itu perlu pengembangan obat lebih lanjut untuk memperoleh obat yang lebih aman. Salah satu caranya adalah dengan memanfaatkan bahan alam.

Dalam hal ini peneliti memilih daun Kenitu (*Chrysophyllum cainito*) untuk diuji aktivitas inhibisinya terhadap enzim alfa-glukosidase karena menurut Koffi *et al* (2009), dekok daun kenitu dengan dosis >10 g/l dapat menurunkan kadar glukosa darah kelinci diabetes. Dekok daun kenitu tersebut mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, fenol, sterol, dan triterpen (Koffi, 2008 dalam Koffi *et al.*, 2009). Senyawa polifenol menurut Lee *et al* (2014), flavonoid menurut Hong *et al* (2013), saponin menurut Duo *et al* (2013), steroid menurut Kumar *et al* (2014), triterpenoid menurut

Dine *et al* (2014), tanin menurut Thinkratok *et al* (2014) memiliki aktivitas inhibisi alfa-glukosidase.

Kenitu sendiri merupakan tumbuhan yang banyak tumbuh di pulau Jawa bagian hilir dan pegunungan rendah. Terdapat beberapa varian kenitu di daerah Jember berdasarkan bentuk buahnya yaitu kenitu dengan buah berwarna hijau (berbentuk bulat besar, bulat kecil dan lonjong) dan kenitu dengan buah berwarna merah (berbentuk bulat) (Hidayat *et al.*, 2007).

Berdasarkan hal tersebut, peneliti melakukan uji aktivitas inhibisi alfa-glukosidase dari beberapa varian daun kenitu yang berasal dari daerah Jember yakni varian hijau bulat besar (HBB), hijau bulat kecil (HBK), merah (M) dan hijau lonjong (HL) dan menentukan kandungan senyawa kimia dalam daun kenitu tersebut.

1.2 Rumusan Masalah

Adapun rumusan masalah pada penelitian ini adalah:

- a. Golongan senyawa apa yang terkandung dalam fraksi etil asetat daun kenitu varian HBB, HBK, M, dan HL?
- b. Berapakah kadar fenolik total fraksi etil asetat daun kenitu varian HBB, HBK, M, dan HL?
- c. Apakah fraksi etil asetat daun kenitu varian HBB, HBK, M, dan HL yang diambil dari daerah Jember memiliki aktivitas inhibisi alfa-glukosidase?

1.3 Tujuan

Tujuan penelitian ini adalah sebagai berikut:

- a. Mengetahui golongan senyawa yang terkandung dalam fraksi etil asetat daun kenitu varian HBB, HBK, M, dan HL.
- b. Mengetahui kadar fenolik total fraksi etil asetat daun kenitu varian HBB, HBK, M, dan HL.

- c. Mengetahui apakah fraksi etil asetat daun kenitu varian HBB, HBK, M, dan HL yang diambil dari daerah Jember memiliki aktivitas inhibisi alfa-glukosidase.

1.4 Manfaat

Manfaat yang dapat diperoleh dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

- a. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi dalam pengembangan obat antidiabetes dengan mekanisme inhibisi alfa-glukosidase yang berasal dari daun kenitu.
- b. Penelitian ini diharapkan dapat meningkatkan nilai ekonomi kenitu yang banyak tumbuh di daerah Jember.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kenitu

2.1.1 Definisi dan Klasifikasi

Kenitu *Chrysophyllum cainito* atau sering disebut caimito atau *star apple*, merupakan tanaman yang banyak digunakan sebagai pohon hias dan buahnya bisa dikonsumsi. Kenitu saat ini banyak dibudidayakan di Karibia, Amerika Tengah, sebagian Amerika Selatan dan di Asia Tenggara (Morton, 1987). Di Asia Tenggara kenitu banyak dijumpai di Filipina, Thailand, dan Indo-Cina bagian selatan (Cruz, 1991). Di Indonesia Kenitu banyak terdapat di pulau Jawa bagian hilir dan daerah pegunungan rendah (Hidayat *et al.*, 2007). Kenitu memiliki beberapa nama berbeda pada berbagai negara seperti caimito, *star apple* (Inggris), Caimite, pomme surette (Prancis). Indonesia: sawo ijo (Jawa), sawo hejo (Sunda), sawo kadu (Bantam). Malaysia: sawu duren, pepulut. Filipina: caimito. Singapura: chicle durian. Thailand: sataa appoen (Bangkok) (Cruz, 1991).

Taksonomi tumbuhan:

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Tracheophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Ordo	: Ericales
Famili	: Sapotaceae
Genus	: <i>Chrysophyllum</i> L.
Spesies	: <i>Chrysophyllum cainito</i> L. (ITIS, 2015).

2.1.2 Morfologi

Pohon kenitu tegak dengan tinggi 8 sampai 30 meter dengan panjang sekitar 1 meter, tebal, dan keras. Cabang berbulu coklat dan putih, lateksnya bergetah (Morton, 1987). Batang kenitu biasanya lurus, silindris dan bergalur. Permukaan kulitnya kasar, pecah-pecah, berwarna coklat. Bagian dalam batang berserat, berwarna oranye

muda dengan bintik-bintik kuning serta mengeluarkan getah putih. Ranting muda berwarna coklat kemerahan dan berbulu (Orwa *et al.*, 2009).

Hidayat *et al.* (2007), menyatakan bahwa terdapat beberapa varian kenitu di daerah Jember berdasarkan bentuk buahnya, yakni HBB, HBK, HL dan M. Perbedaan bentuk buah kenitu tersebut bisa dilihat pada Gambar 2.1.

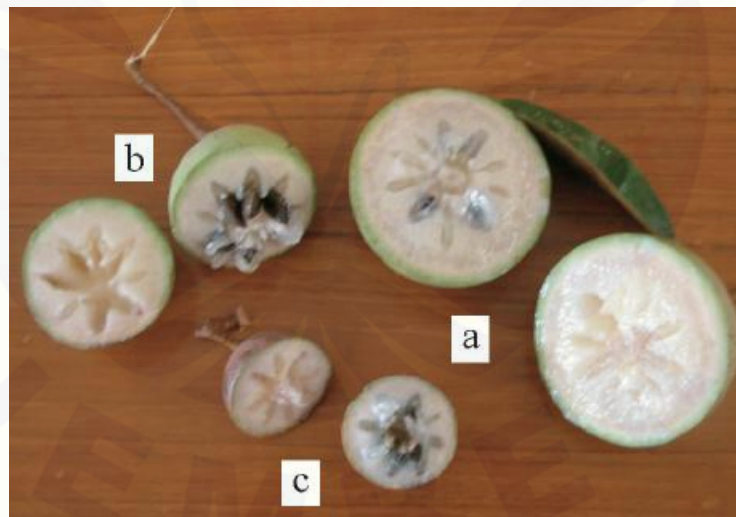
Daun kenitu berbentuk elips atau lonjong dengan panjang 5 sampai 15 cm. Sedikit kasar, permukaan atas berwarna hijau mengkilat. Bagian bawah berwarna silver saat masih muda dan berwarna coklat keemasan setelah tua (Morton, 1987). Tangkai daun panjangnya 1,3-1,6 cm, berwarna coklat kemerahan dan berbulu (Orwa *et al.*, 2009). Pada penelitian ini, peneliti menguji aktivitas inhibisi alfa-glukosidase daun kenitu varian HBB, HBK, HL, dan M yang berasal dari daerah Jember. Perbedaan morfologi beberapa varian daun kenitu dari daerah Jember tersebut bisa dilihat pada Gambar 2.2. Varian HBB dan HBK memiliki ujung daun runcing sedangkan varian HL dan M memiliki ujung daun tumpul. Varian HBB, HBK, dan M memiliki daun dengan warna hijau tua pada bagian atas daunnya. Sedangkan bagian atas daun kenitu varian HL memiliki warna hijau lebih muda dan lebih mengkilat dibandingkan varian lainnya.

2.1.3 Manfaat

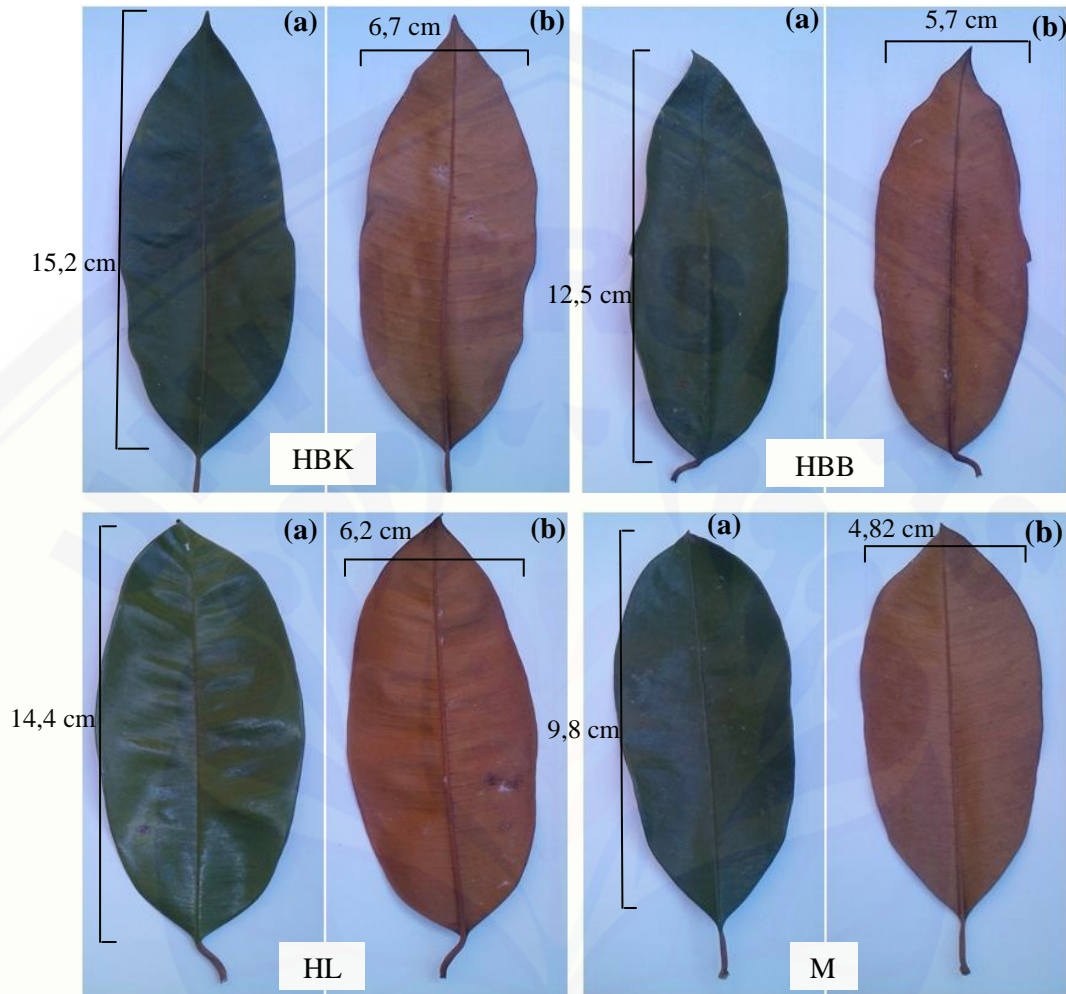
Daun kenitu banyak dimanfaatkan dalam mengobati berbagai penyakit. Salah satu contohnya adalah warga Kuba di Miami menggunakan dekok daun kenitu untuk mengobati kanker. Dekok daun kenitu juga dapat digunakan secara oral sebagai agen hipoglikemia (Orwa *et al.*, 2009). Selain itu pada penelitian yang dilakukan oleh Koffi *et al.* (2009), diketahui bahwa ekstrak daun kenitu dapat menurunkan kadar glukosa darah kelinci diabetes (Koffi *et al.*, 2009). Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Koffi *et al.* (2009), tersebut peneliti ingin mengetahui mekanisme daun kenitu dalam menurunkan kadar glukosa darah kelinci diabetes melalui uji inhibisi alfa-glukosidase.

Buah kenitu yang bergetah digunakan untuk mengobati inflamasi pada laringitis dan pneumonia. Dekok buah digunakan untuk mengobati diabetes mellitus dan angina. Di Venezuela, buah kenitu yang tidak dihilangkan kulitnya digunakan untuk mengobati penyakit di usus halus. Dekok batang yang banyak mengandung tanin digunakan sebagai tonik, simultan, obat diare, disentri, hemoroid, gonorea, dan infeksi saluran kencing. Biji kenitu digunakan sebagai tonik, diuretik, dan penurun panas (Morton, 1987).

Di Jamaika daging buah kenitu dibuat jus buah dengan dicampur jus jeruk, sedikit gula, parutan pala dan *sherry*, atau sering disebut *matrimony* yang merupakan makanan penutup. Emulsi biji kenitu dibuat menjadi tiruan susu almond dan *nougat*. Kayunya dimanfaatkan untuk konstruksi, pembuatan perabotan mewah, peralatan rumah tangga, dan pembuatan tangga. Getah yang diperoleh dengan membuat sayatan di kulit batang digunakan untuk pembuatan *gutta percha* dan lapisan lilin pada lemari (Morton, 1987).



Gambar 2.1 Morfologi buah kenitu (a) HBB (b) HL (c) M (Sumber: Hidayat *et al.*, 2007).



Gambar 2.2 Morfologi daun kenitu: (a) tampak atas, (b) tampak bawah.

2.1.4 Kandungan Kimia

Hampir semua bagian kenitu memiliki kandungan senyawa kimia yang bermanfaat dalam pengobatan. Ekstrak air dau kenitu mengandung alkaloid, flavonoid, fenol, sterol dan triterpen (Koffi, 2008 dalam Koffi *et al.*, 2009). Fraksi etil asetat buah kenitu mengandung senyawa polifenol seperti katekin, epikatekin, gallokatekin, epigallokatekin, kuersetin, kuersitrin, isokuersitrin, miristrin dan asam galat (Luo *et al.*, 2002). Kulit batang kenitu mengandung tanin (Orwa *et al.*, 2009).

Selain mengandung senyawa kimia yang bermanfaat dalam pengobatan, buah kenitu banyak dikonsumsi karena gangguan gizinya. Dalam 100 gram buah kenitu terkandung protein 0,72-2,33 gram; karbohidrat 14,65 gram; serat 0,55-3,30 gram; kalsium 7,4-17,3 mg; fosfor 15,9-22 mg; besi 0,3-0,68 mg, karoten 0,004-0,039 mg; tiamin 0,018-0,08 mg; riboflavin 0,013-0,04 mg; niasin 0,935-1,34 mg; asam askorbat 3-15,2 mg, serta asam-asam amino seperti triptopan 4 mg; metionin 2 mg; dan lisin 22 mg (Morton, 1987).

2.1.5 Ekstraksi dan Fraksinasi Daun Kenitu

Zulaikhah (2015) melakukan pengujian aktivitas antioksidan ekstrak etanol pada daun kenitu yang sama yang juga berasal dari Jember. Berdasarkan optimasi yang dilakukannya diperoleh hasil total polifenol dan aktivitas antioksidan daun kenitu dengan pelarut etanol 70% lebih tinggi dibandingkan etanol 50% dan etanol 96%. Oleh karena itu pada penelitian ini digunakan etanol 70% untuk ekstraksi daun kenitu.

Zuhro (2015) meneliti aktivitas inhibisi alfa-glukosidase ekstrak etanol daun kenitu yang sama menyatakan bahwa ekstrak etanol varian M, HL, HBB dan HBK memiliki aktivitas inhibisi alfa-glukosidase. Selain itu, Hikmah (2015) meneliti aktivitas inhibisi alfa-glukosidase fraksi etanol daun kenitu yang sama yakni varian M, HL, HBB, dan HBK dan semua varian daun kenitu tersebut memiliki aktivitas inhibisi alfa-glukosidase. Berdasarkan hal tersebut peneliti kemudian melakukan uji aktivitas inhibisi fraksi etil asetat daun kenitu varian M, HL, HBB, dan HBK.

2.2 Diabetes

2.2.1 Definisi Diabetes Mellitus

DM merupakan suatu kelainan metabolisme yang ditandai dengan meningkatnya kadar glukosa dalam darah atau hiperglikemia. DM dapat menyebabkan gangguan metabolisme lemak dan protein (Departemen Farmakologi dan Terapi FK UI, 2007). DM dapat disebabkan karena kerusakan sel beta pankreas

akibat proses autoimun tubuh sehingga terjadi defisiensi insulin dan resistensi insulin. Dasar dari kelainan metabolisme karbohidrat, lemak, dan protein pada diabetes adalah kurangnya jumlah insulin pada jaringan target diakibatkan jumlah insulin yang ada tidak memadai atau berkurangnya respon jaringan terhadap insulin (ADA, 2008).

2.2.2 Klasifikasi Diabetes mellitus

DM diklasifikasikan dalam beberapa tipe yakni DM tipe 1, DM tipe 2, diabetes gestasional, Prediabetes, dan lain sebagainya. Berikut adalah penjelasan tipe-tipe DM tersebut:

a. Diabetes Mellitus tipe 1

DM tipe 1 terjadi pada 5-10% dari keseluruhan penderita DM. DM tipe 1 sering disebut dengan *insulin dependent diabetes*. Merupakan diabetes yang disebabkan reaksi autoimun berupa destruksi sel β -pankreas (ADA, 2014). Sel β -pankreas merupakan sel yang memproduksi insulin. Rusaknya sel β -pankreas menyebabkan terbatasnya produksi insulin atau bahkan tidak diproduksinya insulin oleh tubuh. Sedangkan insulin dalam tubuh berfungsi menurunkan kadar glukosa dalam darah. Penderita DM tipe 1 ini membutuhkan terapi insulin dari luar untuk pengobatannya (CDC, 2014).

b. Diabetes Mellitus tipe 2

Sebelumnya sering disebut *non insulin dependent diabetes*. DM tipe 2 terjadi pada 90%-95% dari keseluruhan pasien DM. DM tipe 2 biasanya diawali dengan resistensi insulin pada organ tubuh seperti otot, hati, dan jaringan lemak. Karena adanya resistensi tersebut tubuh menghasilkan insulin dalam jumlah yang lebih besar dan hal ini memaksa sel β -pankreas bekerja lebih keras hingga kemampuan sel β -pankreas dalam menghasilkan insulin menurun (CDC, 2014).

