



**UJI AKTIVITAS ANTIHIPERLIPIDEMIA DAN
ANTIOKSIDAN EKSTRAK DAUN BAYUR (*Pterospermum
javanicum* Jungh.) DENGAN METODE PENGHAMBATAN
LIPASE DAN DPPH *IN VITRO***

SKRIPSI

Oleh :

Putri Nur Rahmawati

NIM. 122210101007

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS JEMBER**

2016



**UJI AKTIVITAS ANTIHIPERLIPIDEMIA DAN
ANTIOKSIDAN EKSTRAK DAUN BAYUR (*Pterospermum
javanicum* Jungh.) DENGAN METODE PENGHAMBATAN
LIPASE DAN DPPH *IN VITRO***

SKRIPSI

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

Oleh :

Putri Nur Rahmawati

NIM. 122210101007

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS JEMBER**

2016

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk :

1. Alloh SWT Yang Maha Segala-galanya
2. Orang tua tercinta, ibu Umu Zurroh dan bapak Seger atas segala do'a, jirih payah, dukungan, pengorbanan, kepercayaan, semangat, motivasi, cinta dan kasih sayang yang telah diberikan selama ini. Semoga Alloh selalu melimpahkan rahmat dan rejeki serta membalas dengan surga-Nya.
3. Kakakku Hendra Ermawanto beserta kakak iparku Dewi Ayu Rahadiani yang tak henti-hentinya memberikan motivasi dan semangat selama ini.
4. Seluruh guru-guru tercinta yang telah mendidik saya selama dibangku SDN Karangrejo 02 Jember, SMP Negeri 3 Jember, SMA Negeri 2 Jember dan juga bapak ibu dosen tercinta Fakultas Farmasi Universitas Jember yang telah membimbing dan memberikan ilmunya selama menempuh pendidikan Srata Satu ini.
5. Seluruh saudara asuh tercinta Farmasi angkatan 2012 "Petrok Rollas"
6. Almamater Fakultas Farmasi Universitas Jember.

MOTTO

Ada 3 unsur utama dari tasawwuf yang dapat menuntun seseorang untuk bertasawwuf dari tingkat rendah menuju peningkatan diri secara bertahap, yaitu:

1. Al Istiqomah: yang berarti; tekun, telaten, terus-menerus tidak bosan-bosan mengamalkan apa saja yang dapat diamalkan Mungkin baca Yasin tiap malam Jum'at, mungkin baca Istighfar sekian kali dalam setiap malam, dan sebagainya.
2. Az Zuhd: yang berarti terlepas dari ketergantungan hati/batin dengan harta benda kekuasaan, kesenangan, dan sebagainya, yang ada, di tangannya sendiri, apalagi yang ada di tangan orang lain. Tidak tergantung berbeda dengan tidak memiliki, berbeda, dengan tidak punya. Seorang "Zahid" bisa saja kaya, tetapi hatinya tidak tergantung pada kekayaannya. Barang siapa yang tidak berputus asa karena sesuatu yang terlepas dari tangannya dan tidak bergembira, (melewati batas) dengan sesuatu yang diterimanya dari Allah maka dia sudah mendapatkan zuhud pada, kedua belahujungnya.
3. Al Faqir: artinya, selalu menyadari kebutuhan diri kepada Allah. Kesadaran yang mendalam dan terus-menerus, tentang "dirinya membutuhkan Allah" tidak selalu ada pada setiap orang. Pada suatu saat kesadarannya, akan tinggi tetapi saat lain kesadarannya menurun.

(K.H. Achmad Shiddiq, Jember)

Dekatlah kepada Allah..! kalau tidak bisa, dekatlah dengan orang yang dekat dengan-Nya. Serta Jadilah Diri Aku Hanyalah bukan Aku Adalah.

(K.H. Hamim Jazuli "Gus Miek", Kediri)

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Putri Nur Rahmawati

NIM : 122210101007

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul Uji Aktivitas Antihiperlipidemia dan Antioksidan Ekstrak Daun Bayur (*Pterospermum javanicum* Jungh.) dengan Metode Penghambatan Lipase dan DPPH *In Vitro* adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali jika dalam pengutipan substansi disebutkan sumbernya, dan belum pernah diajukan pada institusi manapun, serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi,

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

Jember, 2016
Yang Menyatakan

Putri Nur Rahmawati

SKRIPSI

**UJI AKTIVITAS ANTIHIPERLIPIDEMIA DAN ANTIOKSIDAN
EKSTRAK DAUN BAYUR (*Pterospermum javanicum* Jungh.) DENGAN
METODE PENGHAMBATAN LIPASE DAN DPPH *IN VITRO***

Oleh

Putri Nur Rahmawati

NIM 122210101007

Pembimbing :

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

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

PENGESAHAN

Skripsi berjudul "Uji Aktivitas Antihiperlipidemia dan Antioksidan Ekstrak Daun Bayur (*Pterospermum javanicum* Jungh.) dengan Metode Penghambatan Lipase dan DPPH *In Vitro*" telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Farmasi Universitas Jember pada:

Hari : Kamis
Tanggal : 11 Agustus 2016
Tempat : Fakultas Farmasi Universitas Jember

Tim Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama,



Endah Puspitasari, S.Farm., M.Sc., Apt.
NIP. 19810723006042002

Dosen Pembimbing Anggota,



Prof. Tri Agus Siswanto, SP., M.Agr., Ph.D
NIP. 197008101998041001

Tim Penguji

Dosen Penguji I,



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

Dosen Penguji II,



Dwi Nurahmanto, S.Farm., Apt., M.Sc.
NIP. 198401242008011001

Mengesahkan,

Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember

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

RINGKASAN

Uji Aktivitas Antihiperlipidemia dan Antioksidan Ekstrak Daun bayur (*Pterospermum javanicum* Jungh.) dengan Metode Penghambatan Lipase dan DPPH *In Vitro*; Putri Nur Rahmawati, 122210101007; 2016: 71 halaman; Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Kesejahteraan sosial di era globalisasi saat ini semakin meningkat sehingga menyebabkan pola konsumsi masyarakat bergeser pada produk makanan siap saji yang mengandung banyak lemak dan kurang serat. Kondisi tersebut dapat menyebabkan masalah hiperlipidemia hingga komplikasi aterosklerosis yaitu penyakit kardiovaskular. Penelitian beberapa tumbuhan *Sterculiaceae* seperti kulit batang bayur (*Pterospermum javanicum*) menunjukkan dengan kandungan fenolik dan flavonoidnya terbukti memiliki aktivitas antihiperlipidemia dengan menghambat kerja lipase dan memiliki aktivitas antioksidan. Di sisi lain penelitian tentang daun bayur belum pernah dilakukan. Tujuan dari penelitian ini adalah membandingkan kandungan fenolik dan flavonoid, mengetahui aktivitas penghambatan lipase, dan mengetahui aktivitas antioksidan dari ekstrak n-heksana (EHB), etil asetat (EEB), dan metanol daun bayur (EMB).

Tahapan penelitian ini yaitu ekstraksi maserasi bertingkat daun bayur menggunakan pelarut dengan tingkat kepolaran berbeda yaitu n-heksana (non polar), etil asetat (semi polar), dan metanol (polar), analisis kandungan total fenolik, analisis kandungan total flavonoid, uji aktivitas penghambatan lipase, dan uji aktivitas antioksidan. Analisis kandungan total fenolik dilakukan dengan metode *Folin-Ciocalteu* dengan pembentukan kompleks molibdenum-tungsen berwarna biru. Analisis kandungan total flavonoid dilakukan dengan metode kolorimetri $AlCl_3$ dengan pembentukan senyawa quino berwarna kuning. Uji aktivitas penghambatan lipase dilakukan berdasarkan hidrolisis substrat p-NPB dengan kontrol positif orlistat. Sedangkan uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode peredaman radikal DPPH yang ditandai dengan perubahan warna ungu menjadi kuning dan kontrol positif vitamin C.

Total fenolik EHB, EEB, dan EMB berturut turut adalah $36,089 \pm 0,193$, $54,535 \pm 0,377$; dan $41,5 \pm 0,129$ mg GAE/g ekstrak dan total flavonoid berturut-

turut adalah $63,933 \pm 0,808$; $118,8 \pm 0,6$; dan $107,667 \pm 0,611$ mg QE/g ekstrak. Total fenolik dan flavonoid tertinggi ditunjukkan pada EEB. Uji aktivitas penghambatan lipase dan peredaman radikal DPPH masing-masing ekstrak ditentukan dengan nilai IC_{50} . Semakin kecil nilai IC_{50} maka semakin besar daya penghambatan lipase dan peredaman radikal DPPH-nya. Daya penghambatan lipase terbesar terdapat pada EEB, EMB, dan yang terkecil EHB dengan nilai IC_{50} berturut-turut adalah $1,844 \pm 0,092$; $19,610 \pm 0,810$; dan $34,149 \pm 0,883$ $\mu\text{g/mL}$. Daya penghambatan lipase diketahui berbanding lurus dengan total fenolik dan flavonoidnya. Semakin besar total senyawa fenolik dan flavonoid maka semakin besar daya penghambatan lipasenyawa. Sedangkan daya peredaman radikal DPPH terbesar terdapat pada EMB, EEB, dan yang terkecil EHB dengan nilai IC_{50} berturut-turut adalah $23,998 \pm 0,437$; $76,667 \pm 1,370$; dan $199,225 \pm 3,984$ $\mu\text{g/mL}$. Total fenolik, total flavonoid, nilai IC_{50} penghambatan lipase dan peredaman radikal DPPH ketiga ekstrak daun bayur menunjukkan perbedaan bermakna antar sampel ekstrak dianalisis dengan *One Way Anova* (LSD, $p < 0,05$).

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh, EEB dengan penghambatan lipase paling baik diharapkan mampu menghambat aktivitas lipase pada proses hidrolisis lemak dalam tubuh, dan EMB dengan aktivitas antioksidan paling baik diharapkan mampu menghambat proses oksidasi LDL yang merupakan penyebab utama terjadinya komplikasi aterosklerosis, yaitu penyakit kardovaskular. Senyawa fenolik daun bayur seperti asam galat dan tanin diduga berperan dalam penghambatan lipase dan antioksidan. Sedangkan flavonoid seperti kaempferol, luteolin, kuersetin, dan rutin diduga berperan dalam penghambatan lipase dan antioksidan. Luteoin, kuersetin, rutin dan tanin diketahui memiliki tipe penghambatan non kompetitif terhadap aktivitas enzim lipase. Senyawa lain yang diduga juga berperan dalam aktivitas penghambatan lipase dan antioksidan adalah tanin, terpenoid, saponin, steroid, alkaloid, dan glikosida. Oleh karena itu perlu adanya penelitian lebih lanjut terkait identifikasi dan isolasi senyawa kimia ekstrak daun bayur, sehingga dapat diketahui senyawa kimia yang benar-benar berperan dalam aktivitas antihiperlipidemia dan antioksidan tersebut.

PRAKATA

Segala puji bagi Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul Uji Aktivitas Antihiperlipidemia dan Antioksidan Ekstrak Daun Bayur (*Pterospermum javanicum* Jungh.) dengan Metode Penghambatan Lipase dan Dpph *In Vitro*. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat dalam menyelesaikan pendidikan srata satu (S1) pada Fakultas Farmasi Universitas Jember.

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

1. Ibu Lestyo Wulandari, S.Si., Apt., M.Farm. selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember;
2. Ibu Endah Puspitasari, S.Farm., M.Sc., Apt. selaku Dosen Pembimbing Utama dan Prof. Tri Agus Siswoyo, SP., M.Agr., Ph.D selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah meluangkan waktu, membantu, dan memberikan bimbingan, ide, masukan serta perbaikan dalam penyusunan skripsi ini;
3. Ibu Indah Yulia Ningsih, S.Farm., M.Farm., Apt. selaku Dosen Penguji I, dan selaku Dwi Nurahmanto, S.Farm., Apt., M.Sc Dosen Penguji II yang telah banyak memberikan saran dan kritik membangun dalam penyusunan skripsi ini;
4. Bapak Nuri, S.Si., M.Si., Apt. yang telah meluangkan waktu untuk memberi masukan, perhatian, dan bimbingannya;
5. Seluruh dosen Fakultas Farmasi Universitas Jember yang telah memberi ilmu, berbagai pengalaman dan selalu memotivasi penulis selama masa perkuliahan; staff dan karyawan atas segala bantuan yang diberikan selama penulis menjadi mahasiswa Fakultas Farmasi Universitas Jember;
6. Orang tuaku tercinta, Ibu Umu Zurroh dan bapak Seger atas segala doa, jirih payah, dukungan, pengorbanan, kepercayaan, semangat, motivasi, cinta dan kasih sayang yang telah diberikan kepada penulis selama ini.

7. Kakakku dan kakak ipar tercinta Hendra Ermawanto dan Dewi Ayu Rahadiani yang tak henti-hentinya memberikan semangat.
8. Rekan kerja selama penelitian Aulia Aditya, Firdausia Irawanda Rachmi, dan teman-teman Meru Betiri Group yang telah membantu proses penelitian, rekan-rekan divisi nutraceutical and pharmaceutical CDAST atas segala kerjasamanya dan bantuannya.
9. Sahabat-sahabat tercinta seperjuangan farmasi angkatan 2012 Petrok Rollas, Grup Lima, PIPAO, Abu-abu, Cintaku, KKN 114 yang selalu setia memberi semangat.
10. Semua pihak yang telah membantu dan tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

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

Jember, 2016

Penulis

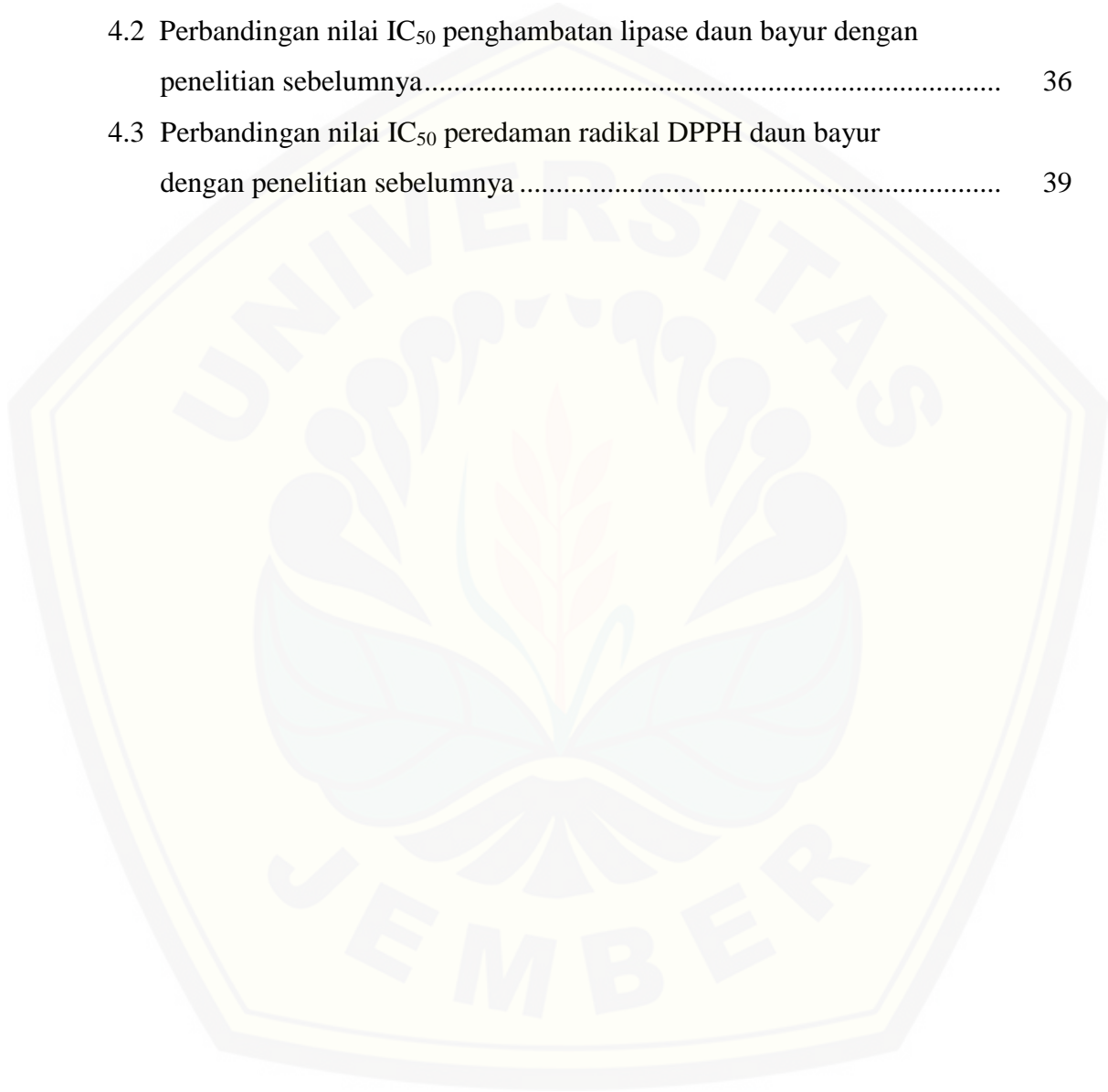
DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSEMBAHAN	ii
HALAMAN MOTTO	iii
HALAMAN PERNYATAAN.....	iv
HALAMAN PEMBIMBING	v
HALAMAN PENGESAHAN.....	vi
RINGKASAN	vii
PRAKATA	ix
DAFTAR ISI.....	xi
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR.....	xiv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xv
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Manfaat Penelitian	4
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1 Tumbuhan bayur	5
2.1.1 Klasifikasi Tumbuhan Bayur	5
2.1.2 Deskripsi Tumbuhan Bayur.....	5
2.1.3 Kandungan dan Efek Farmakologi Tumbuhan Bayur	6
2.2 Senyawa Fenolik dan Flavonoid	7
2.3 Lemak.....	11
2.4 Metabolisme Lemak.....	12
2.5 Hiperlipidemia.....	16
2.6 Komplikasi Hiperlipidemia dan Peran Antioksidan	18
BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN	22
3.1 Jenis Penelitian	22

3.2 Waktu dan Tempat Penelitian	22
3.3 Variabel Penelitian.....	22
3.4 Rancangan Penelitian	23
3.4.1 Definisi Operasional.....	23
3.4.2 Rancangan Percobaan	24
3.4.3 Alur Penelitian	24
3.5 Alat dan Bahan.....	16
3.5.1 Alat.....	20
3.5.2 Bahan	20
3.6 Prosedur Penelitian.....	26
3.6.1 Perlakuan Awal Sampel.....	26
3.6.2 Ekstraksi.....	26
3.6.3 Analisis Kandungan Total Fenolik	27
3.6.4 Analisis Kandungan Total Flavonoid	27
3.6.5 Pengujian Penghambatan Lipase.....	28
3.6.6 Pengujian Peredaman Radikal DPPH	29
3.6.7 Analisis Data	30
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	31
4.2 Analisis Kandungan Total Fenolik dan Flavonoid	32
4.1.1 Analisis Kandungan Total Fenolik	32
4.1.2 Analisis Kandungan Total Flavonoid.....	33
4.2 Aktivitas Penghambatan Lipase	34
4.3 Aktivitas Peredaman Radikal DPPH	37
BAB 5. PENUTUP	40
5.1 Kesimpulan.....	40
5.2 Saran.....	40
DAFTAR PUSTAKA	41
LAMPIRAN.....	48

DAFTAR TABEL

	Halaman
2.1 Klasifikasi kolesterol total, LDL, HDL, dan trigliserida	17
4.1 Rendemen maserasi ekstrak daun bayur	31
4.2 Perbandingan nilai IC ₅₀ penghambatan lipase daun bayur dengan penelitian sebelumnya.....	36
4.3 Perbandingan nilai IC ₅₀ peredaman radikal DPPH daun bayur dengan penelitian sebelumnya	39