Faktor risiko terjadinya DM tipe 2 antara lain adalah usia lanjut, obesitas, adanya riwayat keluarga yang pernah menderita diabetes, adanya riwayat diabetes gestasional, gangguan metabolisme glukosa, kurangnya aktivitas fisik, dan ras. Ras

Afrika Amerika, Latin, Amerika Indian, Asia, Hawaii, dan Pasifik memiliki risiko tinggi menderita DM tipe 2 (CDC, 2014).

c. Diabetes Gestasional

Merupakan diabetes yang didiagnosis pada trisemester kedua atau ketiga kehamilan. Penanganan diabetes gestasional bisa dengan diet, memperbanyak aktivitas fisik, atau dengan insulin. Biasanya setelah melahirkan 5%-10% wanita akan mengalami DM tipe 2 setelah sebelumnya menderita diabetes gestasional saat hamil. Diabetes gestasional sendiri merupakan faktor risiko terjadinya diabetes gestasional pada kehamilan selanjutnya dan DM tipe 2. Selain itu, anak yang dilahirkan berisiko menderita DM dan obesitas (CDC, 2014).

e. Prediabetes

Merupakan suatu kondisi dimana kadar glukosa dalam darah seseorang lebih tinggi dibanding glukosa darah normal namun lebih rendah dibanding penderita DM. Seseorang dengan prediabetes berisiko terkena DM dan penyakit jantung (CDA, 2013).

2.2.3 Diagnosis

DM biasanya didiagnosis berdasarkan kadar glukosa plasma, baik kadar glukosa saat puasa dan kadar glukosa 2 jam setelah konsumsi glukosa. Belakangan ini, Komite Internasional menyatakan bahwa kadar A1C dalam tubuh dapat digunakan untuk diagnosis DM. A1C atau HbA1C merupakan hemoglobin yang berikatan dengan glukosa atau bisa disebut dengan glikohemoglobin. Kadar A1C berbeda-beda sesuai ras/etnis. Hal ini disebabkan perbedaan kecepatan glikasi pada masing-masing ras/etnis. Contohnya ras Afrika Amerika memiliki kecepatan glikasi yang lebih cepat dibandingkan ras yang lain. Selain ras, kondisi tertentu seperti anemia juga dapat mempengaruhi kadar A1C dalam tubuh (ADA, 2014).

Berikut ini adalah beberapa cara dalam diagnosis DM:

a. Kadar A1C

Pasien dikatakan menderita DM jika kadar A1C $\geq 6,5\%$. Penentuan kadar A1C harus menggunakan metode yang ditetapkan oleh *National Glycohemoglobin Standardization Program* (NGSP) atau *Diabetes Control and Complication* (DCCT).

b. Kadar glukosa puasa

Pasien dikatakan DM jika kadar glukosa darahnya ≥ 126 mg/dl (7 mmol/l) pada kondisi puasa. Puasa adalah kondisi dimana tidak terdapat *intake* kalori selama 8 jam.

c. Kadar glukosa 2 jam setelah konsumsi glukosa

Kadar glukosa 2 jam setelah puasa pada pasien DM ≥ 200 mg/dl (11,1 mg/L). Tes dilakukan sesuai standar yang ditetapkan WHO menggunakan ekuivalen glukosa 75 gram dalam air (ADA, 2014).

d. Kondisi prediabetes

Penderita prediabetes memiliki kadar glukosa puasa 6,1-6,9 mmol/l; kadar glukosa 2 jam setelah konsumsi glukosa 7,8-11 mmol/l; dan kadar A1C 6-6,4% (CDA, 2013).

2.2.4 Penatalaksanaan

Penatalaksanaan DM bertujuan agar kadar glukosa darah berada dalam kisaran normal dan mencegah terjadinya komplikasi akibat DM. Penatalaksanaan tersebut antara lain sebagai berikut:

a. Edukasi dari tenaga medis

Tujuan edukasi adalah agar pasien memahami perjalanan penyakit DM, mengetahui komplikasi yang mungkin timbul dan dapat memantau penyakit secara mandiri serta merubah kebiasaan hidup menjadi lebih sehat.

b. Pengaturan asupan gizi

Makanan yang dikonsumsi penderita DM harus sesuai dengan kebutuhan kalorinya, jadwal makan teratur, jenis dan jumlah makanan juga harus diperhatikan. Komposisi yang dianjurkan terdiri dari karbohidrat 45%-65%, lemak 20%-25%, protein 10%-20%, natrium kurang dari 3 g, dan diet cukup serat sekitar 25 g/hari.

c. Latihan fisik

Latihan fisik secara teratur dapat menjaga kebugaran tubuh, menurunkan berat badan dan meningkatkan sensitivitas insulin.

d. Terapi farmakologis

Terapi farmakologis DM yang ada saat ini terdiri dari obat hipoglikemik oral dan insulin. Obat hipoglikemik oral dengan mekanisme memicu sekresi insulin antara lain adalah sulfonilurea dan Glinid. Obat yang bekerja dengan meningkatkan sensitivitas insulin adalah biguanid, tiazolidinedion. Obat golongan biguanid juga bekerja dengan menghambat glukoneogenesis. Selain itu obat hipoglikemik oral juga bekerja dengan menghambat enzim alfa glukosidase seperti akarbose (Depkes RI, 2005). Akarbose merupakan oligosakarida yang berasal dari mikroba yang bekerja secara kompetitif menghambat enzim glukamilase dan sukrase. Akarbose menurunkan kadar gula darah pada DM tipe 1 dan tipe 2 (Departemen Farmakologi dan Terapi FK UI, 2007).

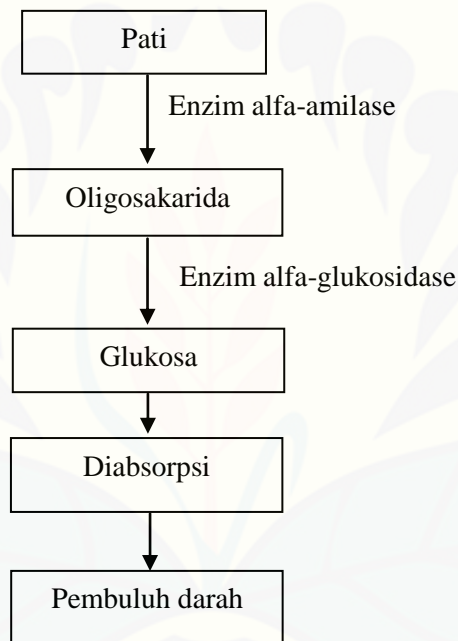
2.3 Enzim Alfa-Glukosidase

2.3.1 Peran Enzim Alfa-Glukosidase

Enzim alfa-glukosidase adalah enzim yang terdapat di usus halus yang berfungsi memecah oligosakarida dan disakarida yang belum dapat diabsorpsi menjadi monosakarida sehingga dapat diabsorpsi tubuh (Lebovitz, 1997). Proses pembentukan glukosa dari pati disajikan pada Gambar 2.3. Awalnya pati makanan yang masuk ke dalam tubuh akan dihidrolisis oleh enzim alfa-amilase menjadi oligosakarida dan disakarida. Oligosakarida dan disakarida ini kemudian dihidrolisis

oleh enzim alfa-glukosidase menjadi glukosa yang merupakan monosakarida untuk selanjutnya diabsorpsi menembus dinding usus halus menuju pembuluh darah yang menyebabkan naiknya kadar glukosa dalam darah (Williamson, 2013).

Saat oligosakarida dan disakarida tidak dapat berikatan dengan alfa-glukosidase, maka keduanya tidak diubah menjadi monosakarida dan tidak diabsorpsi sehingga kadar glukosa darah tidak naik. Oligosakarida dan disakarida yang tidak diabsorpsi akan langsung menuju usus besar dan dimetabolisme oleh bakteri menjadi asam lemak, hidrogen, CO₂, dan metana. (Lebovitz, 1997).



Gambar 2.3 Skema degradasi polisakarida dan oligosakarida oleh enzim alfa-glukosidase (Sumber: Bischoff, 1994).

2.3.2 Tanaman yang Memiliki Aktivitas Inhibisi Alfa-Glukosidase

Sebelumnya telah banyak peneliti yang menguji aktivitas inhibisi alfa-glukosidase pada tanaman lain. Selain itu, mereka juga menentukan kandungan senyawa kimia yang ada dalam tanaman tersebut, seperti Saraswaty (2010), menyatakan bahwa korteks batang *Syzium sp.* mengandung senyawa kimia terpenoid, fenol, saponin, tanin dan flavonoid memiliki aktivitas inhibisi alfa-glukosidase. Daun *Leptadenia hastata* (Pers.) Decne memiliki aktivitas inhibisi alfa-glukosidase dengan

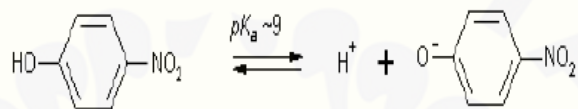
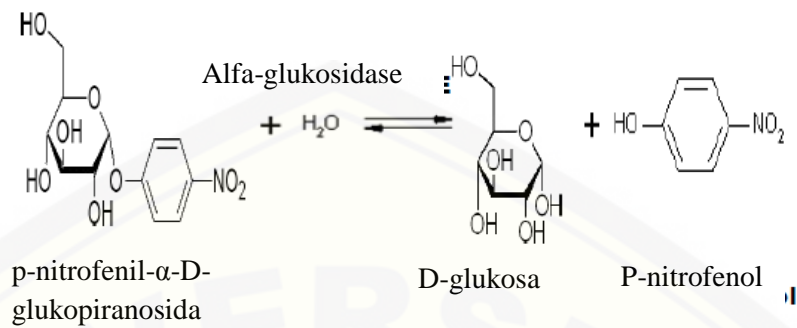
kandungan senyawa kimia fenolik, tanin, flavonoid, proantosianidin, alkaloid dan saponin (Bello *et al.*, 2011). *Cinnamomum zeylanicum* memiliki aktivitas inhibisi alfa-glukosidase dan mengandung senyawa kimia tanin, flavonoid, glikosida, terpenoid, kumarin dan antraknon (Shihabudeen *et al.*, 2011).

Selain itu, beberapa peneliti juga mengisolasi senyawa kimia dalam tumbuhan yang ditelitinya untuk diuji aktivitas inhibisi alfa-glukosidase, seperti Hong *et al* (2013), mengisolasi 4 senyawa flavonoid dari daun *Morus atropurpurea* yakni rutin, isokuersetin, kamferol-3-O-rutinosida, dan astragalin dan keempat senyawa tersebut memiliki aktivitas inhibisi alfa-glukosidase. Isolat senyawa polifenol menurut Lee *et al* (2014), flavonoid menurut Hong *et al* (2013), saponin menurut Duo *et al* (2013), steroid menurut Kumar *et al* (2014), triterpenoid menurut Dine *et al* (2014), tanin menurut Thinkratok *et al* (2014) memiliki aktivitas inhibisi alfa-glukosidase.

Koffi (2008), menyatakan daun kenitu mengandung senyawa kimia alkaloid, flavonoid, fenol, sterol, dan triterpen. Senyawa-senyawa tersebut diduga memiliki aktivitas inhibisi alfa-glukosidase berdasarkan penelitian sebelumnya yang telah dijelaskan di atas. Oleh karena itu, peneliti ingin mengetahui kandungan senyawa kimia, kadar fenolik total dan aktivitas inhibisi alfa-glukosidase fraksi etil asetat daun kenitu varian HL, HBB, HBK, dan M yang berasal dari Jember.

2.3.3 Prinsip Uji Inhibisi Alfa-Glukosidase

Senyawa p-nitrofenil-alfa-D-glukopiranosida (PNPG) digunakan sebagai substrat pada penelitian ini. PNPG akan dihidrolisis oleh enzim alfa-glukosidase menjadi senyawa p-nitrofenol dan D-glukosa. Senyawa p-nitrofenol memberikan warna kuning pada larutan untuk kemudian diukur serapannya. Semakin tinggi intensitas warna kuning larutan menunjukkan semakin banyak p-nitrofenol yang terbentuk. Jika senyawa inhibitor memiliki aktivitas inhibisi enzim, maka jumlah p-nitrofenol yang dihasilkan akan berkurang (Cihan *et al.*, 2010). Adapun reaksi hidrolisis PNPG oleh alfa-glukosidase dapat dilihat pada Gambar 2.6.



Warna kuning

Gambar 2.4 Reaksi hidrolisis PNPG oleh alfa-glukosidase. (Sumber: Cihan, 20 *et al.*, 2010).

BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan adalah penelitian *experimental laboratories* untuk mengetahui kandungan senyawa kimia, kadar fenolik total dan aktivitas inhibisi enzim alfa-glukosidase dari fraksi etil asetat daun kenitu varian hijau bulat besar (HBB), hijau bulat kecil (HBK), merah (M) dan hijau lonjong (HL) yang diambil dari daerah Jember sebagai antidiabetes.

3.2 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Fitokimia bagian Biologi Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Jember pada bulan Agustus 2014 sampai Juli 2015.

3.3 Variabel Penelitian

Variabel yang digunakan dalam penelitian ini adalah:

- a. Variabel bebas pada penelitian ini adalah fraksi etil asetat daun kenitu varian hijau bulat kecil (HBK), hijau bulat besar (HBB), merah (M), dan hijau lonjong (HL).
- b. Variabel terikat pada penelitian ini adalah aktivitas inhibisi alfa-glukosidase.
- c. Variabel terkontrol pada penelitian ini adalah metode ekstraksi, metode fraksinasi, pelarut dan prosedur pengujian aktivitas inhibisi alfa-glukosidase.

3.4 Definisi Operasional

Definisi operasional pada penelitian ini adalah:

- a. Lokasi pengambilan sampel daun kenitu varian HBK di daerah Antirogo, Kabupaten Jember; daun kenitu varian HBB dan Merah di daerah Kalisat, Kabupaten Jember; sedangkan daun kenitu varian HL di daerah Sumpalsari, Kabupaten Jember. Daun kenitu yang dipilih yang tua, yakni yang berwarna

hijau tua dengan bagian bawah berwarna coklat keemasan dari pohon yang sudah pernah berbuah.

- b. Fraksi etil asetat daun kenitu diperoleh dengan mengekstraksi simplisia daun kenitu dengan pelarut etanol 70% menggunakan metode ultrasonikasi selama 1 jam, dilanjutkan dengan fraksinasi menggunakan pelarut n-heksana dan etil asetat
- c. IC_{50} merupakan konsentrasi efektif ekstrak daun kenitu untuk menghambat 50% enzim alfa-glukosidase.
- d. Enzim alfa-glukosidase merupakan enzim yang ada di usus halus yang berfungsi memecah gula yang diperoleh dari makanan menjadi glukosa sehingga dapat diabsorpsi.

3.5 Bahan dan Alat Penelitian

3.5.1 Bahan-bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun kenitu varian HL, HBK, HBB, dan M dari daerah Jember yang dikumpulkan selama bulan Juli hingga Agustus 2014. Pelarut etanol 70%, etil asetat, n-heksana, Enzim alfa-glukosidase dari *Saccharomyces cerevisiae* (Sigma-Aldrich), para-nitrofenil-alfa D-glukopiranosida (PNPG) (Sigma-Aldrich), natrium karbonat (Brataco-Ermika), HCl 2N (Sigma-Aldrich), NaCl, pereaksi Mayer (Sigma-Aldrich), NH_4OH (Merck), metanol p.a (Sigma-Aldrich), pereaksi Dragendroff (Sigma-Aldrich), H_2SO_4 (Sigma-Aldrich), magnesium (Merck), asam asetat glasial (Sigma-Aldrich), $FeCl_3$ (Sigma-Aldrich), akuades, tip dan *microplate* 96 well.

3.5.2 Alat-alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *micropipette* (Socorex), tabung mikro sentrifus, alat-alat gelas, *rotary evaporator* (Heidolph Laborata 4000), *hotplate* (Cimarec Thermo Scientific), neraca analitik (Pioneer), *microplate reader* (Dialab Elx800), *vortex mixer* (Barnsteed Termolyne), *centrifuge* (Hermle Z 206A),

pH meter (Elmetro CP-502), *freeze dryer* (VaCo 5-II-D), dan ultrasonikator (Elmasonic S180H), dan inkubator (Clifton).

3.6 Cara Kerja

3.6.1 Penyiapan Simplisia

Daun kenitu berbagai varian (M, HL, HBB, dan HBK) yang telah dikumpulkan dikelompokkan berdasarkan varian masing-masing. Daun tersebut kemudian disortasi basah dan dicuci dengan air mengalir. Selanjutnya daun dikeringkan pada suhu kamar. Daun yang telah dikeringkan dihaluskan menggunakan mesin penggiling hingga menjadi serbuk.

3.6.2 Ekstraksi

Sebanyak 200 gram simplisia kering dari masing-masing varian daun kenitu diekstraksi menggunakan etanol 70% sebanyak 2 liter dengan cara ultrasonikasi selama 1 jam pada suhu 30°C. Ampas dan filtrat dipisahkan dengan cara disaring menggunakan penyaring vakum. Filtrat yang didapat diuapkan pada *rotary evaporator* pada suhu 50°C hingga menjadi ekstrak kental.

3.6.3 Fraksinasi

Ekstrak kental dilarutkan dalam etanol:akuades suhu 40°C (1:1) hingga terlarut, kemudian ditambahkan n-heksana dengan volume yang sama banyak ke dalam corong pisah. Campuran digojog selama 15 menit lalu dibiarkan hingga membentuk dua lapisan terpisah yakni fraksi etanol dan fraksi n-heksana. Penambahan n-heksana dan penggojogan diulang sebanyak tiga kali.

Fraksi etanol kemudian ditambah dengan etil asetat dengan volume yang sama banyak ke dalam corong pisah dan digojog selama 15 menit hingga membentuk dua lapisan. Penambahan etil asetat dan penggojogan diulang sebanyak tiga kali.

Fraksi etil asetat yang dihasilkan selanjutnya dipekatkan di atas *water bath* pada suhu 100°C.