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Daun bayur	6
2.2 Struktur asam galat.....	8
2.3 Reaksi pembentukan ion fenolat dari asam galat.....	8
2.4 Reaksi reagen Folin Cioclateu dengan senyawa fenolik.....	9
2.5 Struktur dasar flavonoid.....	9
2.6 Reaksi pembentukan kompleks kuersetin dengan aluminium.....	10
2.7 Reaksi hidrolisis triasilgliserol menjadi 2-monoasilgliserol dan asam lemak	13
2.8 Metabolisme lemak pada saat kenyang.....	14
2.9 Reaksi hidrolisis enzimatis p-NPB oleh lipase.....	16
2.10 Reaksi DPPH radikal menjadi DPPH stabil.....	21
3.1 Diagram rancangan percobaan.....	24
3.2 Alur penelitian.....	25
4.1 Kandungan total fenolik ekstrak n-heksana (EHB), etil asetat (EEB) dan metanol daun bayur (EMB) dalam mg GAE/g ekstrak.....	32
4.2 Kandungan total flavonoid ekstrak n-heksana (EHB), etil asetat (EEB) dan metanol daun bayur (EMB) dalam mg GAE/g ekstrak.....	33
4.3 Penghambatan lipase ekstrak n-heksana (EHB), etil asetat (EEB) dan metanol daun bayur (EMB)	35
4.4 Nilai IC ₅₀ penghambatan lipase ekstrak n-heksana (EHB), etil asetat (EEB) dan metanol daun bayur (EMB) berdasarkan konsentrasi ekstrak (µg/mL)	36
4.5 Peredaman radikal DPPH ekstrak n-heksana (EHB), etil asetat (EEB) dan metanol daun bayur (EMB)	37
4.6 Nilai IC ₅₀ peredaman radikal DPPH ekstrak n-heksana (EHB), etil asetat (EEB) dan metanol daun bayur (EMB) berdasarkan konsentrasi ekstrak (µg/mL).....	38

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A. Validasi Tumbuhan Bayur	48
B. Perhitungan Rendemen Maserasi	49
C. Analisis Kandungan Total Fenolik	49
C.1 Standar Asam Galat.....	49
C.1.1 Preparasi Standar Asam Galat	49
C.1.2 Kurva Standar Asam Galat	50
C.2 Total Fenolik Ekstrak	50
C.2.1 Preparasi Ekstrak Uji	50
C.2.2 Pengujian Total Fenolik Ekstrak	51
C.2.3 Perhitungan Total Fenolik Ekstrak	51
D. Analisis Kandungan Total Flavonoid.....	52
D.1 Standar Kuersetin	52
D.1.1 Preparasi Standar Kuersetin	52
D.1.2 Kurva Standar Kuersetin	52
D.2 Total Flavonoid Ekstrak	53
D.2.1 Preparasi Ekstrak Uji.....	53
D.2.2 Pengujian Total Flavonoid Ekstrak	53
D.2.3 Perhitungan Total Flavonoid Ekstrak	53
E. Uji Aktivitas Penghambatan Lipase	55
E.1 Preparasi Kontrol Positif Orlistat.....	55
E.2 Preparasi Ekstrak Uji.....	56
E.3 Pengujian Penghambatan Lipase.....	56
E.3.1 Kontrol Positif Orlistat.....	56
E.3.2 Ekstrak Uji	57
E.4 Perhitungan Nilai IC₅₀ Penghambatan Lipase.....	57
F. Uji Aktivitas Peredaman Radikal DPPH	60
F.1 Preparasi Kontrol Positif Asam Askorbat.....	60
F.2 Preparasi Ekstrak Uji.....	61

F.3 Pengujian Peredaman Radikal DPPH	62
F.3.1 Kontrol Positif Asam Askorbat.....	62
F.3.2 Ekstrak Uji	62
F.4 Perhitungan Nilai IC₅₀ Peredaman Radikal DPPH.....	63
G. Hasil Uji Statistik Kandungan Total Fenolik, Flavonoid, Nilai IC₅₀	
 Penghambatan Lipase dan Nilai IC₅₀ Peredaman Radikal DPPH Ekstrak	
 Daun Bayur.....	66
G.1 Kandungan Total Fenolik Ekstrak.....	66
G.2 Kandungan Total Flavonoid Ekstrak.....	67
G.3 Nilai IC₅₀ Penghambatan Lipase	69
G.4 Nilai IC₅₀ Peredaman Radikal DPPH.....	70

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kesejahteraan sosial di era globalisasi saat ini semakin meningkat seiring berjalannya waktu, sehingga menyebabkan terjadinya pergeseran pola konsumsi pangan masyarakat kepada produk makanan siap saji, yang mengandung banyak lemak dan kurang serat. Kondisi ini dapat menyebabkan penumpukan lemak dalam tubuh hingga menimbulkan permasalahan kegemukan atau obesitas. Data WHO tahun 2014, sekitar 2,8 juta orang meninggal setiap tahun akibat obesitas. Berdasarkan data Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) prevalensi obesitas penduduk laki-laki dewasa pada tahun 2007 sebesar 13,9%, tahun 2010 sebesar 7,8%, dan meningkat pada tahun 2013 sebesar 19,7%. Sedangkan prevalensi obesitas penduduk perempuan dewasa pada tahun 2007 sebesar 13,9%, tahun 2010 sebesar 15,5%, dan meningkat pada tahun 2013 sebesar 32,9% (Riskesdas, 2013). Obesitas secara langsung dapat menjadi penyebab utama terjadinya hiperlipidemia, karena menghasilkan kolesterol endogen lebih dari orang normal (Kamsu *et al.*, 2005).

Hiperlipidemia adalah kelainan metabolisme lipid yang ditandai dengan kelainan (peningkatan atau penurunan) fraksi lipid dalam plasma. Kelainan fraksi lipid yang utama adalah peningkatan kadar kolesterol total, LDL trigliserida, dan penurunan kadar kolesterol HDL. Metabolisme lipid terjadi di dalam usus halus dengan bantuan enzim lipase pankreas. Lipase pankreas merupakan enzim yang dihasilkan oleh pankreas dan bertugas menghidrolisis lemak menjadi gliserol dan asam lemak bebas. Semakin banyak lipid yang diserap oleh tubuh, maka semakin meningkat aktivitas lipase pankreas dalam proses hidrolisis. Sehingga gliserol dan asam lemak bebas pun meningkat dan terjadi penumpukan lemak dalam tubuh (Marks *et al.*, 2000). Hal tersebut dapat berpengaruh pada masalah hiperlipidemia. Cara utama untuk mengatasi masalah hiperlipidemia selain dengan menghindari makanan tinggi lemak juga dapat dengan menghambat aktivitas enzim lipase yang merupakan peran dari antihiperlipidemia.

Hiperlipidemia dikatakan sebagai faktor risiko utama untuk perkembangan dini aterosklerosis yang berdampak pada komplikasi kardiovaskular (Noorani *et al.*, 2011). Aterosklerosis adalah pengerasan pembuluh darah serta berkurangnya elastisitas dan kelenturan dinding pembuluh darah. Proses aterosklerosis diawali dengan kelainan pada lapisan endotel, pembentukan sel busa (*foam cell*) dan kerak lemak (*fatty streaks*), sehingga menimbulkan lumen arteri menyempit, mengakibatkan berkurangnya aliran darah, terjadi trombosis hingga dinding arteri melemah dan terjadi pendarahan (Muttaqin, 2008). Pembentukan sel busa dan kerak lemak terjadi karena penangkapan kolesterol LDL di makrofag oleh SR-A (*reseptor scavenger-A*) pada hiperlipidemia yang telah mengalami oksidasi (Marks *et al.*, 2000). Oksidasi kolesterol LDL terjadi karena radikal bebas yang berasal dari konsumsi makanan tinggi lemak. Oleh karena itu radikal bebas penyebab oksidasi kolesterol LDL secara dini perlu diredam, yaitu dengan peran antioksidan.

Cara konvensional untuk mengatasi masalah hiperlipidemia adalah menghindari makanan tinggi lemak dan mengonsumsi obat sesuai petunjuk dokter. Tetapi kepatuhan penderita menurun karena jenuh untuk menjalankan cara-cara tersebut. Selain itu penggunaan obat-obat antihiperlipidemia memiliki efek samping yang cukup serius. Seperti obat golongan statin yang memiliki efek samping hepatotoksik dan *miopati*, fibrat dan resin memiliki efek samping mual dan muntah, serta niasin yang memiliki efek samping hiperurisesemia dan hiperglikemi (Rifkind, 1991). Adanya efek samping dari obat antihiperlipidemia di atas, memicu upaya penggunaan bahan alami dari tanaman untuk berperan sebagai alternatif pengobatan dalam masalah hiperlipidemia dan komplikasinya. Selain itu penggunaan bahan alami juga dimaksudkan untuk memanfaatkan kekayaan alam Indonesia, karena di dalamnya terdapat berbagai macam tanaman yang diduga memiliki aktivitas sebagai terapi pengobatan.

Hal ini juga didukung dengan banyaknya penelitian tanaman obat mengenai kandungan senyawa kimia beserta aktivitas farmakologinya. Berikut beberapa penelitian tanaman dengan famili *Sterculiaceae*, yaitu ekstrak daun jati belanda (*Guazuma ulmifolia*) dengan kandungan flavonoid terbukti memiliki

aktivitas antihiperlipidemia dengan menghambat enzim lipase pankreas *in vitro* (Iswantini *et al.*, 2011). Ekstrak bunga *Pterospermum acerifolium* dengan kandungan flavonoid terbukti memiliki aktivitas antihiperlipidemia *in vivo* (Mazumder *et al.*, 2011), sedangkan ekstrak daunnya dengan kandungan fenolik dan flavonoid terbukti memiliki aktivitas antioksidan dengan meredam radikal DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) (Kumar dan Arora, 2015). Ekstrak kulit batang bayur (*Pterospermum javanicum*) dengan kandungan polifenol dan flavonoid terbukti memiliki aktivitas antioksidan dengan meredam radikal DPPH (Saefudin *et al.*, 2013), sedangkan penelitian tentang daunnya belum pernah dilakukan. Oleh karena itu peneliti tertarik melakukan penelitian tentang daun bayur tersebut. Selain itu bagian daun tumbuhan lebih dianjurkan untuk penelitian daripada bagian tumbuhan lain seperti kulit batang, karena pengambilan kulit batang secara terus menerus akan mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan dari tumbuhan tersebut.

McNair (1935) menyatakan bahwa semakin dekat hubungan kekerabatan (*taxa*) akan menghasilkan kandungan kimia yang lebih mirip. Jadi berdasarkan penelitian kerabat dekat daun bayur diatas, diduga daun bayur juga memiliki kandungan senyawa fenolik dan flavonoid dengan aktivitasnya sebagai antihiperlipidemia (penghambat lipase) dan antioksidan. Senyawa fenolik dan flavonoid memiliki sifat kepolaran yang berbeda-beda, sehingga metode ekstraksi daun bayur dalam penelitian ini menggunakan metode maserasi bertingkat dengan menggunakan tiga pelarut yang sifat kepolarannya juga berbeda-beda yaitu n-heksana, etil asetat, dan metanol. Sehingga diharapkan penggunaan pelarut-pelarut tersebut dapat menarik senyawa fenolik dan flavonoid yang terkandung pada daun bayur. Hasil ekstraksi akan didapatkan tiga macam ekstrak, yaitu ekstrak n-heksana, etil asetat, dan metanol daun bayur. Ketiga ekstrak tersebut akan dibandingkan kandungan fenolik dan flavonoid serta aktivitas penghambatan lipase dan antioksidannya.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas maka rumusan masalah yang dapat diambil dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

- a. Bagaimana kandungan fenolik dan flavonoid ekstrak n-heksana, etil asetat, dan metanol daun bayur ?
- b. Bagaimana aktivitas penghambatan lipase ekstrak n-heksana, etil asetat, dan metanol daun bayur ?
- c. Bagaimana aktivitas antioksidan ekstrak n-heksana, etil asetat, dan metanol daun bayur ?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian yang akan dilakukan adalah untuk:

- a. Untuk mengetahui kandungan fenolik dan flavonoid ekstrak n-heksana, etil asetat, dan metanol daun bayur.
- b. Untuk mengetahui aktivitas penghambatan lipase ekstrak n-heksana, etil asetat, dan metanol daun bayur.
- c. Untuk mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak n-heksana, etil asetat, dan metanol daun bayur.

1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberi manfaat untuk:

- a. Pengembangan terapi alternatif antihiperlipidemia dan antioksidan terbaru bagi dunia kesehatan yang bermanfaat untuk kesehatan masyarakat.
- b. Memberikan inspirasi kepada penulis dan peneliti lain untuk semakin menggali potensi kekayaan alam Indonesia, khususnya tanaman-tanaman yang berpotensi memiliki aktivitas sebagai terapi pengobatan alami.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Bayur

2.1.1 Klasifikasi Tumbuhan Bayur (plantamor.com)

Kingdom	: Plantae (Tumbuhan)
Subkingdom	: Tracheobionta (Tumbuhan berpembuluh)
Super Divisi	: Spermatophyta (Menghasilkan biji)
Divisi	: Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)
Kelas	: Magnoliopsida (Berkeping dua/dikotil)
Sub Kelas	: Dilleniidae
Ordo	: Malvales
Famili	: Sterculiaceae
Genus	: <i>Pterospermum</i>
Species	: <i>Pterospermum javanicum</i> Jungh.

2.1.2 Deskripsi Tumbuhan Bayur

Nama lokal tumbuhan bayur yaitu baling (Jawa), ambulang (Sumatera), bayur bantai, bayur merah (Kalimantan), bangero, sume (Sulawesi), bolang (Bali), damar, sala, wae (Nusa Tenggara Timur). Pohonnya berukuran sedang hingga besar, tingginya mencapai 45 m dan berdiameter mencapai 100-120 cm, biasanya terdapat akar banir yang tingginya mencapai 2 m, permukaan kulit batang halus, bersisik atau bercelah dangkal, berlentisel, kulit bagian dalam berserabut. Daun bayur yaitu tunggal, menyamping, bentuk daun di bagian dasar tidak sama, tepi daun rata, bergelombang atau bergigi, berambut banyak di bagian bawah daun, terdapat stipula. Bunga soliter atau muncul tiga bunga sekaligus pada tepi cabang daun, bunga besar dan menarik, bunga banci, memiliki 5 daun mahkota berwarna putih atau kuning, daun kelopak berbentuk tabung dengan daun-daun kelopak bebas, terdapat dasar bunga pendukung benang sari dan putik yang pendek, terdapat 5 kelompok benang sari yang masing-masing terdiri atas 3 benang sari, bakal buah menumpang (superior) dan terdiri atas 5 ruang dengan tiap ruang mengandung banyak bakal buah, tangkai kepala putik ramping. Daun dan bunga

tumbuhan bayur dapat dilihat pada Gambar 2.1 Buah memanjang, berkayu, mengandung banyak biji berbentuk kapsul. Biji pipih, bersayap pada salah satu sisi (Boer dan Lemmens, 1998).



Gambar 2.1 Daun bayur (Sumber: Gurung, 2012)

2.1.3 Kandungan dan Efek Farmakologi Tumbuhan Bayur

Belum ada penelitian tentang kandungan kimia dan efek farmakologi dari daun bayur, tetapi sudah ada penelitian tentang ekstrak kulit batangnya yang terbukti dengan kandungan polifenol dan flavonoid memiliki aktivitas antioksidan dengan meredam radikal DPPH (Saefudin *et al.*, 2013). Berdasarkan studi literatur, telah dilaporkan tentang kandungan kimia dan efek farmakologi dari famili *Sterculiaceae* dan *Pterospermum* jenis lain.

Ekstrak daun jati belanda (*Guazuma ulmifolia*) dengan kandungan flavonoid terbukti memiliki aktivitas antihiperlipidemia dengan menghambat lipase pankreas *in vitro* (Iswantini *et al.*, 2011). Sedangkan dengan kandungan taninnya terbukti memiliki aktivitas penghambatan lipase pankreas *in vivo* (Rahardjo, 2005) dan antioksidan (Hidayat *et al.*, 2014). Ekstrak bunga *Pterospermum acerifolium* dengan kandungan flavonoid dan tanin terbukti memiliki aktivitas antioksidan dan antihiperlipidemia *in vivo* (Mazumder *et al.*, 2011). Ekstrak daunnya dengan kandungan fenolik seperti asam galat (Bhalke *et al.*, 2013) dan flavonoid seperti kaempferol, luteolin, kuersetin terbukti memiliki aktivitas antioksidan dengan meredam radikal DPPH (Saboo *et al.*, 2010) dan aktivitas antihiperlipidemia dengan menghambat lipase pankreas (Habtemariam,

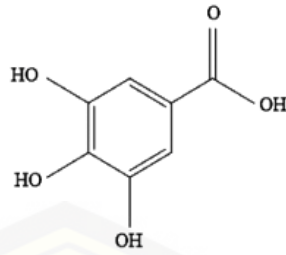
2012). Di samping itu senyawa lain pada *Pterospermum acerifolium* seperti alkaloid, tanin, saponin, steroid (Rath *et al.*, 2014), terpenoid dan antrakuinon juga berperan dalam aktivitas penghambatan lipase (Nitin *et al.*, 2014) dan antioksidan (Jabeen *et al.*, 2016).

Penggunaan kandungan zat kimia sebagai salah satu cara untuk menentukan hubungan kekerabatan jenis dan di bawah tingkat jenis disebut kemotaksonomi (Stuessy, 1989). McNair (1935) menyatakan bahwa semakin dekat hubungan kekerabatan (*taxa*) akan menghasilkan kandungan kimia yang lebih mirip. Berdasarkan metode kemotaksonomi tersebut, diduga daun bayur juga memiliki kandungan kimia fenolik dan flavonoid serta memiliki aktivitas yang tidak jauh berbeda yaitu antihiperlipidemia dan antioksidan.

2.2 Senyawa Fenolik dan Flavonoid

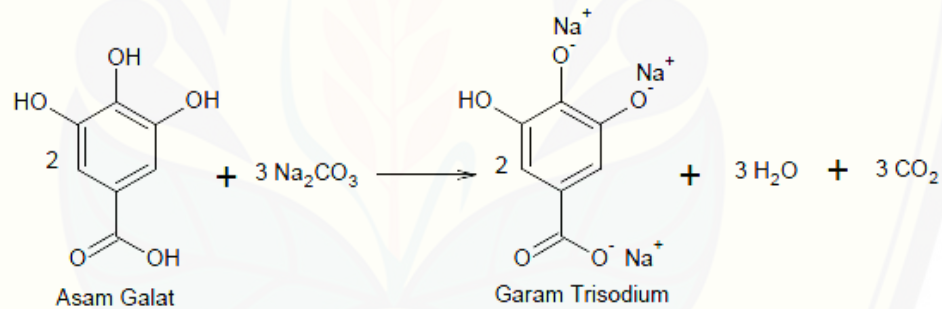
2.2.1 Senyawa Fenolik

Senyawa fenolik adalah senyawa yang memiliki satu atau lebih gugus hidroksil yang menempel di cincin aromatik atau sekurang-kurangnya memiliki satu gugus fenol. Senyawa ini berperan penting dalam pertumbuhan, perkembangan, dan pertahanan tanaman terhadap gangguan serangga, jamur, bakteri, dan virus. Terkait dengan senyawa fenolik, sering terjadi kerancuan tentang istilah polifenol. Polifenol bukan suatu bentuk polimerisasi senyawa fenolik, tetapi polifenol merupakan satu senyawa yang memiliki lebih dari satu gugus fenol, salah satu contoh polifenol yaitu flavonoid. Senyawa fenolik sangat beragam mulai dari senyawa fenolik sederhana sampai dengan senyawa fenolik yang kompleks. Oleh karena itu, senyawa fenolik diklasifikasikan berdasarkan jumlah atom karbon yang beberapa diantaranya adalah fenolik sederhana dengan struktur C₆, asam galat dengan struktur C₆-C₁, dan flavonoid dengan struktur C₁₅ (Vermeris dan Nicholson, 2009). Struktur asam galat dapat dilihat pada Gambar 2.2. Senyawa fenolik diketahui memiliki potensi dalam penghambatan aktivitas lipase pankreas (Adisakwattana *et al.*, 2012) serta aktivitas antioksidan dengan meredam radikal DPPH (Kumar dan Arora, 2015).