3.6.4 Identifikasi Golongan Senyawa Kimia

Identifikasi golongan senyawa kimia merupakan metode secara kualitatif yang dilakukan dengan tujuan mengetahui senyawa apa yang terkandung dalam fraksi etil asetat daun kenitu berbagai varian. Adapun identifikasi golongan senyawa kimia tersebut terdiri dari:

a. Uji Alkaloid

Sampel sebanyak 0,3 gram ditambah dengan 5 ml HCl 2N, dipanaskan di atas penangas air selama 2-3 menit sambil diaduk. Setelah dingin ditambahkan NaCl diaduk kemudian disaring. Filtrat ditambah 5 ml HCl 2N kemudian ditambah dengan pereaksi wagner atau mayer. Adanya kekeruhan atau endapan menunjukkan adanya alkaloid (Depkes RI, 1989).

b. Uji flavonoid

Sampel sebanyak 30 mg ditambah 100 mL akuades panas, dididihkan selama 5 menit, kemudian disaring. Sebanyak 5 mL filtrat ditambah dengan 0,05 mg serbuk Mg dan HCl pekat, kemudian dikocok kuat-kuat. Adandanya flavonoid ditandai dengan terbentuknya warna merah, kuning, dan jingga (Harborne, 1996).

c. Uji Fenolik

Sampel sebanyak 30 mg ditambah dengan 10 tetes FeCl_3 1%. Adanya senyawa fenol dalam sampel ditandai dengan terbentuknya warna hijau, merah, ungu, biru, atau hitam pekat (Harborne, 1996).

b. Uji Steroid dan triterpenoid (Uji Liebermann-Burchard)

Sampel ditambahkan dengan CH_3COOH 10 tetes dan H_2SO_4 pekat 2 tetes. Larutan kemudian dikocok selama beberapa menit. Adanya steroid dalam sampel ditandai dengan terbentuknya warna biru atau hijau. Sedangkan adanya senyawa triterpenoid ditandai dengan warna merah atau ungu (Harborne, 1996).

c. Uji Saponin

Sampel sebanyak 0,5 gram ditambah 10 ml air panas, didinginkan, dikocok vertikal selama 10 detik. Positif mengandung saponin jika terbentuk busa dengan

ketinggian 1-10 cm selama 10 menit dan busa tidak hilang setelah ditetesi HCl 2N (Depkes RI, 1989).

d. Uji Tanin

Sampel sebanyak 0,3 gram ditambah 10 ml akuades panas, diaduk kemudian didinginkan. Ditambahkan 3-4 tetes NaCl 10%, diaduk kemudian disaring. Terakhir ditetesi larutan gelatin. Adanya tanin ditandai dengan terbentuknya endapan putih (Depkes RI, 1989).

3.6.5 Penetapan Kadar Fenolik Total

Sebanyak 5 ml sampel ditambah dengan 5 ml reagen Folin-Ciocalteu. Kemudian diinkubasi selama 8 menit pada suhu 25°C. Selanjutnya ditambah NaOH 1% sebanyak 4 ml diinkubasi dalam tempat gelap selama 1 jam pada suhu 25°C. Selanjutnya diukur absorbansinya pada panjang gelombang 730 nm. Total polifenol diperoleh dalam satuan ekuivalen asam galat (GAE) (Depkes RI, 2011).

3.6.6 Uji Aktivitas Inhibisi Alfa-glukosidase

Uji aktivitas inhibisi alfa-glukosidase dilakukan terhadap larutan kontrol negatif dan larutan sampel (fraksi etil asetat). Setiap larutan uji dibuat larutan blanko masing-masing (Moradi-Afrapoli, 2012).

Dalam pengujian aktivitas inhibisi alfa-glukosidase ini merujuk pada optimasi yang dilakukan oleh Zuhro (2015). Konsentrasi substrat, enzim, dan waktu inkubasi yang digunakan adalah 10 mM; 0,1 unit/ml; dan 60 menit.

1. Penyiapan bahan

a. Penyiapan larutan dapar fosfat pH 6,8

Dibuat dengan cara mencampurkan 45 ml larutan Na-phosphat monobasis 0,2 M (2,78 gram dalam 100 ml akuades) dengan 45 ml larutan Na-phosphat dibasis 0,2 M (7,17 gram $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ dalam 100 ml aquadest) kemudian diencerkan dengan akuades hingga 200 ml.

b. Penyiapan larutan substrat p-nitrofenil-alfa-D-glukopiranosida (PNPG)

Larutan substrat 20 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.

c. Penyiapan larutan enzim alfa-glukosidase

Larutan enzim dibuat dengan menimbang 5,056 mg enzim α -glukosidase dan dilarutkan dalam 100 mL dapar fosfat pH 6,8 dalam kondisi dingin. Larutan induk enzim diencerkan dengan dapar fosfat pH 6,8 hingga diperoleh larutan enzim 0,1 U/ml.

d. Penyiapan 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.

e. Penyiapan larutan sampel

Sebanyak 10 ml sampel fraksi etil asetat dilarutkan dalam DMSO sampai terlarut kemudian ditambahkan dapar fosfat pH 6,8 untuk memperoleh konsentrasi larutan sampel 1000 ppm. Selanjutnya dilakukan pengenceran dari larutan sampel tersebut hingga diperoleh beberapa konsentrasi yakni 0,01 $\mu\text{g/ml}$; 0,025 $\mu\text{g/ml}$; 0,050 $\mu\text{g/ml}$; 0,075 $\mu\text{g/ml}$; 0,1 $\mu\text{g/ml}$; dan 1 $\mu\text{g/ml}$.

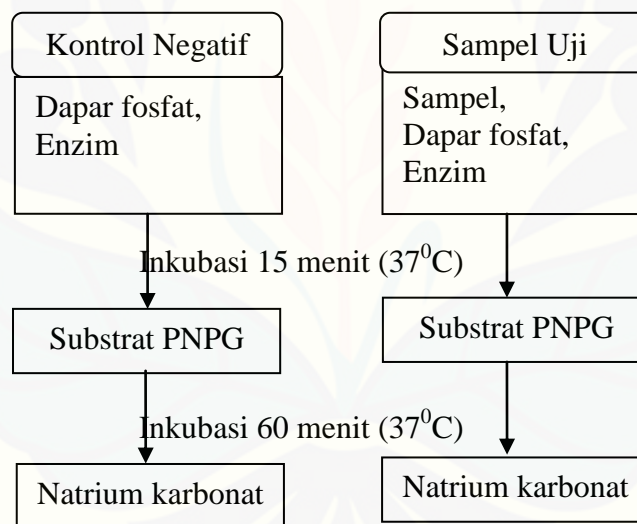
2. Prosedur

a. Pengujian kontrol negatif

Dibuat campuran yang 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 *96-well plate*. Campuran tersebut kemudian diinkubasi selama 15 menit pada suhu 37°C. Setelah itu, ditambahkan 20 μl substrat PNPG 10 mM, dan diinkubasi lagi selama 60 menit suhu 37°C. Reaksi dihentikan dengan penambahan 80 μl natrium karbonat 0,2 M. Para-nitofenol yang dihasilkan dibaca absorbansinya pada 415 nm. Pada uji kontrol negatif, blanko dilakukan tanpa penambahan enzim. Semua pengujian dilakukan tiga kali replikasi.

b. Pengujian sampel

Dibuat campuran yang 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 *96-well plate*. Campuran tersebut kemudian diinkubasi selama 15 menit suhu 37°C. Setelah itu, ditambahkan 20 µl substrat PNPG 10 mM, dan diinkubasi lagi selama 60 menit suhu 37°C. Reaksi dihentikan dengan penambahan 80 µl natrium karbonat 0,2 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. Prosedur uji aktivitas inhibisi alfa-glukosidase dapat dilihat pada Gambar 3.1.



Gambar 3.1 Prosedur uji inhibisi enzim alfa-glukosidase

Aktivitas inhibisi alfa-glukosidase dapat dihitung dengan rumus:

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

Keterangan:

K= Absorbansi kontrol negatif

S= Absorbansi sampel / Absorbansi kontrol positif

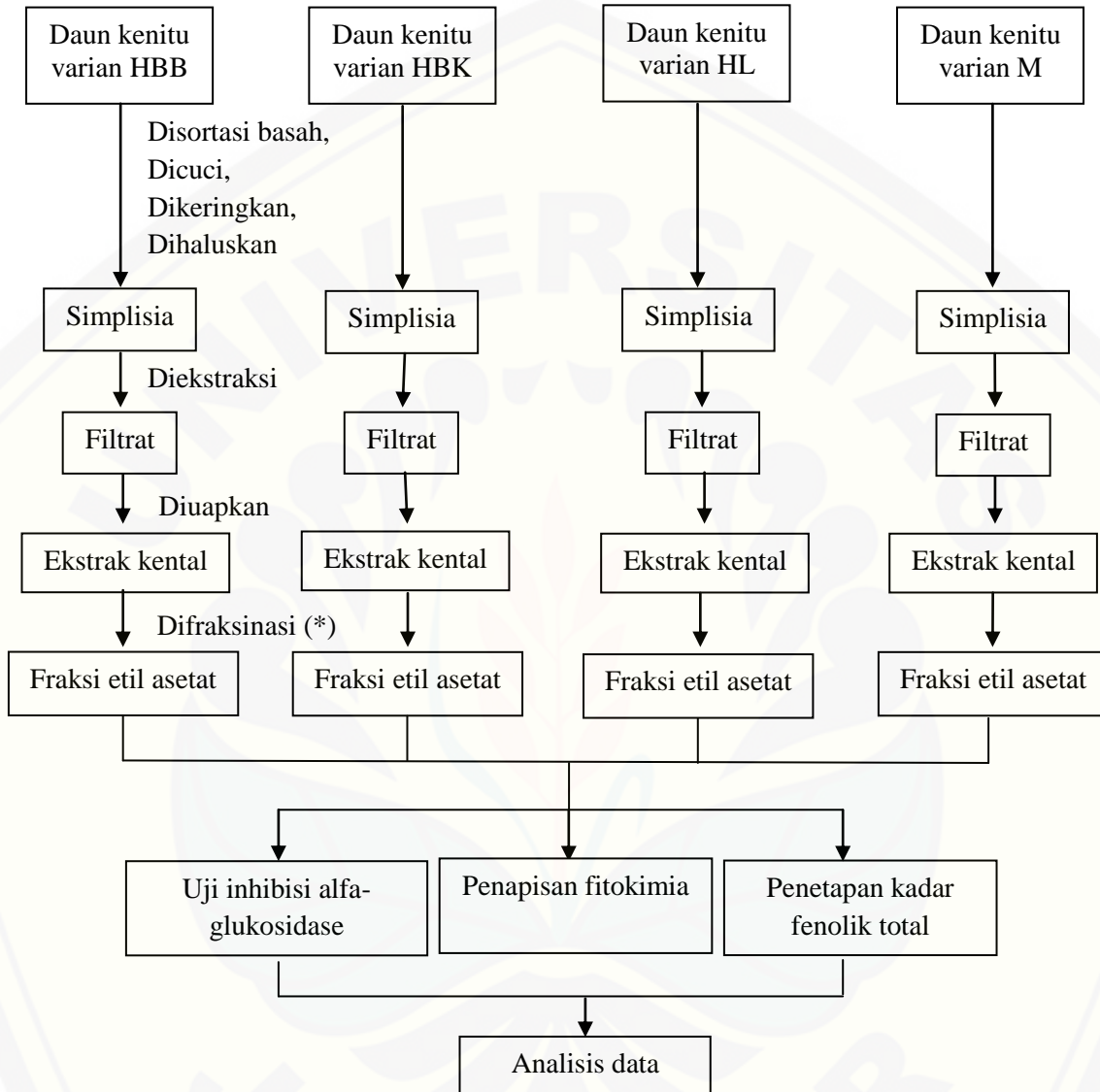
IC₅₀ dihitung dengan menggunakan persamaan regresi linier, konsentrasi sampel sebagai sumbu x dan % inhibisi sebagai sumbu y. Persamaan regresi $y=bx+a$, IC₅₀ dapat ditentukan dengan rumus:

$$IC_{50} = \frac{50-a}{b}$$

3.7 Analisis Data

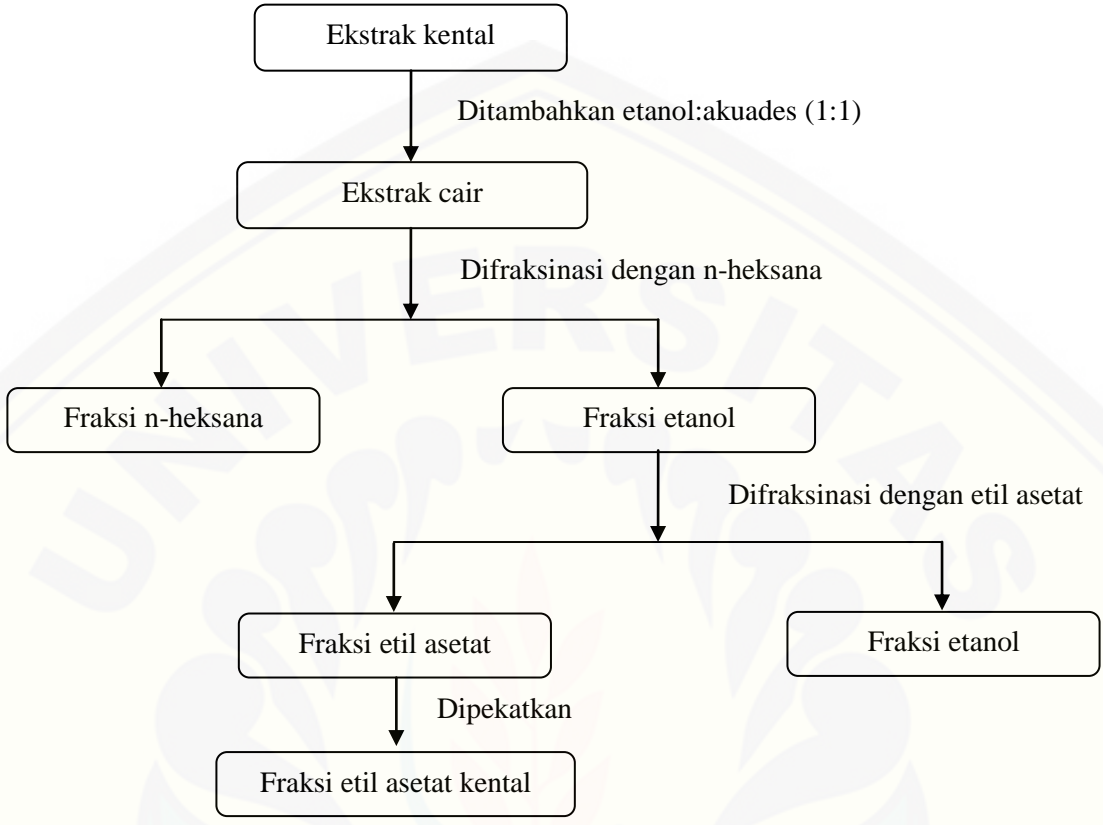
Data yang diperoleh diolah menggunakan program spss dengan melihat uji normalitas (Shapiro-Wilk) dan uji homogenitas. Jika hasil yang diperoleh normal dan homogen ($p>0,05$) maka dilanjutkan dengan uji analisis varian satu arah ANOVA untuk melihat perbedaan IC₅₀. Jika terdapat perbedaan nilai IC₅₀ yang signifikan ($p<0,05$) antarvarian daun kenitu, maka dilanjutkan dengan uji LSD untuk mengetahui varian mana yang berbeda signifikan (Besral, 2010).

3.8 Skema Penelitian



Gambar 3.2 Skema uji aktivitas inhibisi enzim alfa-glukosidase

(*) Fraksinasi yang dilakukan sesuai Gambar 3.3



Gambar 3.3 Skema fraksinasi ekstrak daun kenitu

BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Ekstraksi

Simplisia dari masing-masing varian daun kenitu ditimbang sebanyak 200 gram kemudian diekstraksi dengan etanol 70% hingga diperoleh ekstrak kental. Rendemen ekstrak dapat dilihat pada Tabel 4.1.

Tabel 4.1 Rendemen ekstrak etanol daun kenitu

Varian	Bobot simplisia (g)	Bobot ekstrak (g)	Rendemen ekstrak (%)
M	200,005	10,336	5,168
HL	200,045	31,711	15,852
HBB	200,007	25,916	12,957
HBK	200,043	14,364	7,180

4.2 Hasil Fraksinasi

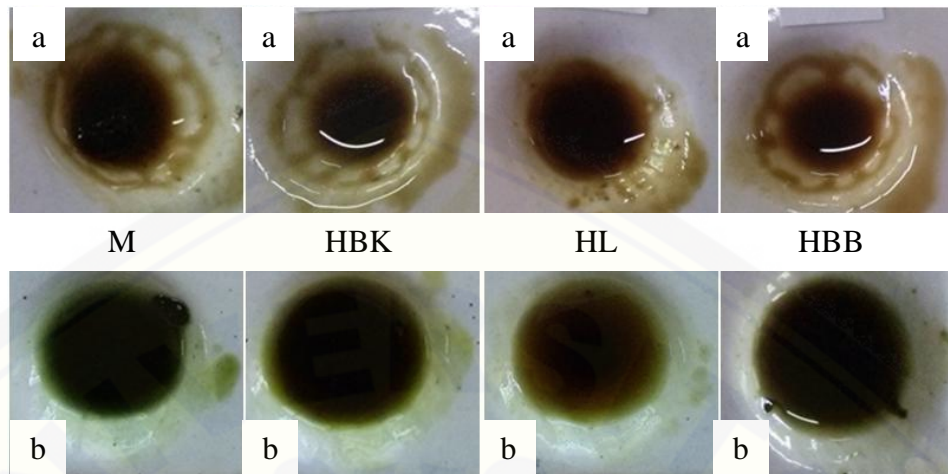
Ekstrak masing-masing varian selanjutnya difraksinasi hingga diperoleh fraksi etil asetat. Rendemen fraksi etil asetat dapat dilihat pada Tabel 4.2.

Tabel 4.2 Rendemen fraksi etil asetat daun kenitu

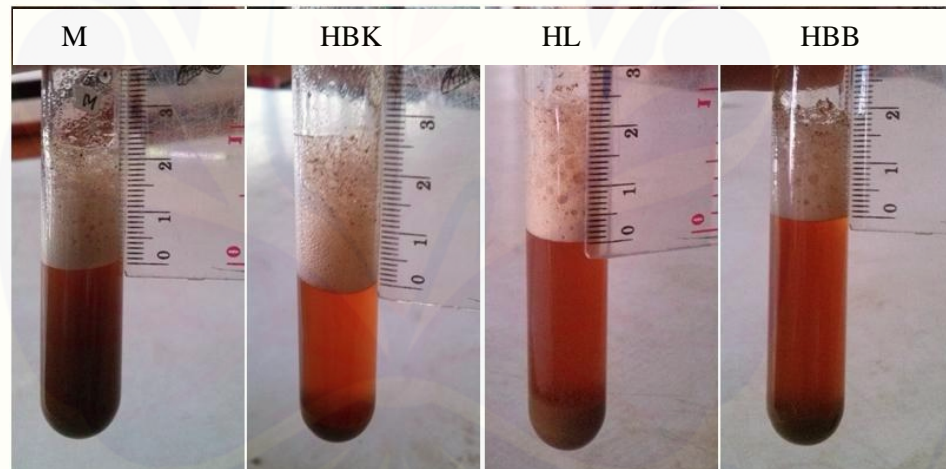
Varian	Bobot ekstrak (g)	Bobot fraksi (g)	Rendemen fraksi (%)
M	10,336	2,109	20,404
HL	31,711	1,712	5,399
HBB	25,916	3,983	15,369
HBK	14,364	2,350	16,360

4.3 Hasil Identifikasi Golongan Senyawa Kimia

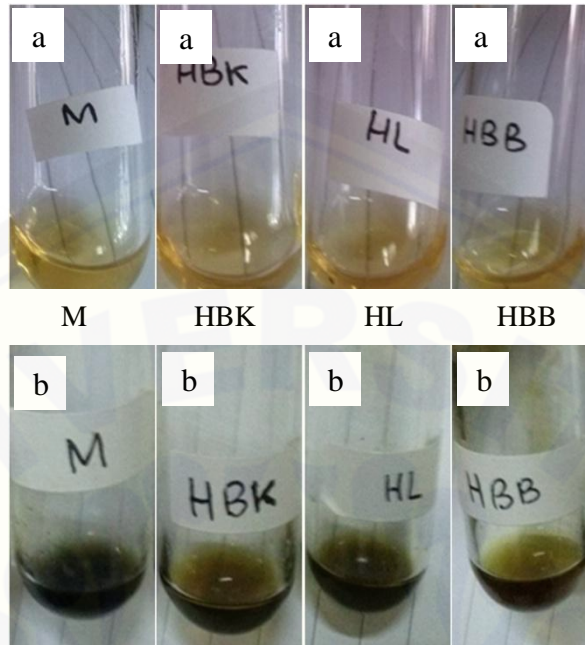
Berdasarkan uji identifikasi golongan senyawa kimia yang dilakukan pada fraksi etil asetat daun kenitu, diperoleh hasil bahwa varian M, HL, HBK dan HBB mengandung senyawa steroid, saponin, polifenol, flavonoid dan tanin. Hasil identifikasi golongan senyawa kimia dapat dilihat pada Gambar 4.1- 4.6 dan Tabel 4.3.



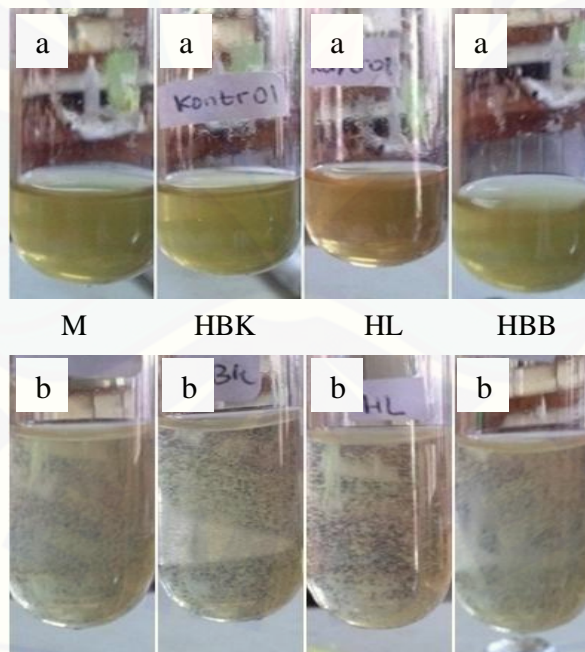
Gambar 4.1 Hasil identifikasi golongan senyawa terpenoid dan steroid, (a) Kontrol, (b) sampel setelah ditambah reagen CH_3COOH dan H_2SO_4 . Terjadi perubahan warna menjadi hijau pada semua varian daun kenitu yang menunjukkan positif mengandung steroid.



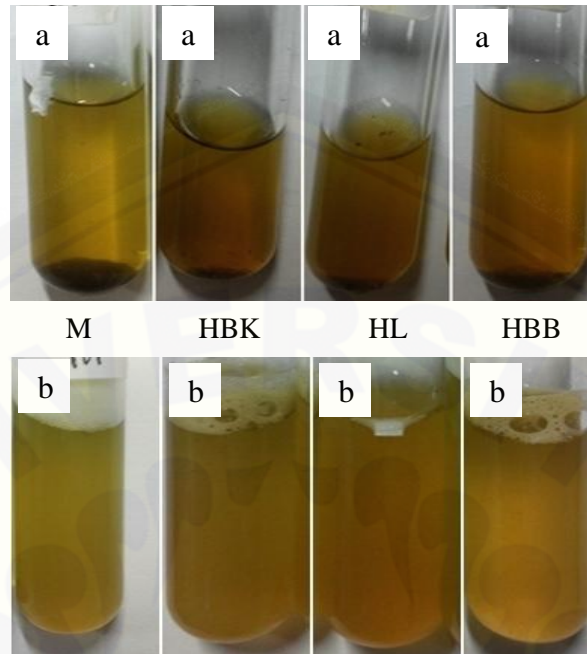
Gambar 4.2 Hasil identifikasi golongan senyawa saponin, keempat varian daun mengandung saponin karena terbentuk busa setinggi 2 cm dan tidak hilang setelah didiamkan 10 menit dan ditambahkan HCl 2N



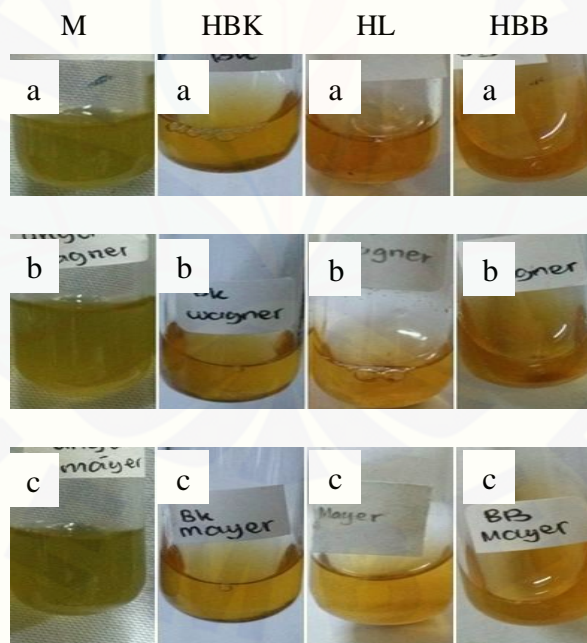
Gambar 4.3 Hasil identifikasi golongan senyawa polifenol (a) kontrol, (b) sampel setelah ditambah FeCl₃ 1%, terjadi perubahan warna menjadi hitam pekat yang menunjukkan semua varian daun kenitu positif mengandung polifenol.



Gambar 4.4 Hasil identifikasi golongan senyawa tanin (a) kontrol, (b) sampel setelah ditambah NaCl 10% dan gelatin, terbentuk endapan putih pada semua varian daun kenitu sehingga semua varian mengandung tanin.



Gambar 4.5 Hasil identifikasi golongan senyawa flavonoid (a) kontrol, (b) sampel ditambah dengan serbuk Mg dan NaCl, terjadi perubahan warna menjadi kuning sehingga semua varian daun kenitu positif mengandung flavonoid.



Gambar 4.6 Hasil identifikasi golongan senyawa alkaloid (a) kontrol (b) sampel ditambah reagen Wagner, (c) sampel ditambah reagen Mayer, tidak terjadi perubahan warna setelah penambahan reagen Wagner maupun Mayer sehingga keempat varian kenitu tidak mengandung alkaloid.

Tabel 4.3 Hasil Identifikasi golongan senyawa kimia fraksi etil asetat daun kenitu

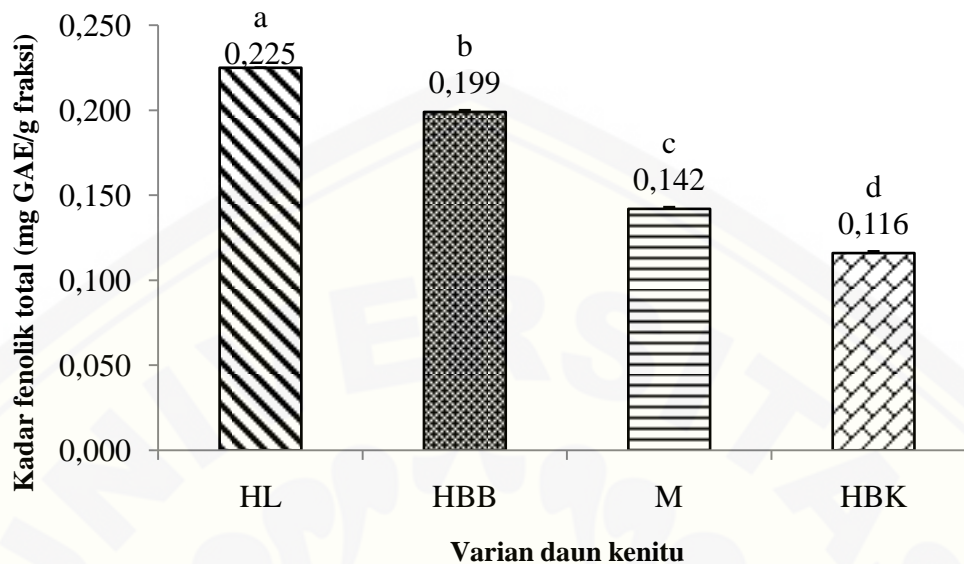
Varian	Tanin	Polifenol	Flavonoid	Steroid	Triterpenoid	Saponin	Alkaloid
M	+	+	+	+	-	+	-
HL	+	+	+	+	-	+	-
HBB	+	+	+	+	-	+	-
HBK	+	+	+	+	-	+	-

4.4 Hasil Uji Kadar Fenolik Total

Asam galat digunakan sebagai standar pembanding pada uji kadar fenolik total sehingga hasil yang diperoleh setara dengan asam galat *Gallic Acid Equivalent* (GAE). Asam galat dibuat dengan rentang konsentrasi 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100 dan 125 µg/ml kemudian dibuat persamaan regresi antara konsentrasi dengan absorbansi. Persamaan regresi asam galat yang diperoleh adalah $y = 0,004 + 0,029x$ dengan R^2 sebesar 0,996.

Dari persamaan regresi tersebut kemudian diketahui kadar fenolik total fraksi etil asetat daun kenitu varian HL, HBB, M dan HBK berturut-turut adalah 0,225; $0,199 \pm 0,001$; $0,142 \pm 0,001$; dan $0,116 \pm 0,001$ mg GAE/g fraksi (Gambar 4.7).

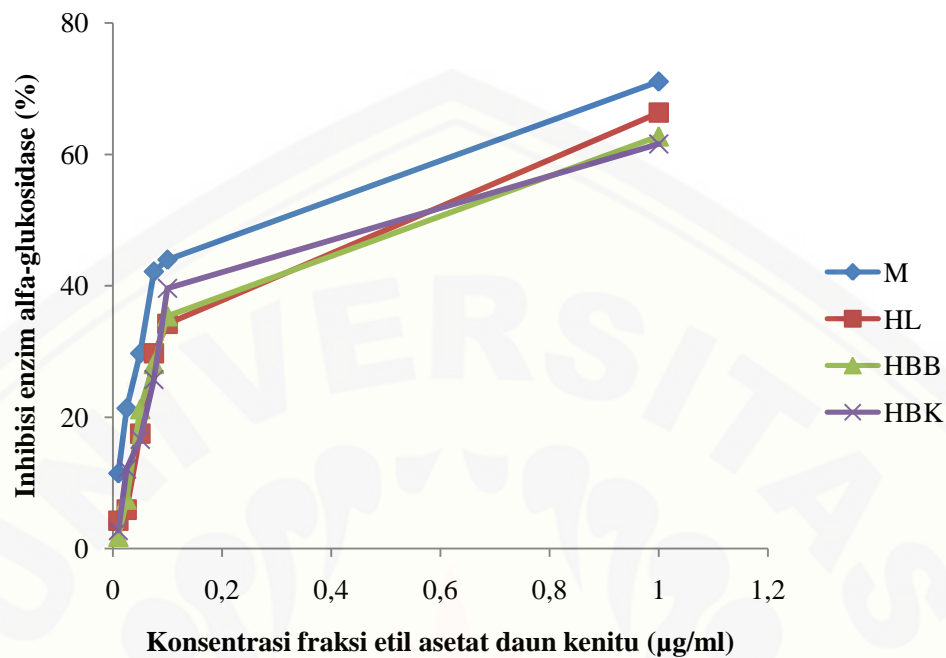
Berdasarkan uji statistik, kadar fenolik total fraksi etil asetat semua varian daun kenitu berbeda signifikan satu sama lain ($p < 0,05$). Urutan kadar fenolik total fraksi etil asetat daun kenitu dari beberapa varian tersebut adalah $HL > HBB > M > HBK$.



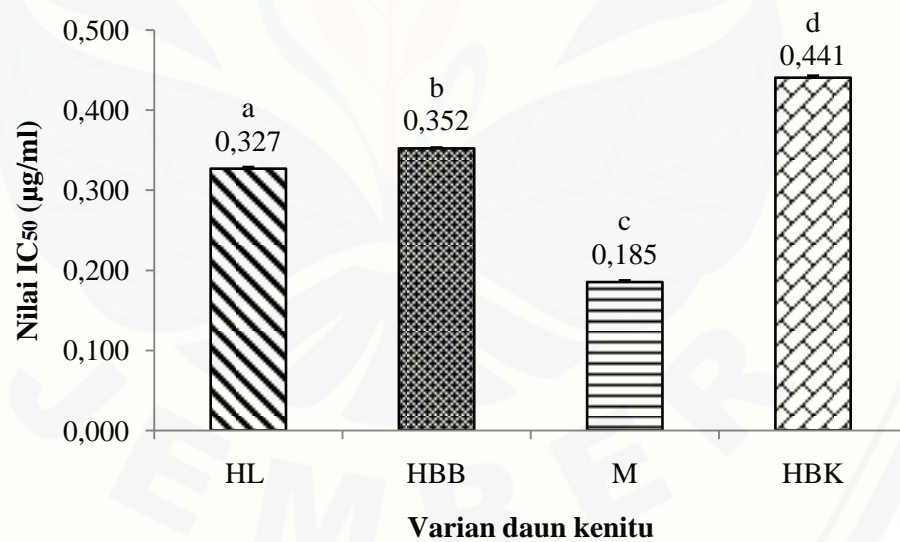
Gambar 4.7 Kadar fenolik total fraksi etil asetat daun kenitu. Data disajikan dengan rata-rata kadar fenolik total \pm SD ($n=3$). Nilai a, b, c, d berbeda signifikan ($p<0,05$) berdasarkan LSD.

4.5 Hasil Uji Aktivitas Inhibisi Alfa-Glukosidase

Sampel fraksi etil asetat daun kenitu dibuat dalam konsentrasi 0,01; 0,025; 0,05; 0,1; dan 1 $\mu\text{g/ml}$. Kemudian dibuat profil konsentrasi dengan inhibisi alfa-glukosidase (%) (Gambar 4.8). Profil konsentrasi terhadap inhibisi alfa-glukosidase (%) yang diperoleh tidak memenuhi persyaratan regresi linier untuk menghitung nilai IC_{50} ($R<0,917$). Nilai IC_{50} fraksi etil asetat daun kenitu dihitung menggunakan analisis probit dengan terlebih dahulu memastikan data berdistribusi normal (Lampiran 2). Dari analisis probit tersebut diperoleh nilai IC_{50} varian M, HL, HBB dan HBK berturut-turut adalah $0,185 \pm 0,002$; $0,327 \pm 0,002$; $0,352 \pm 0,001$; dan $0,372 \pm 0,003 \mu\text{g/ml}$ (Gambar 4.9). Nilai IC_{50} fraksi etil asetat semua varian daun kenitu berbeda signifikan satu sama lain ($p<0,05$) berdasarkan uji LSD.



Gambar 4.8 Profil konsentrasi vs inhibisi enzim alfa-glukosidase (%) fraksi etil asetat daun kenitu, data disajikan dalam bentuk rata-rata (n=3).



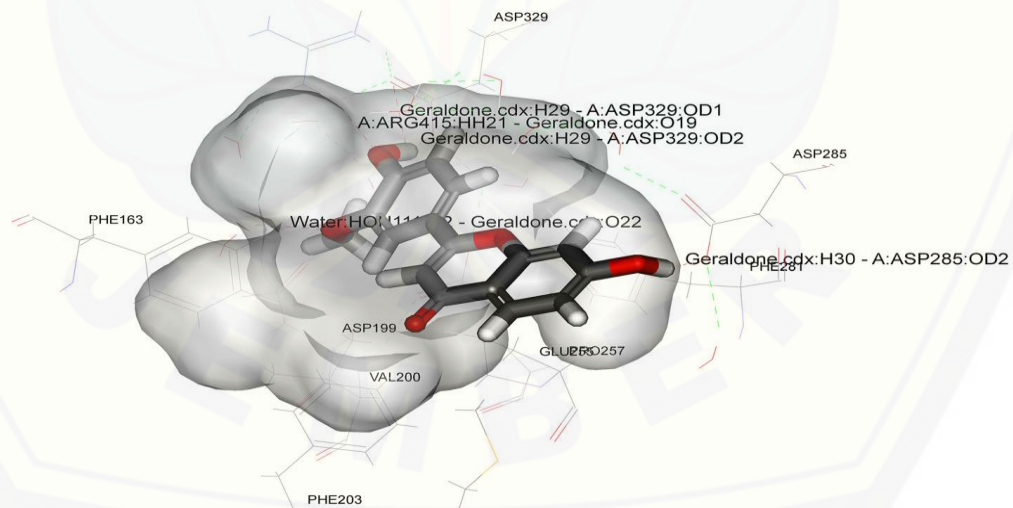
Gambar 4.9 Nilai IC₅₀ fraksi etil asetat daun kenitu menggunakan analisis probit, data disajikan dalam bentuk rata-rata IC₅₀ ± SD (n=3). Nilai a, b, c, dan d berbeda signifikan (p<0,05) berdasarkan uji LSD.