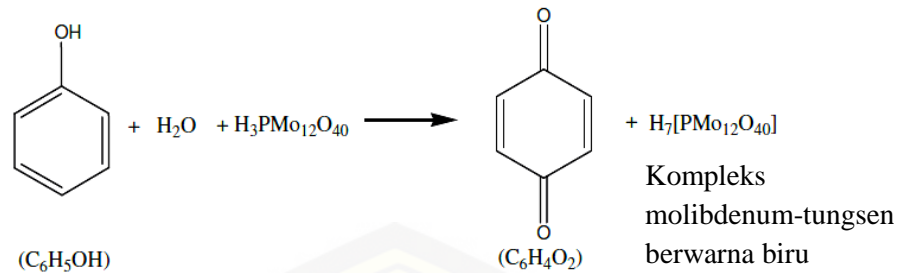
Gambar 2.2 Struktur asam galat (Sumber: Vermerris dan Nicholson, 2009)

Satuan dasar yang digunakan dalam analisis aktivitas antihiperlipidemia dan antioksidan adalah total fenoliknya. Analisis kandungan total fenolik pada umumnya menggunakan metode *Folin Ciocalteu* (F-C) dengan asam galat sebagai standar senyawa fenolik. Senyawa fenolik akan bereaksi dengan natrium karbonat menghasilkan ion fenolat. Ion fenolat dari asam galat adalah garam *trisodium*. Persamaan kimia yang mungkin terjadi dapat dilihat pada Gambar 2.3.



Gambar 2.3 Reaksi pembentukan ion fenolat dari asam galat (Rayner dan Raynel, 2011)

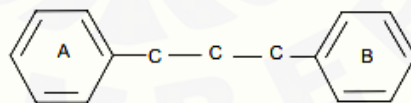
Reagen F-C yang berwarna kuning merupakan campuran dari asam fosfomolibdat dan asam fosfotungstat (asam heteropoli). Asam heteropoli dari kedua asam tersebut direduksi oleh ion fenolat membentuk kompleks molibdenum-tungsten (Mo-W) berwarna biru yang reaksinya dapat dilihat pada Gambar 2.4. Semakin besar konsentrasi senyawa fenolik, semakin banyak senyawa ion fenolat yang mengalami oksidasi, sehingga warna biru yang dihasilkan semakin pekat (Vermerris dan Nicholson, 2009). Kompleks Mo-W berwarna biru tersebut yang diukur dengan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum 750 nm.



Gambar 2.4 Reaksi reagen Folin Ciocalteu dengan senyawa fenolik (Singleton dan Rossi, 1965)

2.1.2 Senyawa Flavonoid

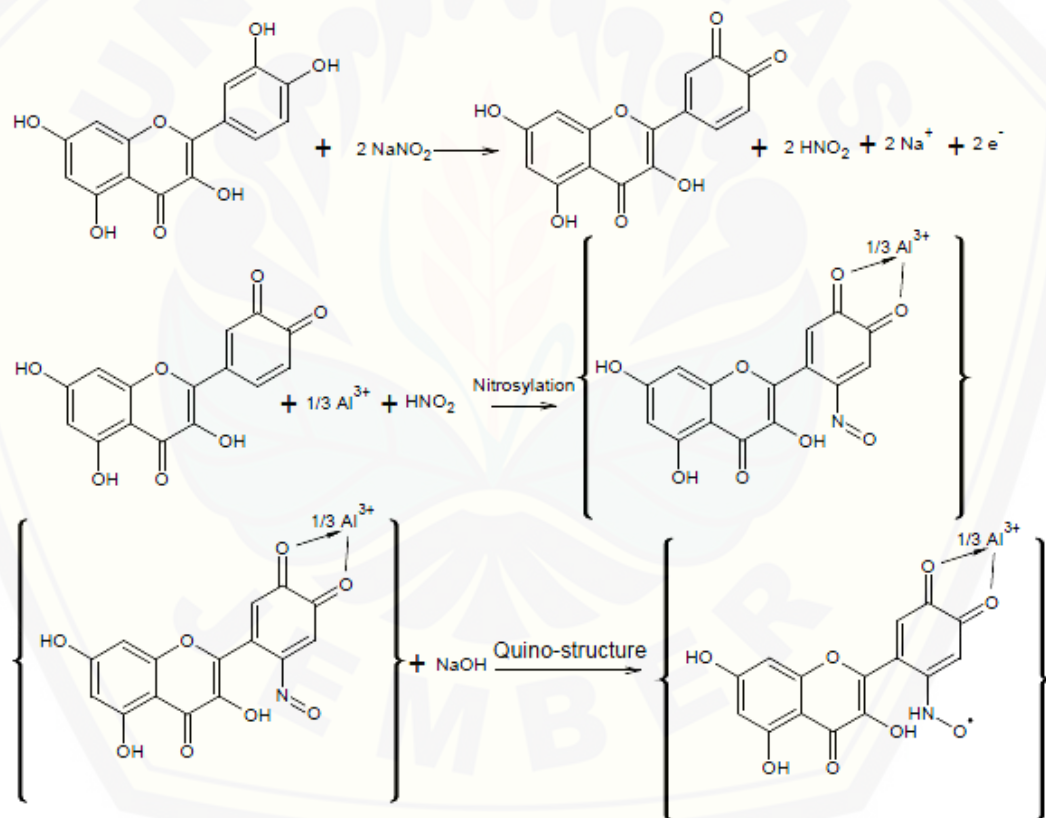
Flavonoid merupakan senyawa turunan dan golongan terbesar dari senyawa fenolik. Senyawa ini terdiri atas 15 atom karbon yang dapat digambarkan sebagai deretan senyawa C₆-C₃-C₆, artinya kerangka karbon terdiri atas gugus C₆ (cincin benzen) disambungkan oleh rantai alifatik 3 karbon (Harborne, 1987). Struktur dasar flavonoid dapat dilihat pada Gambar 2.3. Flavonoid terdapat pada semua bagian tumbuhan yaitu daun, akar, kayu, kulit, tepung sari, nektar, buah dan biji (Markham, 1988). Dalam tumbuhan, flavonoid terikat gula sebagai glikosida dan aglikon flavonoid yang mungkin terdapat dalam satu tumbuhan dalam bentuk kombinasi glikosida (Harborne, 1987). Senyawa flavonoid diketahui memiliki potensi dalam penghambatan aktivitas lipase pankreas (Iswantini *et al.*, 2010) dan aktivitas antioksidan dengan meredam radikal DPPH (Kumar dan Arora, 2015).



Gambar 2.5 Struktur dasar flavonoid (Sumber: Sastohamidjojo, 1996)

Analisis flavonoid pada umumnya menggunakan metode kolorimetri aluminium klorida karena sederhana, cepat, dan mudah dilakukan. Standar yang biasa digunakan yaitu kuersetin. Kuersetin dipilih sebagai standar karena merupakan salah satu flavonoid yang memiliki gugus katekol. Gugus katekol kuersetin pada cincin B akan dioksidasi menjadi keton oleh natrium nitrit, dan

natrium nitrit sendiri tereduksi menjadi asam nitrit. Kepekatan warna kuning dalam larutan akan meningkat ketika keton terbentuk. Gugus keton yang telah terbentuk akan mengompleks dengan kation alumunium (Al^{3+}) yang berasal dari AlCl_3 dan dilanjutkan dengan nitrosilasi oleh asam nitrit. Senyawa tersebut kemudian direduksi oleh natrium hidroksida yang menghasilkan struktur quino (Zhu *et al.*, 2009). Mekanisme pembentukan kompleks kuersetin dengan alumunium dapat dilihat pada Gambar 2.5. Tiga senyawa kuersetin akan mengompleks dengan satu logam alumunium membentuk struktur quino yang berwarna kuning. Kompleks quino berwarna kuning dari kuersetin memiliki panjang gelombang maksimum 415 nm.



Gambar 2.6 Reaksi pembentukan kompleks kuersetin dengan alumunium (Zhu *et al.*, 2009)

Cara memisahkan senyawa fenolik pada tanaman dibutuhkan suatu pelarut yang sifat kepolarannya sama dengan kepolaran senyawa fenolik tersebut. Pemilihan pelarut ekstraksi umumnya menggunakan prinsip *like dissolve like*

yang menyatakan bahwa senyawa bersifat non polar akan larut dalam pelarut non polar, dan senyawa bersifat polar akan larut dalam pelarut polar (Siedel, 2008). Senyawa fenolik memiliki sifat kelarutan yang beragam, seperti golongan flavonoid yang terdiri dari beberapa tipe yaitu aglikon polimetoksi yang bersifat non polar, aglikon polihidroksi yang bersifat semi polar, dan glikosida yang bersifat polar karena mengandung sejumlah gugus hidroksil dan gula (Harbone, 1987). Aglikon polimetoksi seperti golongan flavon (luteolin dan apigenin) dan isoflavon (genestein dan daidzein) larut dalam n-heksana, petroleum eter (PE), kloroform, eter, etil asetat, dan metanol. Aglikon polihidroksi seperti golongan flavonol (kuersetin dan kaempferol) tidak larut dalam n-heksana, PE, kloroform, tapi larut dalam eter, etil asetat, etanol dan sedikit larut dalam air. Sedangkan glikosida seperti rutin tidak larut dalam n-heksana, eter, PE, kloroform, sedikit larut dalam etil asetat, etanol, dan sangat larut dalam air (Robinson, 1995).