4.7 Pembahasan

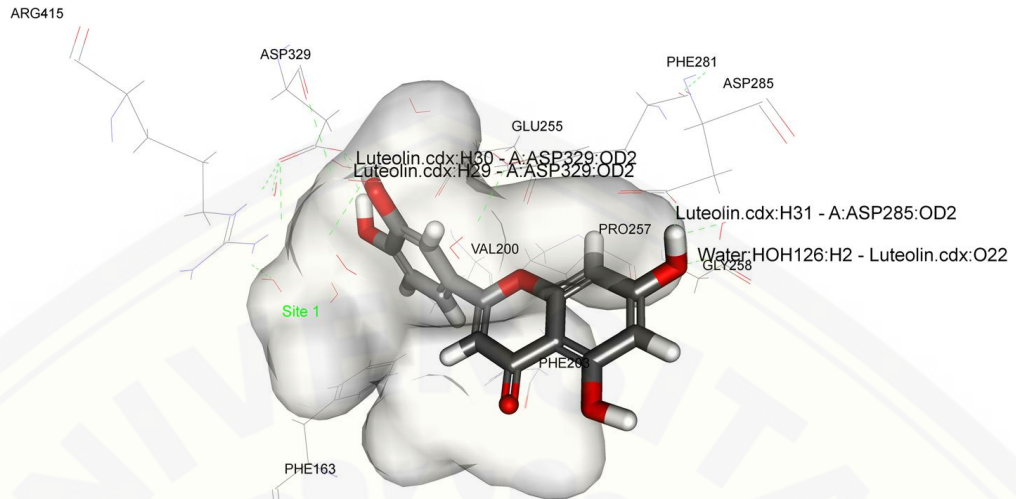
Identifikasi golongan senyawa kimia merupakan metode secara kualitatif yang dilakukan dengan tujuan mengetahui senyawa apa yang terkandung dalam daun kenitu. Koffi (2008), menyatakan adanya kandungan alkaloid, flavonoid, fenol, sterol, dan triterpen dalam ekstrak air daun kenitu. Hasil skrining fitokimia menunjukkan fraksi etil asetat daun kenitu varian M, HL, HBB dan HBK mengandung senyawa kimia yang sama seperti penelitian yang dilakukan oleh Koffi (2008) (Gambar 4.1-4.6), kecuali senyawa alkaloid. Fraksi etil asetat semua varian daun kenitu yang diteliti tidak mengandung alkaloid. Hal ini mungkin disebabkan karena kadar alkaloid fraksi etil asetat daun kenitu yang diteliti sangat kecil sehingga tidak menunjukkan hasil positif pada skrining fitokimia yang dilakukan mengingat Dhar (1965), menyatakan bahwa perbedaan letak geografis dapat menyebabkan bervariasinya kadar alkaloid.

Senyawa fenolik, flavonoid, steroid, tanin dan saponin yang ada dalam fraksi etil asetat daun kenitu diduga memberikan aktivitas inhibisi alfa-glukosidase. Senyawa polifenol menurut Lee *et al* (2014), flavonoid menurut Hong *et al* (2013), saponin menurut Duo *et al* (2013), steroid menurut Kumar *et al* (2014), triterpenoid menurut Dine *et al* (2014), tanin menurut Thinkratok *et al* (2014) memiliki aktivitas inhibisi alfa-glukosidase. Masing-masing senyawa kimia memiliki mekanisme inhibisi alfa-glukosidase yang berbeda dengan senyawa kimia yang lainnya. Karena belum ada penelitian mengenai kandungan senyawa isolat pada fraksi etil asetat daun kenitu, maka kemungkinan mekanisme inhibisi alfa glukosidase dipostulasikan penelitian Ahmed *et al* (2014), yang meneliti mekanisme inhibisi alfa-glukosidase pada 3 senyawa flavonoid, yakni senyawa 4,7-Dihydroxy-3-methoxyflavone; 3,4,7,8-tetrahydroxyflavanone dan 2-(3, 4-dihydroxyphenyl)-5,7-dihydroxy-4H-chromen-4-one. Ketiga senyawa flavonoid ini menghambat aktivitas alfa-glukosidase secara kompetitif dengan membentuk ikatan hidrogen serta berinteraksi secara hidrofobik pada sisi aktif enzim alfa-glukosidase. Hanya saja, ketiga senyawa ini berinteraksi

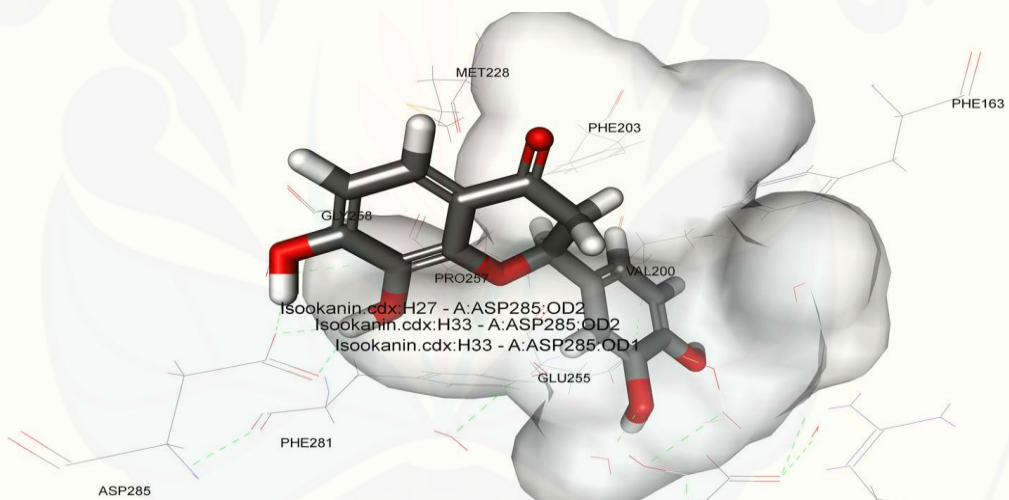
dengan asam amino yang berbeda. Senyawa 4,7-Dihydroxy-3-methoxyflavone; 3,4,7,8-tetrahydroxyflavanone membentuk ikatan hidrogen dengan ASP329 dan ARG 415 dan berinteraksi secara hidrofobik dengan asam amino PHE163, ASP199, VAL200, PHE203, MET228, GLU255, PRO257, ASP285 dan PHE281 (Gambar 4.10). Senyawa 3,4,7,8-tetrahydroxyflavanone membentuk ikatan hidrogen dengan asam amino ASP285 dan berinteraksi secara hidrofobik dengan asam amino ASP329, ARG 415, PHE163, ASP199, VAL200, PHE203, MET228, GLU255, PRO257, dan PHE281 (Gambar 4.11). Senyawa 2-(3, 4-dihydroxyphenyl)-5,7-dihydroxy-4H-chromen-4-one membentuk ikatan hidrogen dengan asam amino ASP329 dan ASP285 dan berinteraksi secara hidrofobik dengan asam amino ARG 415, PHE163, ASP199, VAL200, PHE203, MET228, GLU255, PRO257, dan PHE281 (Gambar 4.12). Berbeda dengan flavonoid, diosgenin yang merupakan senyawa saponin menghambat aktivitas enzim alfa-glukosidase secara kompetitif dengan membentuk ikatan hidrogen dengan asam amino ASP352 and GLU411 dan berinteraksi secara hidrofobik dengan asam amino SER240, TYR158, VAL216, GLN279, ARN442, PHE178, ARG315, PRO312 and PHE314 pada enzim alfa-glukosidase (Gambar 4.13) (Ghosh *et al.*, 2014).



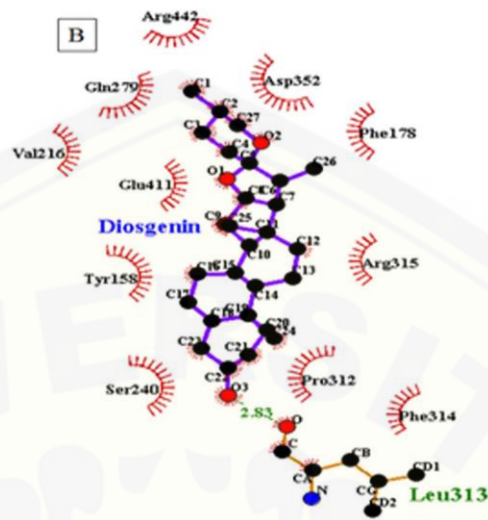
Gambar 4.10 Model ikatan senyawa 4,7-Dihydroxy-3-methoxyflavone pada sisi aktif enzim alfa-glukosidase (Ahmed *et al.*, 2014).



Gambar 4.11 Model ikatan senyawa 3,4,7,8-tetrahydroxyflavanone pada sisi aktif enzim alfa-glukosidase (Ahmed *et al.*, 2014).



Gambar 4.12 Model ikatan senyawa 2-(3, 4-dihydroxyphenyl)-5,7-dihydroxy-4H-chromen-4-one pada sisi aktif enzim alfa-glukosidase (Ahmed *et al.*, 2014).



Gambar 4.13 Model ikatan senyawa diosgenin pada sisi aktif enzim alfa-glukosidase (Ghosh *et al.*, 2014).

Kadar fenolik total fraksi etil asetat daun kenitu varian HL, HBB, M dan HBK berturut-turut 0,225; $0,199 \pm 0,001$; $0,142 \pm 0,001$; dan $0,116 \pm 0,001$ mg GAE/g fraksi (Gambar 4.7). Berdasarkan uji statistik kadar fenolik total fraksi etil asetat daun kenitu diperoleh hasil semua varian menunjukkan kadar fenolik total yang berbeda signifikan satu sama lain ($p < 0,05$). Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Hamouz (2007) serta Ibrahim & Jafaar (2011) bahwa tumbuhan dengan varietas berbeda memiliki perbedaan kadar fenolik total.

Berdasarkan uji inhibisi alfa-glukosidase yang dilakukan, semua varian fraksi etil asetat daun kenitu memiliki aktivitas inhibisi alfa-glukosidase dengan varian M yang memiliki aktivitas inhibisi tertinggi dengan nilai IC_{50} $0,185 \pm 0,002$ $\mu\text{g/ml}$, kemudian varian HL $0,327 \pm 0,002$ $\mu\text{g/ml}$, varian HBB $0,352 \pm 0,001$ $\mu\text{g/ml}$ dan varian HBK memiliki aktivitas inhibisi paling rendah dengan nilai IC_{50} $0,327 \pm 0,001$ $\mu\text{g/ml}$ (Gambar 4.9). Jika dibandingkan dengan penelitian lain yakni uji aktivitas inhibisi alfa-glukosidase ekstrak etanol daun kenitu yang dilakukan oleh Zuhro (2015), dan fraksi etanol daun kenitu yang dilakukan oleh Hikmah (2015) (Tabel 4.4), varian HL, HBB dan HBK fraksi etanol memiliki aktivitas inhibisi tertinggi dibandingkan ekstrak etanol dan fraksi etil asetat. Hal ini mungkin disebabkan

perbedaan kandungan senyawa kimia di dalamnya. Terbukti dengan adanya kandungan triterpenoid pada fraksi etanol daun kenitu (Hikmah, 2015), yang tidak ditemukan pada fraksi etil asetat daun kenitu. Kemungkinan hal tersebut disebabkan senyawa triterpenoid yang ada pada daun kenitu yang diambil dari Jember ini bersifat sangat polar sehingga lebih tertarik ke dalam fraksi etanol dibanding fraksi etil asetat.

Berbeda dengan varian lainnya, varian M fraksi etil asetat daun kenitu memiliki aktivitas inhibisi alfa-glukosidase tertinggi dibanding ekstrak etanol dan fraksi etanol. Aktivitas inhibisi pada varian M ini mungkin disebabkan adanya kandungan senyawa steroid yang kadarnya cukup tinggi. Hal ini dibuktikan dengan hasil skrining fitokimia steroid pada fraksi etil asetat daun kenitu varian M yang memiliki intensitas warna hijau yang jauh lebih pekat dibanding varian lain pada fraksi yang sama. Steroid sendiri terbukti memiliki aktivitas inhibisi alfa-glukosidase (Kumar *et al.*, 2014). Namun, hal tersebut masih memerlukan penelitian lebih lanjut misalnya dengan mengisolasi senyawa-senyawa kimia yang ada dalam fraksi etil asetat daun kenitu kemudian menguji aktivitas inhibisi masing-masing isolat.

Tabel 4.4 Perbandingan nilai IC_{50} daun kenitu ekstrak etanol dan fraksinya

Varian	Nilai IC_{50} ($\mu\text{g/ml}$)		
	Ekstrak etanol 70% (Zuhro, 2015)	Fraksi etanol (Hikmah, 2015)	Fraksi etil asetat
M	$11,86 \pm 0,048$	$0,932 \pm 0,015$	$0,185 \pm 0,002$
HL	$9,465 \pm 0,012$	$0,280 \pm 0,003$	$0,327 \pm 0,003$
HBB	$4,869 \pm 0,018$	$0,287 \pm 0,005$	$0,352 \pm 0,001$
HBK	$5,476 \pm 0,039$	$0,285 \pm 0,005$	$0,372 \pm 0,003$

Data disajikan dengan rata-rata nilai $IC_{50} \pm SD$

BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Kesimpulan dari penelitian ini adalah:

- a. Fraksi etil asetat daun kenitu varian M, HL, HBK dan HBB mengandung senyawa steroid, saponin, polifenol, flavonoid dan tanin.
- b. Fraksi etil asetat daun kenitu varian HL, HBB, M dan HBK memiliki kadar fenolik total berurutan 0,225; $0,199 \pm 0,001$; $0,142 \pm 0,001$; dan $0,116 \pm 0,001$ mg GAE/g fraksi.
- c. Fraksi etil asetat daun kenitu varian HBB, HBK, M dan HL memiliki aktivitas inhibisi alfa-glukosidase.

5.2 Saran

Berdasarkan penelitian ini, perlu adanya penelitian lebih lanjut dengan mengisolasi senyawa kimia yang ada pada fraksi etil asetat daun kenitu sehingga bisa diketahui aktivitas inhibisi enzim alfa-glukosidase dari masing-masing senyawa isolat.

DAFTAR PUSTAKA

- ADA. 2008. Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care*. 31 (1): S55.
- ADA. 2014. Standards of Medical Care in Diabetes. *Diabetes Care*. 37 (1): S14.
- Ahmed, D., Kumar, V., Sharma, M., & Verma, A. 2014. Target Guided Isolation, *In-vitro* Antidiabetic, Antioxidant Activity and Molecular Docking Studies of Some Flavonoids from *Albizzia Lebbeck Benth.* Bark. *BMC Complementary & Alternative Medicine*. 10: 1-12.
- Balitkes. 2013. *Riset Kesehatan Dasar 2013*. Jakarta: Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kementerian Kesehatan RI.
- Bello, A., Aliero, A.A., Saidu, Y., & Muhammad, S. 2011. Phytochemical Screening, Polyphenolic Content and Alpha-Glucosidase Inhibitory Potential of *Leptadenia hastata* (Pers.) Decne. *Nigerian Journal of Basic and Science*. 19 (2): 181-186.
- Besral. 2010. *Pengolahan dan Analisis data-I menggunakan SPSS*. Depok: UI.
- Bischoff, H. 1994. Pharmacology of α -Glucosidase Inhibition. *Europen Journal of Clinical Investigation*. 24 (3): 3-10.
- CDA. 2013. Definition, Classification and Diagnosis of Diabetes, Prediabetes and Metabolic Syndrome. *Canadian Journal of Diabetes*. 37: S8-S11.
- CDC. 2014. National Diabetes Statistics Report.(<http://www.cdc.gov/diabetes>)[15 April 2015].
- Cihan, A. C., Ozcan, B., Tekin, N., & Cokmus, C. 2010. Characterization of a Thermostable α -glucosidase from *Thermodenitrificans*: F84a.
- Cruz, J.F.S. 1991. *Chrysophyllum cainito* L.[Internet] Record from Proseabase. Verheij, E.W.M. and Coronel, R.E. (Editors).PROSEA (Plant Resources of South-East Asia) Foundation, Bogor, Indonesia. <http://www.proseanet.org>. [15 April 2015].

- Dhar, M. R. 1965. *Variation in The Alkaloid Content and Morphology of Four Geographical Races of Raufolevia serpentina Benth.* <http://link.springer.com/article/10.1007/BF03051613#page-1> [24 September 2015].
- Depkes RI. 1989. *Materia Medika Indonesia V.* Jakarta:Depkes RI.
- Depkes RI. 2005. *Pharmaceutical Care untuk Penyakit Diabetes Mellitus.* Jakarta: Direktorat Bina Farmasi Komunitas dan Klinik Depkes RI.
- Depkes RI. 2011. *Farmakope Herbal Indonesia, Suplemen I.* Jakarta: Depkes RI.
- Departemen Farmakologi & Terapi Fakultas Kedokteran UI. 2007. *Farmakologi dan Terapi Edisi 5.* Jakarta: Departemen Farmakologi dan Terapi Fakultas Kedokteran UI.
- Dine, R. S. E., Ma Q., Zeinab, A., Kandil, A., & El-Halawany. 2014. Triterpenes as Uncompetitive Inhibitors of α -Glucosidase from Flowers of *Punica granatum L.* *Natural Product Research: Formerly Natural Product Letters.* 1: 1-4.
- Dou, F., Xi, M., Wang, J., Tian, X., Hong, L., Tang, H., & Wen, A. 2012. α -Glucosidase and α -amylase Inhibitory Activities os Saponins from Traditional Chinese Medicines in the Treatment of Diabetes Mellitus. *Pharmazie.* 68:300-304.
- Ghosh, S., More, P., Derle, A., Patil. A.B., Markad, P., Asok, A., Kumbhar, N., Shaikh, M.L., Ramanamurthy, B., Shinde, V.S., Dhavale, D.D., & Chopade, B.A. 2014. Diosgenin from *Dioscorea bulbifera*: Novel Hit for Treatment of Type II Diabetes Mellitus with Inhibitory Activity Againts α -Amylase and α -Glucosidase. *Plos one:* 9 (9): e106039.
- Hamouz, K., Lachman, J., Cepl, P., Dvorak, P., Pivec, V., & Prasilova, M. 2007. Site Conditions and Genotype Influence Polyphenol Content in Potatoes. *Hort.SCI. (Prague).* 34 (4):132-137.
- Harborne, J. 1996. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan.* Cetakan Kedua. Penerjemah: Padmawinata, K. Dan I. Soediro. Bandung: Penerbit ITB.
- Hidayat, M.A., Umiyah., & Umayah E.U. 2007. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Air dan Ekstrak Metanol Beberapa Varian Buah Kenitu (*Chrysophyllum cainito*) dari Daerah Jember. *Berk. Panel. Hayati.* 13: 45-50.