Oleh karena itu, dipilih metode ekstraksi maserasi bertingkat dengan menggunakan pelarut non polar, semi polar, dan polar. Metode ekstraksi dengan cara maserasi merupakan proses selektif untuk mengambil zat terlarut dari campuran dengan merendam sampel dalam pelarut dengan atau tanpa pengadukan (Harborne, 1987). Selanjutnya akan diuji kandungan total fenolik dan flavonoid dari masing-masing ekstrak non polar, semi polar, dan polar. Menurut Shahidi dan Marian (1995) pengujian total fenolik dan flavonoid bertujuan untuk menentukan total senyawa fenolik dan flavonoid yang terkandung di dalam sampel, sehingga diduga bila kandungan senyawa fenolik dalam sampel tinggi maka aktivitas antihiperlipidemia dan antioksidannya juga akan tinggi.

2.3 Lemak

Lemak juga disebut lipid yang beredar di dalam tubuh, diperoleh dari dua sumber yaitu dari makanan dan hasil produksi organ hati dan bisa disimpan di dalam sel-sel lipid sebagai cadangan energi. Secara umum lemak berfungsi sebagai sumber energi utama untuk proses metabolisme tubuh, pelindung organ tubuh, pembentukan sel, sumber asam lemak esensial, alat angkut vitamin larut lemak, pelumas organ-organ gerak, dan memelihara suhu tubuh. Lemak yang

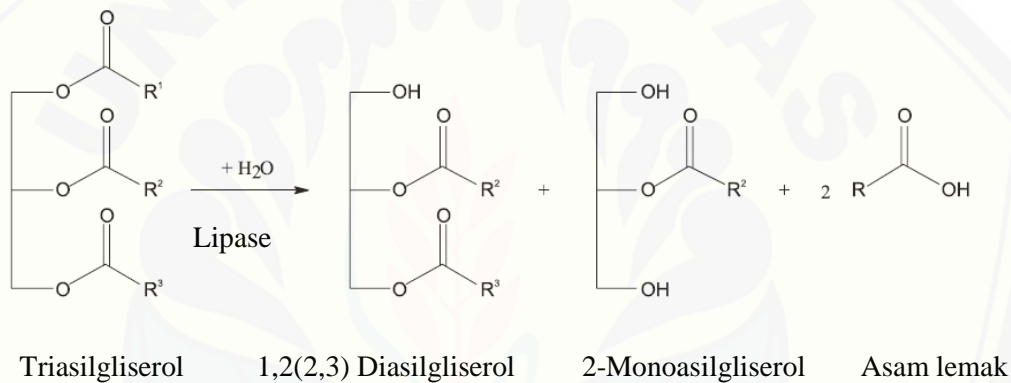
diperoleh dari makanan akan diuraikan menjadi kolesterol, triasilgliserol atau trigliserida, fosfolipid dan asam lemak bebas pada saat dicerna dalam usus. Keempat unsur ini akan diserap dari usus dan masuk ke dalam darah (Lichtensein dan Jones, 2001). Lipid bersifat non polar atau tidak larut air, sehingga membutuhkan peran protein selama proses pengangkutan dalam darah untuk selanjutnya menuju ke hati. Ikatan lipid dengan protein disebut lipoprotein. Lipoprotein terdiri dari lima jenis yaitu kilomikron, VLDL (*very low density lipoprotein*), IDL (*intermediate density lipoprotein*), LDL (*low density lipoprotein*), dan HDL (*high density lipoprotein*) (Mayes, 1990).

2.4 Metabolisme Lemak

Makanan mengandung triasilgliserol yang merupakan lemak simpanan utama dalam tumbuhan dan hewan yang menjadi makanan kita. Rute utama pencernaan triasilgliserol adalah hidrolisis menjadi 2-monoasilgliserol dan asam lemak di dalam lumen usus. Tetapi pada dasarnya hidrolisis triasilgliserol dimulai oleh enzim lipase lidah dalam mulut. Lipase lidah akan menghidrolisis asam lemak rantai pendek dan sedang saja (mengandung atom karbon 12 atau kurang). Aktivitas lipase lidah ini rendah pada orang dewasa, dan tinggi pada bayi karena bayi banyak mengonsumsi susu sapi yang mengandung triasilgliserol dengan kandungan asam lemak rantai pendek dan sedang yang tinggi. Asam lemak rantai pendek dan sedang mudah berinteraksi dengan medium berair sehingga dapat langsung diserap melalui lambung. Di dalam lambung, lemak akan dihidrolisis oleh lipase lambung yang juga aktif terhadap asam lemak rantai pendek dan sedang (Marks *et al.*, 2000).

Lemak makanan meninggalkan lambung dan masuk ke dalam usus halus untuk menjalani emulsifikasi (tersuspensi dalam partikel-partikel halus dalam lingkungan air) oleh garam empedu. Garam-garam empedu adalah senyawa amfifatik (mengandung komponen hidrofobik dan hidrofilik) yang disintesis di hati dan disekresikan melalui kandung empedu ke dalam lumen usus. Kontraksi kandung empedu dan sekresi enzim lipase pankreas dirangsang oleh hormon kolesistokinin. Lemak yang mengalami emulsifikasi diserang oleh enzim

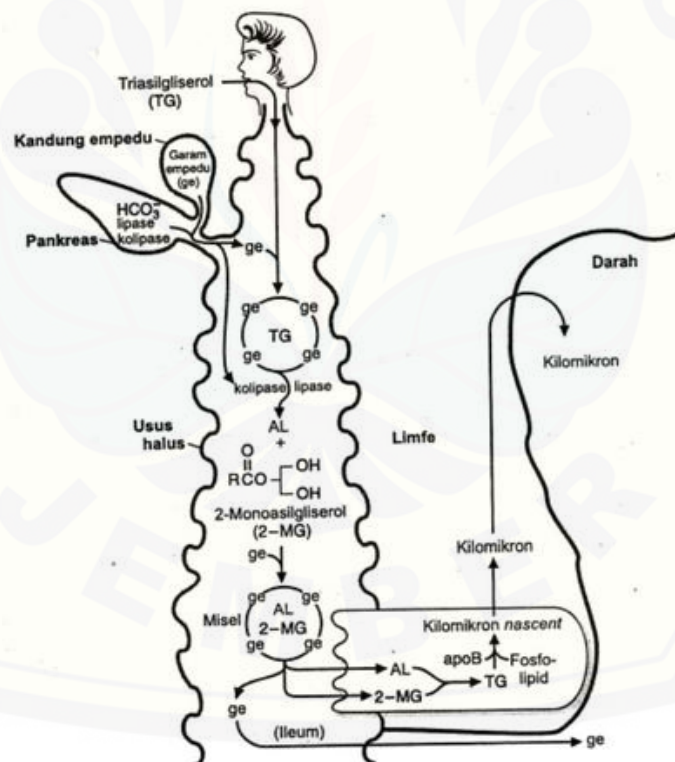
pencernaan dari pankreas. Lipase pankreas merupakan enzim utama yang mencerna triasilgliserol makanan dan dihasilkan oleh pankreas. Lipase pankreas disekresi bersama dengan protein lain yaitu kolipase. Kolipase mengikat lemak makanan dan lipase tersebut, sehingga lipase menjadi lebih aktif. Lipase pankreas menghidrolisis asam lemak dari semua panjang rantai pada triasilgliserol dan menghasilkan asam lemak bebas dan 2-monoasilgliserol. Lipase pankreas juga menghasilkan esterase yang memutus asam lemak dari berbagai senyawa (misalnya ester kolesterol) dan fosfolipase yang mencerna fosfolipid menjadi komponen-komponennya. Reaksi hidrolisis triasilgliserol menjadi asam lemak dan 2-monoasilgliserol oleh enzim lipase dapat dilihat pada Gambar 2.4.



Gambar 2.7 Reaksi hidrolisis triasilgliserol menjadi 2-monoasilgliserol dan asam lemak (Sumber: Carvalho *et al.*, 2009)

Setelah proses hidrolisis, asam lemak dan 2-monoasilgliserol menyatu dalam bentuk misel, bersama dengan garam empedu diabsorpsi melalui mukosa intestinal. Masuknya asam lemak ke dalam sel segera diikuti dengan pengikatan asam lemak ke protein pengikat, yang mempunyai afinitas tinggi terhadap asam lemak rantai panjang. Secara bersamaan asam lemak dan 2-monoasilgliserol berdifusi secara pasif ke dalam sel epitel, kemudian dengan cepat diubah menjadi triasilgliserol kembali. Triasilgliserol yang baru disintesis tersusun menjadi kilomikron. Kilomikron dihasilkan oleh usus dan banyak mengangkut triasilgliserol makanan. Kilomikron melewati dinding usus, masuk ke aliran darah dan selanjutnya menuju ke hati. Kilomikron yang baru lahir disebut kilomikron nasens. Setelah menerima protein dari HDL di dalam limfa dan darah, kilomikron

menjadi matang. Bagian kilomikron yang yang tetap berada dalam darah, setelah dicerna oleh lipase lipoprotein dikenal sebagai kilomikron sisa. Kilomikron sisa berikatan dengan reseptor di hepatosit (sel utama dihati) dan diserap melalui proses endositosis. Di hati terjadi proses hidrolisis kembali oleh lipase lipoprotein, yaitu VLDL menjadi IDL, dan IDL menjadi LDL. LDL merupakan lipoprotein yang paling banyak mengandung kolesterol, dan sebagian kolesterol LDL tersebut akan mengalami oksidasi yang akan ditangkap oleh reseptor SR-A (*scavenger-A*) di makrofag kemudian menjadi sel busa (*foam cell*). Kolesterol di makrofag akan diambil oleh HDL. HDL merupakan lipoprotein dengan sedikit kolesterol. Sehingga semakin tinggi kadar kolesterol, maka akan semakin bersifat protektif terhadap oksidasi kolesterol LDL (Marks *et al.*, 2000). Proses metabolisme lemak pada saat kenyang dapat dilihat pada Gambar 2.5.