- Hikmah, Z. 2015. Uji Aktivitas Inhibitor Alfa-glukosidase Fraksi Etanol Daun Kenitu (*Chrysophyllum cainito* L.) Berbagai Varian dari Daerah Jember. *Fakultas Farmasi Universitas Jember* [belum dipublikasikan].
- Hong, H., Li, S., Zhang, X., Ye, W., & Zhang, Q. 2013. Flavonoids with α -glucosidase Inhibitory Activities and Their Contents in the Leaves of *Morus atropurpurea*. *Chinese Medicine*. 8 (19): 1-7.
- Ibrahim, M. H., & Jafaar, H. Z. E. 2011. The Relationship of Nitrogen and C/N Ratio with Secondary Metabolites Levels and Antioxidant Activities in Three Varieties of Malaysian Kacip Fatimah (*Labisia pumila* Blume). *Molecules*. 16: 5514-5526.
- ITIS. 2015. *Chrysophyllum cainito* L. http://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=23811&print_version=PRT&source=t_print [15 April 2015].
- Koffi, N., Amoikon K.E., Tiebre M.S., Kadja B., & 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.
- Kumar, S., Kumar, V., & Prakash, O. 2013. Enzymes Inhibition and Antidiabetic Effect of Isolated Constituents from *Dillenia indica*. *Biomed Research International*. 2013: 1-7.
- Lebovitz, H.E. 1997. Alpha-Glucosidase Inhibitors. *Endocrinology and Metabolism Clinics for North America*. 26 (3): 539-551.
- Lee, S. Y., Mediani, A., Ashikin, N. A. H., Azliana, A.B. S., & Abas, F. 2014. Antioxidant and α -glucosidase inhibitory activities of the leaf and stem of selected traditional medicinal plants. *International Food Research Journal*. 21 (1): 165-172.
- Luo, X., Basile, M.J., & Kennely, E.J. 2002. Polyphenolic Antioxidants from the Fruits of *Chrysophyllum cainito* L. (Star Apple). *Journal Agriculture Food Chemical*. 50: 1379-1382.
- Moradi-Afrapoli, F., Behavar A., Soodabeh S., Yusef A., Mobina M., Maryam M., Reza D. B., Abbas H., Peyman S., Mattlas H., & 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. *Fruits of warm climates*. Miami.
- Orwa, C., Mutua, A., Kindt, R., Jamnadass, R., & Simons, A. 2009. Agroforestry Database: a tree reference and selection guide version 4.0 (<http://www.worldagroforestry.org/treedb2/speciesprofile.php?Spid=524>). [12 Mei 2015].
- Saraswaty, V. 2010. Alpha Glucosidase Inhibitory Activity of *Syzium sp.* *Teknologi Indonesia*. 33 (1): 33-37.
- Shihabudeen, H. M. S., Priscilla, D. H., & Thirumurugan, K. 2011. Cinnamon Extract Inhibits α -glucosidase Activity and Dampens Postprandial Glucose Excursion in Diabetic Rats. *Nutrition & Metabolism*. 8 (46): 1-11.
- Thinkratok, A., Supkamonseni, N., & Srisawat R. 2014. Inhibitory Potential of The Rambutan Rind Extract and Tannin againsts Alpha-Amylase and Alpha-Glucosidase Activities *in vitro*. *Biological and Medicinal Sciences*. 1: 28-29.
- WHO. 2006. Definition and Diagnosis of Diabetes Mellitus and Intemediate Hyperglycaemia. *Report of WHO/ IDF Consultation*.
- Williamson, G. 2013. Possible Effects of Dietary Polyphenols on Sugar Absorption and Digestion. *Moleculer Nutrition Food Research*. 57: 48-57.
- Zuhro, F. 2015. Uji Aktivitas Inhibitor α -Glukosidase Ekstrak Etanol 70% Daun Kenitu. *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 1

1.1 Hasil uji aktivitas inhibitor enzim 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
0,837	0,835	0,834	0,059	0,058	0,058	0,778	0,777	0,776

b. Sampel varian M

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	0,837	0,835	0,834	0,059	0,058	0,058	0,778	0,777	0,776					
0,010	0,744	0,743	0,741	0,055	0,055	0,055	0,689	0,688	0,686	11,440	11,454	11,598	11,497	0,087
0,025	0,669	0,668	0,668	0,057	0,055	0,055	0,612	0,613	0,613	21,337	21,107	21,005	21,150	0,169
0,050	0,605	0,605	0,606	0,058	0,057	0,057	0,547	0,548	0,549	29,692	29,472	29,253	29,472	0,219
0,075	0,508	0,506	0,506	0,058	0,058	0,058	0,450	0,448	0,448	42,159	42,342	42,268	42,257	0,092
0,100	0,498	0,498	0,496	0,062	0,060	0,060	0,436	0,438	0,436	43,959	43,629	43,814	43,801	0,165
1	0,291	0,292	0,293	0,066	0,065	0,065	0,225	0,227	0,228	71,080	70,785	70,619	70,828	0,233

c. Sampel varian 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		
Kontrol negatif	0,837	0,835	0,834	0,059	0,058	0,058	0,778	0,777	0,776					
0,010	0,804	0,804	0,801	0,059	0,059	0,058	0,689	0,688	0,686	4,242	4,118	4,253	4,204	0,074
0,025	0,793	0,790	0,790	0,061	0,059	0,059	0,612	0,613	0,613	5,913	5,920	5,799	5,877	0,068
0,050	0,703	0,702	0,700	0,061	0,060	0,059	0,547	0,548	0,549	17,481	17,375	17,397	17,417	0,056
0,075	0,609	0,604	0,603	0,062	0,062	0,060	0,450	0,448	0,448	29,692	30,245	30,026	29,987	0,278
0,100	0,575	0,572	0,572	0,063	0,063	0,060	0,436	0,438	0,436	34,190	34,492	34,021	34,234	0,238
1	0,327	0,325	0,324	0,065	0,064	0,064	0,225	0,227	0,228	66,324	66,409	66,495	66,409	0,085

d. Sampel varian HBB

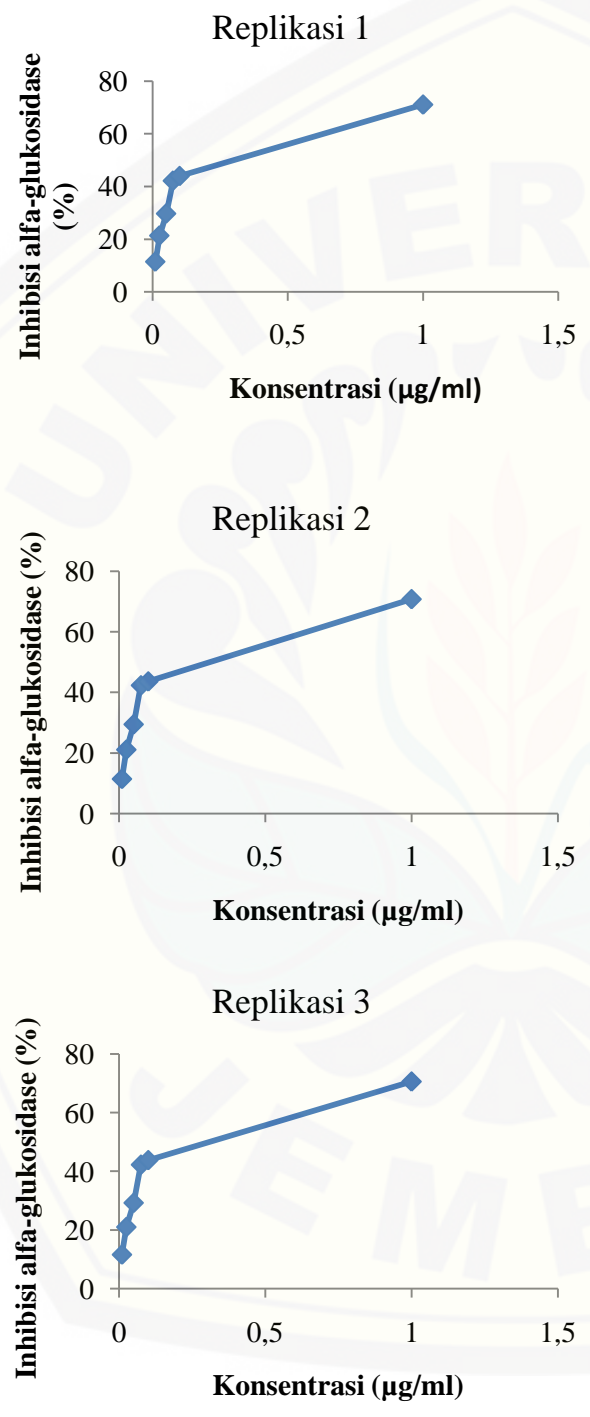
Sampel	Absorbansi			Blanko			Absorbansi-Blanko			Inhibisi (%)			Rata-rata inhibisi (%)	SD
	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3		
Kontrol negatif	0,837	0,835	0,834	0,059	0,058	0,058	0,778	0,777	0,776					
0,010	0,819	0,818	0,817	0,055	0,055	0,055	0,764	0,763	0,762	1,799	1,802	1,804	1,802	0,002
0,025	0,777	0,775	0,772	0,057	0,055	0,055	0,720	0,720	0,717	7,455	7,336	7,603	7,465	0,134
0,050	0,671	0,669	0,667	0,058	0,057	0,057	0,613	0,612	0,610	21,208	21,236	21,392	21,279	0,099
0,075	0,618	0,618	0,615	0,058	0,058	0,058	0,560	0,560	0,557	28,021	27,928	28,222	28,057	0,150
0,100	0,565	0,563	0,562	0,062	0,062	0,060	0,503	0,501	0,502	35,347	35,521	35,309	35,393	0,113
1	0,359	0,358	0,357	0,069	0,068	0,068	0,290	0,290	0,289	62,725	62,677	62,758	62,720	0,0406

e. Sampel varian HBK

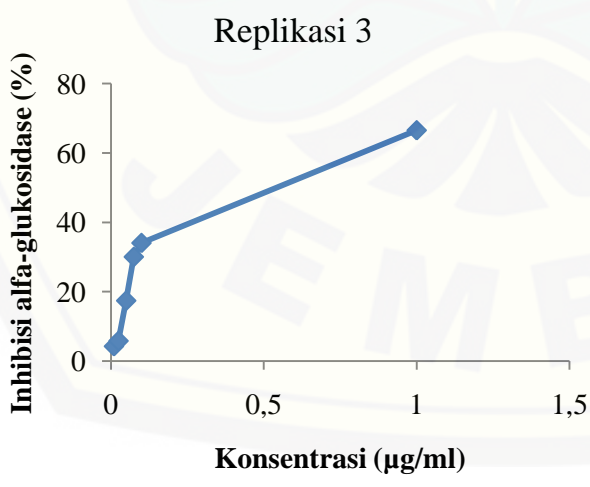
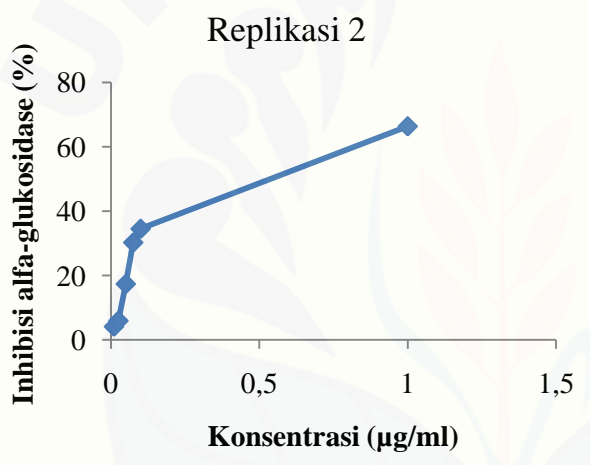
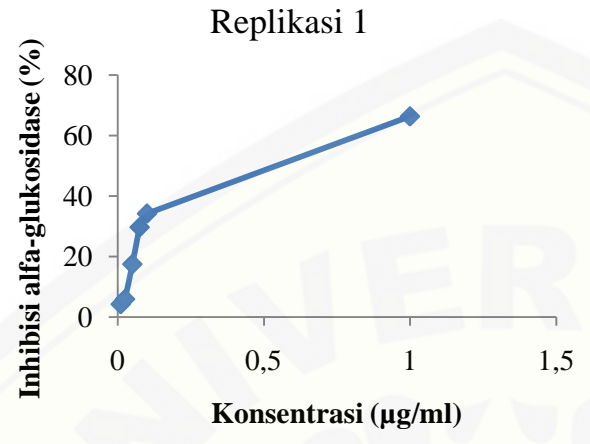
Sampel	Absorbansi			Blanko			Absorbansi-Blanko			Inhibisi (%)			Rata-rata inhibisi (%)	SD
	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3		
Kontrol negatif	0,837	0,835	0,834	0,059	0,058	0,058	0,778	0,777	0,776					
0,010	0,809	0,807	0,806	0,052	0,052	0,050	0,757	0,755	0,756	2,699	2,831	2,577	2,703	0,127
0,025	0,738	0,738	0,736	0,054	0,054	0,053	0,684	0,684	0,683	12,082	11,969	11,985	12,012	0,061
0,050	0,705	0,703	0,702	0,056	0,055	0,055	0,649	0,648	0,648	16,581	16,602	16,495	16,559	0,057
0,075	0,635	0,635	0,642	0,057	0,057	0,057	0,578	0,578	0,585	25,707	25,611	24,613	25,311	0,121
0,100	0,529	0,526	0,526	0,059	0,058	0,059	0,470	0,468	0,467	39,589	39,768	39,820	34,234	0,238
1	0,358	0,358	0,356	0,059	0,058	0,057	0,299	0,300	0,299	61,476	61,390	61,469	61,476	0,089

1.2 Profil konsentrasi vs inhibisi sampel

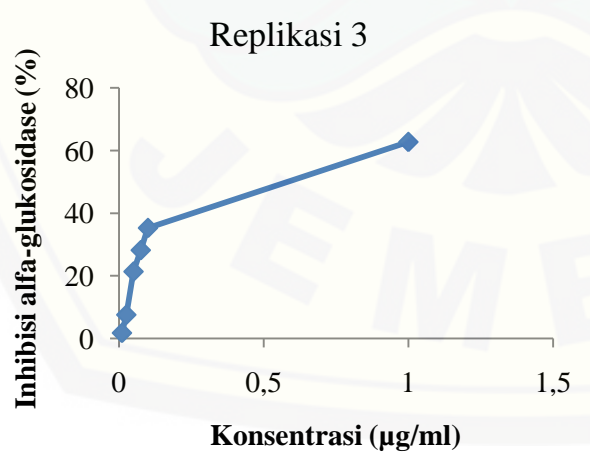
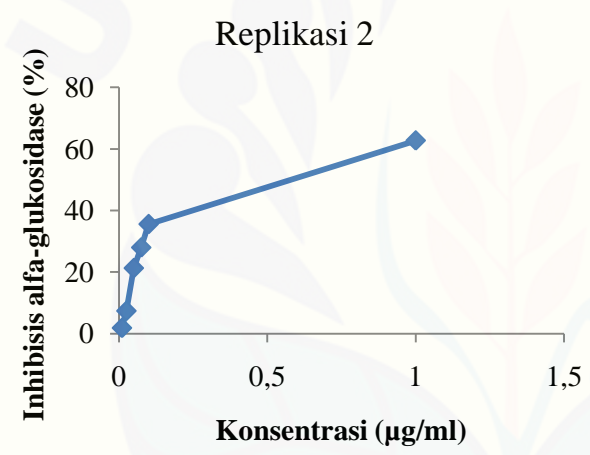
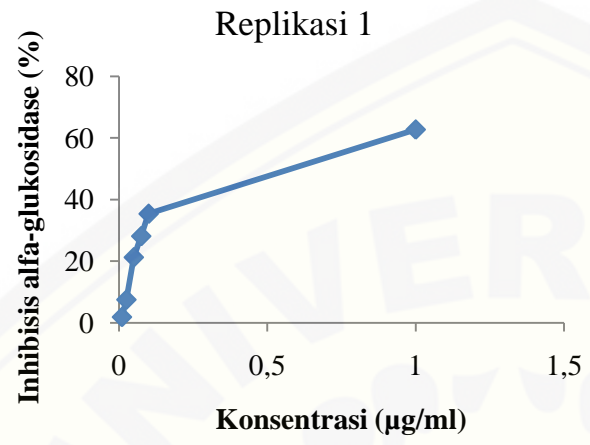
c. Varian M



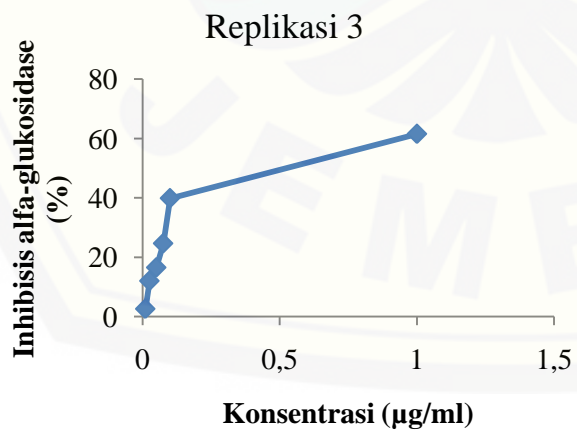
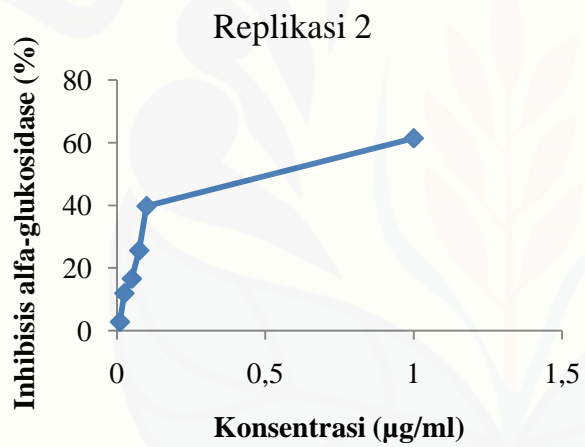
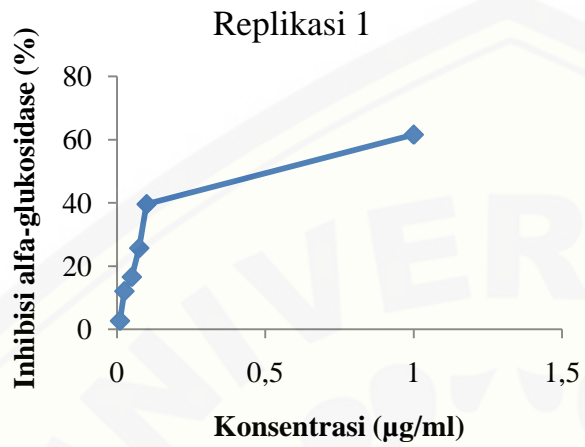
d. Varian HL



e. Varian HBB



f. Varian HBK



Lampiran 2

2.1 Nilai IC_{50} fraksi etil asetat daun kenitu

Varian	Replikasi			IC_{50}	SD	CV
	1	2	3			
M	0,183	0,186	0,187	0,185	0,002	1,123
HL	0,329	0,325	0,327	0,327	0,002	0,612
HBB	0,353	0,353	0,351	0,352	0,001	0,328
HBK	0,370	0,372	0,375	0,372	0,003	0,676
Akarbose	6340	6585	6270	6398,333	165,403	2,585