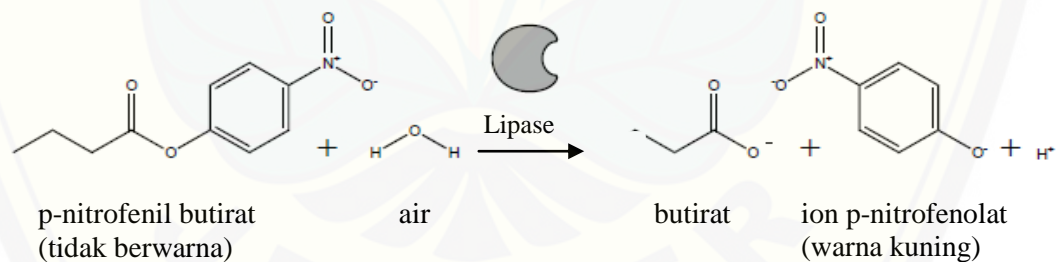


Gambar 2.8 Metabolisme lemak pada saat kenyang. Keterangan TG: triasilgliserol, ge: garam empedu, AL: asam lemak, 2-MG: 2-Monoasilgliserol (Sumber: Marks *et al.*, 2000)

Berdasarkan proses metabolisme lemak di atas, enzim lipase khususnya lipase pankreas terbukti memiliki peranan penting. Semakin aktif aktivitas lipase maka akan semakin banyak pula asam lemak dan gliserol yang diserap. Sehingga akan menimbulkan penimbunan lemak dalam tubuh dan memicu masalah hiperlipidemia yang merupakan faktor risiko utama komplikasi aterosklerosis dan berdampak pada penyakit kardiovaskular (Noorani *et al.*, 2011). Cara utama mengatasi masalah tersebut selain dengan menghindari makanan tinggi lemak, juga dapat dengan menghambat aktivitas lipase. Penghambatan aktivitas lipase merupakan peran dari suatu inhibitor. Inhibitor bertugas untuk menghambat proses katalitik suatu enzim yang telah menempel pada substrat, sehingga aktivitas enzim dalam menghasilkan produk menjadi terhambat (Marks *et al.*, 2000). Dalam proses metabolisme lemak, yang berperan sebagai substrat adalah triasilgliserol dan produknya adalah asam lemak dan gliserol. Ada dua macam inhibitor yaitu inhibitor kompetitif dan non kompetitif. Inhibitor kompetitif adalah molekul penghambat yang kerjanya bersaing dengan substrat untuk mendapatkan sisi aktif enzim. Sedangkan inhibitor non kompetitif adalah molekul penghambat enzim yang kerjanya dengan cara melekatkan diri pada luar sisi aktif, sehingga menyebabkan perubahan bentuk enzim dan sisi aktif yang tidak dapat berfungsi (Aryulina *et al.*, 2004).

Inhibitor atau penghambat lipase yang telah digunakan di pasaran adalah orlistat (Xenical®). Orlistat merupakan suatu turunan lipstatin yang dihasilkan oleh bakteri *Streptomyces toxitricini* bekerja dengan membatasi absorpsi lemak dari makanan di dalam lambung dan usus halus dengan menghambat aktivitas lipase gaster dan pankreas (Hadvary *et al.* 1988). Mekanisme orlistat dalam menghambat aktivitas lipase pankreas ialah non kompetitif, yaitu dengan cara membentuk suatu ikatan kovalen pada bagian serin yang aktif dari lipase pankreas dan lambung, sehingga mengubah enzim tersebut menjadi non aktif (Roche, 2008). Selain itu juga terdapat inhibitor alami yang berasal dari tanaman. Di dalam tanaman tersebut terdapat kandungan senyawa kimia fenolik dan flavonoid yang berperan sebagai penghambat lipase.

Metode pengujian penghambatan lipase dapat menggunakan p-nitrofenil butirat (p-NPB) yang berperan sebagai substrat. Pada proses hidrolisis substrat p-NPB yang awalnya tidak berwarna dengan penambahan katalis lipase akan menghasilkan produk butirat dan ion p-nitrofenolat yang menghasilkan warna kuning (Pliego *et al.*, 2015). Adanya penambahan inhibitor dengan beberapa tingkat konsentrasi akan menyebabkan warna kuning yang terbentuk semakin memudar. Hal tersebut menunjukkan bahwa aktivitas lipase dalam proses hidrolisis untuk menghasilkan produk mulai terhambat. Pengukuran absorbansi pada panjang gelombang 415 nm dilakukan setelah penambahan aseton sebagai penghenti reaksi. Penambahan aseton tidak hanya membantu untuk menghentikan reaksi, tetapi juga mampu memperjelas warna dari campuran reaksi, sehingga mempermudah deteksi terhadap aktivitas lipase (Gomes *et al.*, 2011). Reaksi hidrolisis p-NPB oleh lipase dapat dilihat pada Gambar 2.6. Pada umumnya penelitian tentang aktivitas penghambatan lipase ditentukan dengan perolehan nilai IC_{50} . Nilai IC_{50} adalah kemampuan ekstrak dalam menghambat aktivitas lipase sebanyak 50%. Semakin kecil nilai IC_{50} maka akan semakin kuat sampel tersebut dalam menghambat aktivitas lipase (Adisakwattana, 2012).



Gambar 2.9 Reaksi hidrolisis enzimatik p-NPB oleh lipase (Sumber: Pliego *et al.*, 2015)

2.5 Hiperlipidemia

Hiperlipidemia ialah kelainan metabolisme lipid yang ditandai dengan peningkatan atau penurunan fraksi lipid dalam plasma. Kelainan fraksi lipid yang utama adalah peningkatan kadar kolesterol total, LDL, trigliserida, dan penurunan kadar kolesterol HDL (Marks *et al.*, 2000). Peningkatan kadar plasma dari serum kolesterol total dan LDL serta penurunan HDL dapat menjadi penyebab timbulnya

aterosklerosis dan merupakan faktor risiko perkembangan penyakit kardiovaskular (Tuminah, 2009). Sedangkan semakin tinggi kadar kolesterol HDL akan semakin bersifat protektif dalam tubuh (Murray, 2009). Klasifikasi kolesterol total, LDL, HDL, dan trigliserida dapat dilihat pada Tabel 2.1.

Tabel 2.1 Klasifikasi kolesterol total, kolesterol LDL, kolesterol HDL, dan trigliserida.

Jenis lipid	Kadar dalam darah (mg/dL)	Klasifikasi
Kolesterol total	<200	Normal
	200-239	Batas atas
	≥240	Tinggi
LDL	<100-129	Normal
	130-159	Batas atas
	160-189	Tinggi
	≥190	Sangat tinggi
HDL	<40	Rendah
	≥60	Tinggi
Trigliserida	<150	Normal
	150-199	Batas atas
	200-499	Tinggi
	≥500	Sangat tinggi

Sumber: Dipiro *et al.*, 2008

Hiperlipidemia dapat terjadi karena beberapa faktor seperti berat badan, usia, kurang olahraga, stress, emosional, gangguan metabolisme, kelainan genetik, dan pola makan yang tinggi kadar kolesterol dan lemak jenuh (Marks *et al.*, 2000). Sehingga cara mengatasi masalah hiperlipidemia ialah mengatur diet dengan mempertahankan berat badan normal dan mengurangi kadar lipid dalam plasma. Selain itu kondisi lain yang dapat menyebabkan hiperlipidemia yaitu diabetes, penyakit ginjal, kehamilan, dan kelenjar tiroid kurang aktif.

Berdasarkan kompleksitas penyakit, hiperlipidemia diklasifikasikan menjadi dua jenis, yaitu hiperlipidemia primer dan hiperlipidemia sekunder. Hiperlipidemia primer adalah hiperlipidemia yang disebabkan oleh kelainan genetik terhadap metabolisme lipid. Biasanya kelainan ini tidak memberikan gejala atau keluhan, dan ditemukan secara kebetulan pada waktu pemeriksaan laboratorium, misalnya waktu *check up*. Sedangkan hiperlipidemia sekunder adalah peningkatan kadar lipid darah yang disebabkan oleh penyakit atau keadaan

lain, seperti diabetes melitus, gangguan tiroid, penyakit hepar, dan penyakit ginjal. Hiperlipidemia sekunder juga dapat disebabkan oleh obat-obat seperti beta bloker, diuretik, estrogen, dan gestagen (Raharjo, 2009).

Obat antihiperlipidemia menurut Rifkind (1991), Aschenbrenner dan Samantha (2009) diantaranya adalah orlistat yang memiliki efek samping ringan dan sementara terhadap saluran cerna (flatul disertai feses, feses berlemak atau berminyak) dan penurunan absorpsi vitamin larut lemak. Fibrat seperti gemfibrozil, bezafibrat, klofibrat, dan fenofibrat yang memiliki efek samping mual dan diare. Tidak boleh diberikan pada pasien disfungsi hepar, pasien gagal ginjal, anak-anak dan ibu hamil. Niasin yang memiliki efek samping menurunkan tekanan darah, dispepsia, pruritus, hiperglikemi, hiperurisemia, dan hepatotoksik. Tidak boleh diberikan pada pasien diabetes mellitus yang memburuk, *peptic ulcer*, gout, dan ibu hamil. Berdasarkan efek samping yang dijelaskan dari beberapa contoh obat diatas, memicu berbagai penelitian untuk meneliti bahan alami dari tanaman yang diduga memiliki aktivitas antihiperlipidemia. Bahan alami dari tanaman tersebut diharapkan selain berperan sebagai alternatif pengobatan dalam masalah hiperlipidemi juga diharapkan dapat menghambat terjadinya komplikasi aterosklerosis, yaitu penyakit kardiovaskular.