2.2 Uji normalitas analisis probit

a. Varian M

✓ Replikasi 1

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Unstandardized Residual
N		6
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	,0000000
	Std. Deviation	10,92451033
Most Extreme Differences	Absolute	,192
	Positive	,151
	Negative	-,192
Kolmogorov-Smirnov Z		,471
Asymp. Sig. (2-tailed)		,980

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

✓ Replikasi 2

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Unstandardized Residual
N		6
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	,0000000
	Std. Deviation	10,92305501
Most Extreme Differences	Absolute	,198
	Positive	,155
	Negative	-,198
Kolmogorov-Smirnov Z		,486
Asymp. Sig. (2-tailed)		,972

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

✓ Replikasi 3

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Unstandardized Residual
N		6
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	,0000000
	Std. Deviation	10,92437675
Most Extreme Differences	Absolute	,197
	Positive	,162
	Negative	-,197
Kolmogorov-Smirnov Z		,483
Asymp. Sig. (2-tailed)		,974

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

b. Varian HL

✓ Replikasi 1

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Unstandardized Residual
N		6
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	,0000000
	Std. Deviation	10,45231268
Most Extreme Differences	Absolute	,181
	Positive	,181
	Negative	-,176
Kolmogorov-Smirnov Z		,442
Asymp. Sig. (2-tailed)		,990

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

✓ Replikasi 2

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Unstandardized Residual
N		6
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	,0000000
	Std. Deviation	10,67050037
Most Extreme Differences	Absolute	,189
	Positive	,189
	Negative	-,181
Kolmogorov-Smirnov Z		,462
Asymp. Sig. (2-tailed)		,983

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

✓ Replikasi 3

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Unstandardized Residual
N		6
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	,0000000
	Std. Deviation	10,49227078
Most Extreme Differences	Absolute	,184
	Positive	,184
	Negative	-,183
Kolmogorov-Smirnov Z		,450
Asymp. Sig. (2-tailed)		,988

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

c. Varian HBB

✓ Replikasi 1

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Unstandardized Residual
N		6
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	,0000000
	Std. Deviation	10,98505092
Most Extreme Differences	Absolute	,143
	Positive	,143
	Negative	-,115
Kolmogorov-Smirnov Z		,351
Asymp. Sig. (2-tailed)		1,000

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

✓ Replikasi 2

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Unstandardized Residual
N		6
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	,0000000
	Std. Deviation	11,02944354
Most Extreme Differences	Absolute	,145
	Positive	,145
	Negative	-,111
Kolmogorov-Smirnov Z		,355
Asymp. Sig. (2-tailed)		1,000

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

✓ Replikasi 3

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Unstandardized Residual
N		6
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	,0000000
	Std. Deviation	10,97680297
Most Extreme Differences	Absolute	,142
	Positive	,142
	Negative	-,117
Kolmogorov-Smirnov Z		,348
Asymp. Sig. (2-tailed)		1,000

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

d. Varian HBK

✓ Replikasi 1

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Unstandardized Residual
N		6
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	,0000000
	Std. Deviation	11,08385357
Most Extreme Differences	Absolute	,234
	Positive	,234
	Negative	-,140
Kolmogorov-Smirnov Z		,572
Asymp. Sig. (2-tailed)		,899

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

✓ Replikasi 2

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Unstandardized Residual
N		6
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	,0000000
	Std. Deviation	11,11651544
Most Extreme Differences	Absolute	,233
	Positive	,233
	Negative	-,136
Kolmogorov-Smirnov Z		,572
Asymp. Sig. (2-tailed)		,899

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

✓ Replikasi 3

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Unstandardized Residual
N		6
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	,0000000
	Std. Deviation	11,10555648
Most Extreme Differences	Absolute	,233
	Positive	,233
	Negative	-,144
Kolmogorov-Smirnov Z		,571
Asymp. Sig. (2-tailed)		,900

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

2.3 Analisis probit

a. Varian M

✓ Replikasi 1

Confidence Limits

Probability	95% Confidence Limits for Varian kenitu			95% Confidence Limits for log(Varian kenitu) ^a			
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	
PROBIT	,010	,000	,000	,001	-3,408	-4,031	-2,996
	,020	,001	,000	,002	-3,095	-3,637	-2,735
	,030	,001	,000	,003	-2,897	-3,388	-2,569
	,040	,002	,001	,004	-2,747	-3,201	-2,443
	,050	,002	,001	,005	-2,626	-3,049	-2,341
	,060	,003	,001	,006	-2,522	-2,920	-2,254
	,070	,004	,002	,007	-2,432	-2,806	-2,178
	,080	,004	,002	,008	-2,351	-2,705	-2,109
	,090	,005	,002	,009	-2,277	-2,614	-2,046
	,100	,006	,003	,010	-2,209	-2,529	-1,989
	,150	,012	,007	,018	-1,928	-2,182	-1,747
	,200	,020	,012	,028	-1,704	-1,911	-1,551
	,250	,031	,021	,042	-1,512	-1,683	-1,377
	,300	,046	,033	,061	-1,340	-1,486	-1,214
	,350	,066	,049	,088	-1,180	-1,311	-1,055
	,400	,094	,070	,127	-1,029	-1,153	-,896
	,450	,131	,098	,185	-,882	-1,009	-,734
	,500	,183	,134	,270	-,738	-,873	-,568
	,550	,255	,181	,400	-,594	-,741	-,398
	,600	,357	,245	,601	-,447	-,611	-,221
	,650	,506	,332	,919	-,296	-,479	-,037
	,700	,731	,455	1,445	-,136	-,342	,160
	,750	1,086	,639	2,362	,036	-,195	,373
	,800	1,690	,928	4,095	,228	-,032	,612
	,850	2,827	1,432	7,793	,451	,156	,892
	,900	5,404	2,465	17,557	,733	,392	1,244

✓ Replikasi 2

Confidence Limits							
Probability	95% Confidence Limits for Varian kenitu			95% Confidence Limits for log(Varian kenitu) ^a			
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	
PROBIT	,010	,000	,000	,001	-3,412	-4,038	-2,998
	,020	,001	,000	,002	-3,098	-3,643	-2,736
	,030	,001	,000	,003	-2,898	-3,392	-2,569
	,040	,002	,001	,004	-2,748	-3,204	-2,443
	,050	,002	,001	,005	-2,627	-3,052	-2,341
	,060	,003	,001	,006	-2,523	-2,922	-2,254
	,070	,004	,002	,007	-2,432	-2,808	-2,177
	,080	,004	,002	,008	-2,350	-2,707	-2,108
	,090	,005	,002	,009	-2,276	-2,614	-2,045
	,100	,006	,003	,010	-2,208	-2,530	-1,987
	,150	,012	,007	,018	-1,926	-2,181	-1,745
	,200	,020	,012	,028	-1,701	-1,909	-1,548
	,250	,031	,021	,042	-1,509	-1,680	-1,373
	,300	,046	,033	,062	-1,336	-1,482	-1,210
	,350	,067	,049	,089	-1,175	-1,306	-1,050
	,400	,095	,071	,129	-1,023	-1,148	-.890
	,450	,133	,099	,188	-.876	-1,003	-.727
	,500	,186	,136	,276	-.731	-.867	-.560
	,550	,259	,184	,409	-.587	-.735	-.389
	,600	,363	,248	,615	-.440	-.605	-.211
	,650	,516	,337	,943	-.288	-.472	-.026
	,700	,746	,463	1,486	-.127	-.334	,172
	,750	1,111	,650	2,435	,046	-.187	,386
	,800	1,731	,946	4,231	,238	-.024	,626
	,850	2,902	1,462	8,077	,463	,165	,907

✓ Replikasi 3

Confidence Limits							
Probability	95% Confidence Limits for Varian kenitu			95% Confidence Limits for log(Varian kenitu) ^a			
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	
PROBIT	,010	,000	,000	,001	-3,419	-4,049	-3,002
	,020	,001	,000	,002	-3,104	-3,652	-2,740
	,030	,001	,000	,003	-2,904	-3,401	-2,573
	,040	,002	,001	,004	-2,753	-3,212	-2,447
	,050	,002	,001	,005	-2,631	-3,058	-2,344
	,060	,003	,001	,006	-2,527	-2,928	-2,256
	,070	,004	,002	,007	-2,435	-2,814	-2,179
	,080	,004	,002	,008	-2,353	-2,712	-2,110
	,090	,005	,002	,009	-2,279	-2,619	-2,047
	,100	,006	,003	,010	-2,211	-2,534	-1,989
	,150	,012	,007	,018	-1,927	-2,184	-1,745
	,200	,020	,012	,028	-1,702	-1,910	-1,548
	,250	,031	,021	,042	-1,509	-1,681	-1,373
	,300	,046	,033	,062	-1,335	-1,481	-1,209
	,350	,067	,050	,089	-1,174	-1,305	-1,048
	,400	,095	,071	,130	-1,022	-1,147	-.887
	,450	,134	,100	,189	-.874	-1,002	-.724
	,500	,187	,137	,278	-.729	-.865	-.556
	,550	,261	,185	,413	-.583	-.733	-.384
	,600	,367	,250	,623	-.436	-.602	-.206
	,650	,521	,340	,956	-.283	-.469	-.019
	,700	,754	,467	1,510	-.122	-.331	,179
	,750	1,125	,656	2,480	,051	-.183	,394
	,800	1,756	,956	4,320	,244	-.019	,636
	,850	2,949	1,479	8,272	,470	,170	,918
	,900	5,664	2,555	18,776	,753	,407	1,274

b. Varian HL
 ✓ Replikasi 1

		Confidence Limits					
Probability		95% Confidence Limits for Varian kenitu			95% Confidence Limits for log(Varian kenitu) ^b		
		Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT ^a	,010	,002	,000	,007	-2,603	-3,438	-2,169
	,020	,004	,001	,011	-2,355	-3,071	-1,976
	,030	,006	,001	,014	-2,197	-2,839	-1,853
	,040	,008	,002	,017	-2,078	-2,666	-1,759
	,050	,010	,003	,021	-1,982	-2,525	-1,682
	,060	,013	,004	,024	-1,900	-2,406	-1,616
	,070	,015	,005	,028	-1,828	-2,303	-1,558
	,080	,017	,006	,031	-1,763	-2,210	-1,505
	,090	,020	,007	,035	-1,705	-2,127	-1,456
	,100	,022	,009	,039	-1,651	-2,051	-1,411
	,150	,037	,018	,061	-1,427	-1,742	-1,217
	,200	,056	,031	,089	-1,250	-1,509	-1,050
	,250	,080	,048	,128	-1,097	-1,322	-,894
	,300	,109	,068	,182	-,961	-1,166	-,741
	,350	,147	,093	,258	-,834	-1,034	-,589
	,400	,193	,121	,367	-,714	-,916	-,435
	,450	,253	,155	,524	-,597	-,808	-,281
	,500	,329	,196	,752	-,483	-,707	-,124
	,550	,428	,246	1,088	-,368	-,610	-,036
	,600	,560	,307	1,591	-,252	-,513	,202
	,650	,739	,385	2,370	-,131	-,415	,375
	,700	,989	,486	3,619	-,005	-,313	,559
	,750	1,355	,624	5,732	,132	-,205	,758
	,800	1,925	,822	9,595	,284	-,085	,982
	,850	2,897	1,129	17,539	,462	,053	1,244
	,900	4,846	1,678	37,583	,685	,225	1,575

✓ Replikasi 2

		Confidence Limits					
Probability		95% Confidence Limits for Varian kenitu			95% Confidence Limits for log(Varian kenitu) ^b		
		Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT ^a	,010	,003	,000	,007	-2,601	-3,480	-2,156
	,020	,004	,001	,011	-2,354	-3,107	-1,966
	,030	,006	,001	,014	-2,197	-2,872	-1,844
	,040	,008	,002	,018	-2,079	-2,696	-1,751
	,050	,010	,003	,021	-1,982	-2,554	-1,675
	,060	,013	,004	,025	-1,901	-2,433	-1,609
	,070	,015	,005	,028	-1,829	-2,328	-1,551
	,080	,017	,006	,032	-1,765	-2,234	-1,499
	,090	,020	,007	,035	-1,706	-2,150	-1,451
	,100	,022	,008	,039	-1,652	-2,073	-1,406
	,150	,037	,017	,061	-1,430	-1,760	-1,213
	,200	,056	,030	,090	-1,253	-1,524	-1,046
	,250	,079	,046	,129	-1,101	-1,335	-,890
	,300	,108	,066	,183	-,965	-1,178	-,737
	,350	,145	,090	,261	-,838	-1,045	-,583
	,400	,191	,118	,372	-,718	-,927	-,429
	,450	,250	,152	,534	-,602	-,820	-,273
	,500	,325	,191	,769	-,488	-,719	-,114
	,550	,423	,239	1,117	-,374	-,621	,048
	,600	,552	,298	1,643	-,258	-,525	,216
	,650	,727	,373	2,459	-,138	-,428	,391
	,700	,973	,471	3,776	-,012	-,327	,577
	,750	1,332	,603	6,019	,124	-,220	,780
	,800	1,889	,791	10,147	,276	-,102	1,006
	,850	2,839	1,084	18,706	,453	,035	1,272
	,900	4,741	1,604	40,515	,676	,205	1,608

✓ Replikasi 3

Confidence Limits							
Probability	95% Confidence Limits for Varian kenitu			95% Confidence Limits for log(Varian kenitu) ^b			
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	
PROBIT ^a	,010	,003	,000	,007	-2,598	-3,445	-2,161
	,020	,004	,001	,011	-2,351	-3,077	-1,970
	,030	,006	,001	,014	-2,194	-2,845	-1,847
	,040	,008	,002	,018	-2,075	-2,671	-1,754
	,050	,010	,003	,021	-1,979	-2,531	-1,678
	,060	,013	,004	,024	-1,897	-2,411	-1,612
	,070	,015	,005	,028	-1,826	-2,308	-1,554
	,080	,017	,006	,032	-1,762	-2,215	-1,501
	,090	,020	,007	,035	-1,703	-2,131	-1,453
	,100	,022	,009	,039	-1,649	-2,055	-1,408
	,150	,037	,018	,061	-1,427	-1,746	-1,214
	,200	,056	,031	,090	-1,250	-1,512	-1,048
	,250	,080	,047	,128	-1,098	-1,325	-.892
	,300	,109	,068	,182	-.962	-1,170	-.739
	,350	,146	,092	,259	-.835	-1,037	-.587
	,400	,193	,120	,369	-.715	-.920	-.434
	,450	,252	,154	,526	-.599	-.812	-.279
	,500	,327	,194	,756	-.485	-.712	-.122
	,550	,425	,243	1,093	-.371	-.614	,039
	,600	,556	,303	1,601	-.255	-.518	,204
	,650	,732	,380	2,385	-.135	-.420	,378
	,700	,980	,480	3,645	-.009	-.319	,562
	,750	1,341	,615	5,780	,127	-.211	,762
	,800	1,902	,808	9,684	,279	-.093	,986
	,850	2,858	1,108	17,727	,456	,045	1,249
	,900	4,772	1,643	38,047	,679	,216	1,580

c. Varian HBB

✓ Replikasi 1

Confidence Limits							
Probability	95% Confidence Limits for Varian kenitu			95% Confidence Limits for log(Varian kenitu) ^b			
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	
PROBIT ^a	,010	,002	,000	,007	-2,657	-3,804	-2,143
	,020	,004	,000	,011	-2,399	-3,380	-1,951
	,030	,006	,001	,015	-2,235	-3,112	-1,828
	,040	,008	,001	,018	-2,112	-2,912	-1,735
	,050	,010	,002	,022	-2,011	-2,750	-1,658
	,060	,012	,002	,026	-1,926	-2,612	-1,592
	,070	,014	,003	,029	-1,851	-2,493	-1,533
	,080	,016	,004	,033	-1,784	-2,386	-1,479
	,090	,019	,005	,037	-1,723	-2,290	-1,430
	,100	,022	,006	,041	-1,667	-2,202	-1,384
	,150	,037	,014	,065	-1,435	-1,847	-1,185
	,200	,056	,026	,098	-1,250	-1,582	-1,011
	,250	,081	,042	,144	-1,092	-1,372	-.843
	,300	,112	,063	,212	-.950	-1,201	-.675
	,350	,152	,087	,314	-.818	-1,058	-.503
	,400	,203	,116	,469	-.693	-.934	-.329
	,450	,268	,150	,705	-.572	-.823	-.152
	,500	,353	,191	1,068	-.453	-.719	,029
	,550	,464	,240	1,634	-.334	-.620	,213
	,600	,613	,300	2,535	-.213	-.522	,404
	,650	,817	,377	4,015	-.088	-.424	,604
	,700	1,107	,477	6,547	,044	-.322	,816
	,750	1,536	,612	11,139	,186	-.213	1,047
	,800	2,212	,805	20,201	,345	-.094	1,305
	,850	3,384	1,104	40,567	,529	,043	1,608
	,900	5,777	1,639	97,883	,762	,214	1,991

✓ Replikasi 2

Confidence Limits							
Probability	95% Confidence Limits for Varian kenitu			95% Confidence Limits for log(Varian kenitu) ^b			
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	
PROBIT ^a	,010	,002	,000	,007	-2,656	-3,824	-2,138
	,020	,004	,000	,011	-2,398	-3,397	-1,947
	,030	,006	,001	,015	-2,234	-3,127	-1,824
	,040	,008	,001	,019	-2,111	-2,925	-1,731
	,050	,010	,002	,022	-2,010	-2,762	-1,654
	,060	,012	,002	,026	-1,925	-2,624	-1,588
	,070	,014	,003	,030	-1,850	-2,503	-1,529
	,080	,016	,004	,033	-1,783	-2,396	-1,476
	,090	,019	,005	,037	-1,722	-2,299	-1,427
	,100	,022	,006	,042	-1,666	-2,211	-1,381
	,150	,037	,014	,066	-1,434	-1,854	-1,182
	,200	,056	,026	,098	-1,250	-1,586	-1,007
	,250	,081	,042	,145	-1,091	-1,375	-,839
	,300	,112	,063	,214	-,949	-1,204	-,670
	,350	,152	,087	,318	-,817	-1,061	-,498
	,400	,203	,116	,476	-,692	-,937	-,323
	,450	,268	,150	,717	-,572	-,825	-,144
	,500	,353	,190	1,089	-,453	-,722	,037
	,550	,464	,239	1,671	-,334	-,622	,223
	,600	,613	,299	2,600	-,213	-,525	,415
	,650	,817	,374	4,130	-,088	-,427	,616
	,700	1,107	,473	6,758	,044	-,325	,830
	,750	1,535	,607	11,541	,186	-,217	1,062
	,800	2,211	,798	21,017	,345	-,098	1,323
	,850	3,381	1,094	42,411	,529	,039	1,627
	,900	5,770	1,620	102,970	,761	,210	2,013

✓ Replikasi 3

Confidence Limits							
Probability	95% Confidence Limits for Varian kenitu			95% Confidence Limits for log(Varian kenitu) ^b			
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	
PROBIT ^a	,010	,002	,000	,007	-2,664	-3,813	-2,149
	,020	,004	,000	,011	-2,405	-3,388	-1,957
	,030	,006	,001	,015	-2,241	-3,119	-1,834
	,040	,008	,001	,018	-2,118	-2,919	-1,740
	,050	,010	,002	,022	-2,017	-2,756	-1,663
	,060	,012	,002	,025	-1,931	-2,619	-1,597
	,070	,014	,003	,029	-1,856	-2,499	-1,538
	,080	,016	,004	,033	-1,789	-2,392	-1,484
	,090	,019	,005	,037	-1,728	-2,296	-1,435
	,100	,021	,006	,041	-1,672	-2,208	-1,389
	,150	,036	,014	,065	-1,439	-1,852	-1,190
	,200	,056	,026	,097	-1,254	-1,586	-1,015
	,250	,080	,042	,142	-1,095	-1,375	-,847
	,300	,112	,063	,210	-,953	-1,204	-,679
	,350	,151	,087	,311	-,821	-1,061	-,507
	,400	,202	,116	,465	-,695	-,936	-,333
	,450	,267	,150	,699	-,574	-,825	-,155
	,500	,351	,190	1,060	-,455	-,721	,025
	,550	,462	,239	1,622	-,335	-,621	,210
	,600	,611	,300	2,519	-,214	-,523	,401
	,650	,816	,376	3,992	-,089	-,424	,601
	,700	1,106	,476	6,514	,044	-,322	,814
	,750	1,535	,612	11,092	,186	-,213	1,045
	,800	2,213	,805	20,135	,345	-,094	1,304
	,850	3,388	1,106	40,475	,530	,044	1,607
	,900	5,792	1,643	97,793	,763	,216	1,990

d. Varian HBK
 ✓ Replikasi 1

Confidence Limits							
Probability	95% Confidence Limits for Varian kenitu			95% Confidence Limits for log(Varian kenitu) ^b			
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	
PROBIT ^a	,010	,002	,000	,006	-2,771	-4,112	-2,206
	,020	,003	,000	,010	-2,497	-3,642	-2,006
	,030	,005	,000	,013	-2,323	-3,345	-1,878
	,040	,006	,001	,017	-2,192	-3,123	-1,780
	,050	,008	,001	,020	-2,086	-2,943	-1,700
	,060	,010	,002	,023	-1,995	-2,791	-1,631
	,070	,012	,002	,027	-1,916	-2,658	-1,569
	,080	,014	,003	,031	-1,845	-2,540	-1,514
	,090	,017	,004	,034	-1,780	-2,433	-1,462
	,100	,019	,005	,038	-1,721	-2,336	-1,415
	,150	,034	,011	,062	-1,474	-1,942	-1,206
	,200	,053	,023	,095	-1,278	-1,648	-1,022
	,250	,078	,038	,144	-1,110	-1,416	-,842
	,300	,110	,059	,219	-,959	-1,230	-,660
	,350	,152	,084	,338	-,819	-1,077	-,472
	,400	,206	,113	,526	-,687	-,945	-,279
	,450	,277	,149	,827	-,558	-,828	-,083
	,500	,370	,191	1,311	-,432	-,719	,118
	,550	,495	,243	2,101	-,305	-,615	,322
	,600	,665	,307	3,420	-,177	-,513	,534
	,650	,903	,389	5,695	-,044	-,410	,755
	,700	1,246	,497	9,793	,096	-,304	,991
	,750	1,764	,644	17,650	,247	-,191	1,247
	,800	2,598	,858	34,136	,415	-,067	1,533
	,850	4,079	1,193	73,896	,611	,077	1,869
	,900	7,196	1,800	196,009	,857	,255	2,292

✓ Replikasi 2

Confidence Limits							
Probability	95% Confidence Limits for Varian kenitu			95% Confidence Limits for log(Varian kenitu) ^b			
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	
PROBIT ^a	,010	,002	,000	,006	-2,779	-4,143	-2,208
	,020	,003	,000	,010	-2,503	-3,668	-2,008
	,030	,005	,000	,013	-2,329	-3,368	-1,879
	,040	,006	,001	,017	-2,197	-3,144	-1,781
	,050	,008	,001	,020	-2,090	-2,962	-1,701
	,060	,010	,002	,023	-1,999	-2,808	-1,632
	,070	,012	,002	,027	-1,920	-2,674	-1,570
	,080	,014	,003	,031	-1,848	-2,555	-1,514
	,090	,016	,004	,034	-1,783	-2,447	-1,463
	,100	,019	,004	,038	-1,723	-2,348	-1,415
	,150	,033	,011	,062	-1,476	-1,951	-1,205
	,200	,053	,022	,095	-1,279	-1,653	-1,020
	,250	,078	,038	,145	-1,110	-1,420	-,840
	,300	,110	,059	,221	-,959	-1,233	-,656
	,350	,152	,084	,342	-,818	-1,078	-,466
	,400	,207	,113	,536	-,685	-,946	-,271
	,450	,278	,149	,846	-,556	-,828	-,073
	,500	,372	,191	1,347	-,429	-,719	,129
	,550	,499	,243	2,170	-,302	-,615	,336
	,600	,671	,307	3,550	-,173	-,512	,550
	,650	,912	,390	5,943	-,040	-,409	,774
	,700	1,261	,498	10,277	,101	-,303	1,012
	,750	1,787	,647	18,636	,252	-,189	1,270
	,800	2,636	,861	36,290	,421	-,065	1,560
	,850	4,147	1,198	79,190	,618	,079	1,899
	,900	7,334	1,810	212,178	,865	,258	2,327

✓ Replikasi 3

		Confidence Limits					
Probability		95% Confidence Limits for Varian kenitu			95% Confidence Limits for log(Varian kenitu) ^b		
		Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT ^a	,010	,002	,000	,006	-2,771	-4,112	-2,206
	,020	,003	,000	,010	-2,497	-3,642	-2,006
	,030	,005	,000	,013	-2,323	-3,345	-1,878
	,040	,006	,001	,017	-2,192	-3,123	-1,780
	,050	,008	,001	,020	-2,086	-2,943	-1,700
	,060	,010	,002	,023	-1,995	-2,791	-1,631
	,070	,012	,002	,027	-1,916	-2,658	-1,569
	,080	,014	,003	,031	-1,845	-2,540	-1,514
	,090	,017	,004	,034	-1,780	-2,433	-1,462
	,100	,019	,005	,038	-1,721	-2,336	-1,415
	,150	,034	,011	,062	-1,474	-1,942	-1,206
	,200	,053	,023	,095	-1,278	-1,648	-1,022
	,250	,078	,038	,144	-1,110	-1,416	-,842
	,300	,110	,059	,219	-,959	-1,230	-,660
	,350	,152	,084	,338	-,819	-1,077	-,472
	,400	,206	,113	,526	-,687	-,945	-,279
	,450	,277	,149	,827	-,558	-,828	-,083
	,500	,370	,191	1,311	-,432	-,719	,118
	,550	,495	,243	2,101	-,305	-,615	,322
	,600	,665	,307	3,420	-,177	-,513	,534
	,650	,903	,389	5,695	-,044	-,410	,755
	,700	1,246	,497	9,793	,096	-,304	,991
	,750	1,764	,644	17,650	,247	-,191	1,247
	,800	2,598	,858	34,136	,415	-,067	1,533
	,850	4,079	1,193	73,896	,611	,077	1,869
	,900	7,196	1,800	196,009	,857	,255	2,292

Lampiran 3

Uji *one way anova* IC₅₀ fraksi etil asetat daun kenitu

Descriptives

ic50

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
M	3	,18533	,002082	,001202	,18016	,19050	,183	,187
HL	3	,32700	,002000	,001155	,32203	,33197	,325	,329
HBB	3	,35233	,001155	,000667	,34946	,35520	,351	,353
HBK	3	,37233	,002517	,001453	,36608	,37858	,370	,375
Total	12	,30925	,076604	,022114	,26058	,35792	,183	,375

Test of Homogeneity of Variances

ic50

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
,458	3	8	,719

ANOVA

ic50

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	,065	3	,022	5376,521	,000
Within Groups	,000	8	,000		
Total	,065	11			

Post Hoc Tests
Multiple Comparisons

ic50

LSD

(I) varian	(J) varian	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
M	HL	-,141667*	,001633	,000	-,14543	-,13790
	— HBB	-,167000*	,001633	,000	-,17077	-,16323
	HBK	-,187000*	,001633	,000	-,19077	-,18323
HL	M	,141667*	,001633	,000	,13790	,14543
	— HBB	-,025333*	,001633	,000	-,02910	-,02157
	HBK	-,045333*	,001633	,000	-,04910	-,04157
— HBB	M	,167000*	,001633	,000	,16323	,17077
	— HL	,025333*	,001633	,000	,02157	,02910
	HBK	-,020000*	,001633	,000	-,02377	-,01623
HBK	M	,187000*	,001633	,000	,18323	,19077
	— HL	,045333*	,001633	,000	,04157	,04910
	HBB	,020000*	,001633	,000	,01623	,02377

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

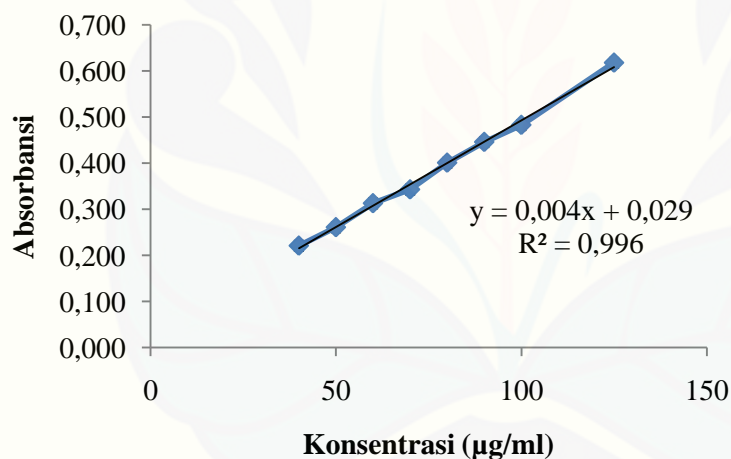
Lampiran 4

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	0,665	0,665	0,665	0,621	0,621	0,611	0,618
100	0,529	0,526	0,526	0,485	0,482	0,482	0,483
90	0,490	0,490	0,489	0,446	0,446	0,445	0,446
80	0,444	0,446	0,446	0,400	0,402	0,402	0,401
70	0,387	0,388	0,386	0,343	0,344	0,342	0,343
60	0,356	0,356	0,359	0,312	0,312	0,315	0,313
50	0,304	0,305	0,305	0,260	0,261	0,261	0,261
40	0,265	0,266	0,265	0,221	0,222	0,221	0,221

4.2 Persamaan regresi asam galat



4.3 Sampel fraksi etil asetat daun kenitu

Varian	Absorbansi			Absorbansi-blanko			Rata-rata absorbansi	SD	CV
	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3			
M	0,351	0,354	0,354	0,311	0,314	0,314	0,313	0,002	0,553
HL	0,520	0,519	0,519	0,480	0,479	0,479	0,479	0,001	0,120
HBB	0,468	0,465	0,428	0,425	0,428	0,300	0,427	0,002	0,406
HBK	0,300	0,299	0,260	0,259	0,261	0,512	0,260	0,001	0,385

4.4 Perhitungan pengenceran uji inhibisi alfa-glukosidase

Pengenceran sampel uji dilakukan sebagai berikut:

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

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

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

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

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

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

$$\frac{0,25 \text{ ml}}{5 \text{ ml}} \times 10 = 0,05 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

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

$$\frac{0,5 \text{ ml}}{5 \text{ ml}} \times 0,1 = 0,001 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

Lampiran 5

Perhitungan kadar fenolik total

a. Pengenceran sampel

$$\frac{10 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 = 1000 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{2,5 \text{ ml}}{5 \text{ ml}} \times 1000 = 500 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

b. Perhitungan Kadar fenolik total sampel

➤ Varian M (500 $\mu\text{g/ml}$)

$$\text{Absorbansi sampel} = 0,313$$

$$y = 0,004x + 0,029$$

$$0,313 = 0,004x + 0,029$$

$$x = 71 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{71 \text{ } \mu\text{g}}{1000 \text{ } \mu\text{l}} = \frac{x}{30 \text{ } \mu\text{l}}$$

$$x = 2,13 \text{ } \mu\text{g}/30 \mu\text{l}$$

$$\frac{2,13 \text{ } \mu\text{g}}{30 \text{ } \mu\text{l}} = \frac{x}{5000 \text{ } \mu\text{l}}$$

$$x = 355 \text{ } \mu\text{g}/5 \text{ ml}$$

$$\frac{355 \text{ } \mu\text{g}}{2,5 \text{ ml}} = \frac{x}{10 \text{ ml}}$$

$$x = 1420 \text{ } \mu\text{g}/10 \text{ ml} = 0,142 \text{ mg GAE/g fraksi}$$

➤ Varian HL (500 $\mu\text{g/ml}$)

$$\text{Absorbansi sampel} = 0,479$$

$$y = 0,004x + 0,029$$

$$0,479 = 0,004x + 0,029$$

$$x = 112,5 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{112,5 \mu\text{g}}{1000 \mu\text{l}} = \frac{x}{30 \mu\text{l}}$$

$$x = 3,375 \mu\text{g}/30\mu\text{l}$$

$$\frac{3,375 \mu\text{g}}{30 \mu\text{l}} = \frac{x}{5000 \mu\text{l}}$$

$$x = 562,5 \mu\text{g}/5\text{ml}$$

$$\frac{562,5 \mu\text{g}}{2,5 \text{ ml}} = \frac{x}{10 \text{ ml}}$$

$$x = 2250 \mu\text{g}/10\text{ml} = 0,225 \text{ mg GAE/g fraksi}$$

➤ Varian HBB (500 $\mu\text{g}/\text{ml}$)

Absorbansi sampel = 0,427

$$y = 0,004x + 0,029$$

$$0,427 = 0,004x + 0,029$$

$$x = 99,5 \mu\text{g}/\text{ml}$$

$$\frac{99,5 \mu\text{g}}{1000 \mu\text{l}} = \frac{x}{30 \mu\text{l}}$$

$$x = 2,985 \mu\text{g}/30\mu\text{l}$$

$$\frac{2,985 \mu\text{g}}{30 \mu\text{l}} = \frac{x}{5000 \mu\text{l}}$$

$$x = 497,5 \mu\text{g}/5\text{ml}$$

$$\frac{497,5 \mu\text{g}}{2,5 \text{ ml}} = \frac{x}{10 \text{ ml}}$$

$$x = 1990 \mu\text{g}/10\text{ml} = 0,199 \text{ mg GAE/g fraksi}$$

➤ Varian HBK (500 $\mu\text{g}/\text{ml}$)

Absorbansi sampel = 0,260

$$y = 0,004x + 0,029$$

$$0,260 = 0,004x + 0,029$$

$$x = 57,75 \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{57,75 \mu\text{g}}{1000 \mu\text{l}} = \frac{x}{30 \mu\text{l}}$$

$$x = 1,7325 \mu\text{g}/30\mu\text{l}$$

$$\frac{1,7325 \mu\text{g}}{30 \mu\text{l}} = \frac{x}{5000 \mu\text{l}}$$

$$x = 288,75 \mu\text{g}/5\text{ml}$$

$$\frac{288,75 \mu\text{g}}{2,5 \text{ ml}} = \frac{x}{10 \text{ ml}}$$

$$x = 116 \mu\text{g}/10\text{ml} = 0,116 \text{ mg GAE/g fraksi}$$

Lampiran 6

Uji *one way annova* kadar fenolik total

Test of Homogeneity of Variances

Kadar fenolik total

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2,133	3	8	,174

ANOVA

Kadar fenolik total

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	,023	3	,008	9209,433	,000
Within Groups	,000	8	,000		
Total	,023	11			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Kadar fenolik total

LSD

(I) Varian daun kenitu	(J) Varian daun kenitu	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
HL	HBB	,026333*	,000745	,000	,02461	,02805
	M	,083333*	,000745	,000	,08161	,08505
	HBK	,110000*	,000745	,000	,10828	,11172
HBB	HL	-,026333*	,000745	,000	-,02805	-,02461
	M	,057000*	,000745	,000	,05528	,05872
	HBK	,083667*	,000745	,000	,08195	,08539
M	HL	-,083333*	,000745	,000	-,08505	-,08161
	HBB	-,057000*	,000745	,000	-,05872	-,05528
	HBK	,026667*	,000745	,000	,02495	,02839
HBK	HL	-,110000*	,000745	,000	-,11172	-,10828
	HBB	-,083667*	,000745	,000	-,08539	-,08195
	M	-,026667*	,000745	,000	-,02839	-,02495

Multiple Comparisons

Kadar fenolik total

LSD

(I) Varian daun kenitu	(J) Varian daun kenitu	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
HL	HBB	,026333*	,000745	,000	,02461	,02805
	M	,083333*	,000745	,000	,08161	,08505
	HBK	,110000*	,000745	,000	,10828	,11172
HBB	HL	-,026333*	,000745	,000	-,02805	-,02461
	M	,057000*	,000745	,000	,05528	,05872
	HBK	,083667*	,000745	,000	,08195	,08539
M	HL	-,083333*	,000745	,000	-,08505	-,08161
	HBB	-,057000*	,000745	,000	-,05872	-,05528
	HBK	,026667*	,000745	,000	,02495	,02839
HBK	HL	-,110000*	,000745	,000	-,11172	-,10828
	HBB	-,083667*	,000745	,000	-,08539	-,08195
	M	-,026667*	,000745	,000	-,02839	-,02495

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

Lampiran 7

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 : 1022101018

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