2.6 Komplikasi Hiperlipidemia dan Peran Antioksidan

Hiperlipidemia dikatakan sebagai faktor risiko utama untuk perkembangan dini aterosklerosis yang berdampak pada komplikasi kardiovaskular (Noorani *et al.*, 2011). Aterosklerosis adalah pengerasan pembuluh darah serta berkurangnya elastisitas dan kelenturan dinding pembuluh darah. Proses aterosklerosis diawali dengan kelainan pada lapisan endotel, pembentukan sel busa (*foam cell*) dan kerak lemak (*fatty streaks*). Sehingga menimbulkan lumen arteri menyempit, mengakibatkan berkurangnya aliran darah, oklusi mendadak pembuluh darah karena terjadi trombosis, kemudian melepaskan kepingan trombus dan dinding arteri menjadi melemah dan terjadi perobekan hingga pendarahan (Muttaqin, 2008). Aterosklerosis sangat dipengaruhi kadar kolesterol yang tinggi, khususnya LDL. Kadar kolesterol LDL yang tinggi pada hiperlipidemia merupakan penyebab

utama terbentuknya sel endotel dan miosit dan kemudian dimakan oleh makrofag sehingga terbentuk sel busa dan kerak lemak (Marks *et al.*, 2000). Pembentukan sel busa dan kerak lemak menimbulkan penyumbatan pembuluh darah sehingga dapat berdampak pada penyakit kardiovaskular seperti serangan jantung dan stroke.

Kolesterol LDL dapat mengalami oksidasi, agregasi, dan berikatan dengan proteoglikan atau menyatu dengan kompleks imun. Terjadinya oksidasi kolesterol LDL disebabkan karena penyerangan dari radikal bebas. Radikal bebas dapat menyerang senyawa apa saja terutama lipid dan mengakibatkan kerusakan pada sel. Radikal bebas memiliki elektron yang tidak berpasangan pada orbit luarnya yang mampu mengambil elektron lain dari molekul stabil disekitarnya. Proses pembentukan radikal bebas dalam tubuh bisa melalui pernapasan, lingkungan tidak sehat, dan makanan berlemak. Mengonsumsi makanan tinggi lemak sangat berpotensi menghasilkan radikal bebas. Lemak mempunyai ikatan rangkap pada atom C-nya dan sangat mudah dioksidasi atau terserang peroksidasi lipid dan akan membentuk radikal peroksida lipid. Menurut Droge (2002), pembentukan radikal peroksida lipid terdapat tiga tahap.

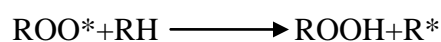
- a. Tahap inisiasi : senyawa turunan asam lemak bersifat tidak stabil dan sangat reaktif akibat hilangnya satu atom hidrogen.



- b. Tahap propagasi : radikal bebas asam lemak akan bereaksi dengan oksigen dan membentuk radikal peroksida.



- c. Tahap terminasi : radikal peroksida lebih lanjut akan menyerang asam lemak dan menghasilkan hidroperoksida dan radikal asam lemak baru.



Pembentukan radikal peroksida lipid dapat dihambat dengan peran antioksidan. Mekanisme kerja antioksidan terhadap oksidasi lipid secara umum adalah menghambat oksidasi lipid pada tahap awal. Antioksidan mampu meredam dampak dari radikal bebas dengan cara memberikan elektronnya kepada molekul

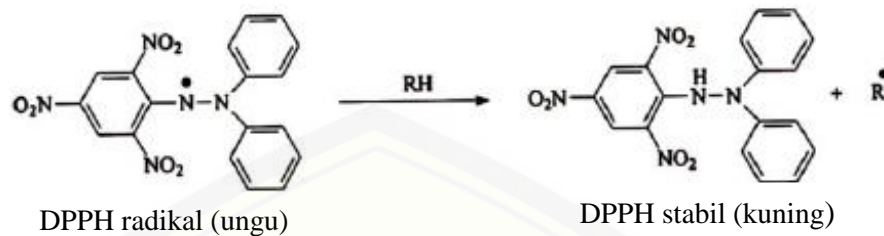
radikal bebas tanpa mengganggu fungsinya, sehingga dapat menstabilkan radikal bebas dan dapat memutus reaksi berantai dari radikal bebas (Halliwell *et al.*, 2004).

Antioksidan ada dua jenis yaitu antioksidan internal dan antioksidan eksternal. Antioksidan internal disebut juga antioksidan enzimatis diproduksi sendiri di dalam tubuh manusia. Antioksidan internal terdiri dari superoksida, dismutase (SOD), katalase, dan glutathion peroksidase. Sedangkan antioksidan eksternal disebut juga antioksidan non enzimatis, antara lain vitamin A, vitamin C, vitamin E, β karoten, likopen, dan flavonoid yang dapat ditemukan pada sayur dan buah-buahan. Antioksidan eksternal berperan sebagai pencegah dan sistem pertahanan tubuh, bekerja dengan menangkap radikal bebas (*free radical scavenger*) kemudian mencegah reaktivitas amplifikasinya.

Metode pengukuran aktivitas antioksidan dapat menggunakan metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil). Pengujian antioksidan dengan metode DPPH merupakan salah satu metode yang sederhana, murah, cepat, dan paling umum digunakan *in vitro* karena tidak membutuhkan sampel dan reagen dalam jumlah yang banyak. DPPH yang merupakan suatu molekul radikal bebas dengan warna ungu dapat berubah menjadi senyawa yang stabil dengan warna kuning oleh reaksi dengan antioksidan, karena antioksidan memberikan satu elektronnya pada DPPH sehingga terjadi peredaman pada radikal bebas DPPH. Uji DPPH merupakan metode yang mudah untuk menapis sejumlah kecil molekul antioksidan karena reaksi dapat diamati secara visual menggunakan KLT, atau juga intensitasnya dapat dianalisis melalui spektrofotometri sederhana. Struktur DPPH dan reaksinya dengan antioksidan ditunjukkan pada Gambar 2.7. Pengukuran kapasitas antioksidan dengan metode DPPH menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 517 nm.

Senyawa radikal DPPH yang tidak stabil dan awalnya berwarna ungu, jika direaksikan dengan antioksidan yang mengandung atom hidrogen akan menjadi stabil karena antioksidan memberikan atom hidrogennya pada DPPH. Terjadi proses peredaman radikal bebas sehingga DPPH menjadi senyawa non radikal yang stabil dan membentuk warna kuning. Sedangkan jika tidak terjadi reaksi

dengan antioksidan, DPPH akan tetap menjadi senyawa radikal yang tidak stabil dan tetap berwarna ungu (Yuhernita dan Juniarti, 2011).



Gambar 2.10 Reaksi DPPH radikal menjadi DPPH stabil (Sumber: Yuhernita dan Juniarti, 2011)

Pada umumnya penelitian tentang aktivitas antioksidan ditentukan dengan perolehan nilai IC_{50} . Nilai IC_{50} adalah kemampuan ekstrak dalam meredam radikal sebanyak 50%. Menurut Molyneux (2004) menggolongkan aktivitas antioksidan berdasarkan nilai IC_{50} yang diperoleh, yaitu sangat kuat ($IC_{50} < 50 \mu\text{g/mL}$), kuat ($50 \mu\text{g/mL} < IC_{50} > 100 \mu\text{g/mL}$), sedang ($100 \mu\text{g/mL} < IC_{50} > 150 \mu\text{g/mL}$), lemah ($150 \mu\text{g/mL} < IC_{50} > 200 \mu\text{g/mL}$), dan sangat lemah ($IC_{50} > 200 \mu\text{g/mL}$).

BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan adalah *true experimental laboratories*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan fenolik, flavonoid, aktivitas antihiperlipidemia dengan metode penghambatan lipase *in vitro* dan aktivitas antioksidan dengan metode peredaman radikal DPPH dari ekstrak daun bayur.

3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini akan dimulai pada Desember 2015 di CDAST (*Center for Development of Advanced Science and Technology*) Universitas Jember.

3.3 Variabel Penelitian

3.3.1 Variabel Bebas

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

3.3.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah total fenolik, total flavonoid, aktivitas penghambatan lipase, dan aktivitas antioksidan.

3.3.3 Variabel Terkendali

Variabel terkontrol dalam penelitian ini adalah metode ekstraksi, waktu ekstraksi, jenis pelarut, metode penentuan total fenolik, metode penentuan total flavonoid, metode uji aktivitas penghambatan lipase, dan uji aktivitas antioksidan.

3.4 Rancangan Penelitian

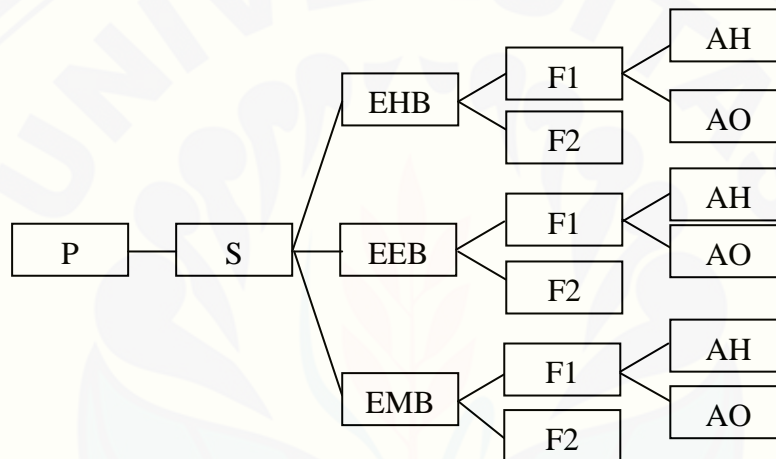
3.4.1 Definisi Operasional

Definisi operasional dalam penelitian ini yaitu :

1. Daun bayur yang digunakan berasal dari Taman Nasional Meru Betiri dan dipanen pada bulan Oktober 2014 dan sudah divalidasi oleh Balai Taman Nasional Meru Betiri dengan surat Nomor: BA.1271/BTNMB-1/2015
2. Tumbuhan bayur dipilih yang sudah besar dan berbunga, kemudian daun bayur yang digunakan diambil secara acak tanpa membedakan daun muda dan daun tua.
3. Metode ekstraksi yang digunakan yaitu menggunakan metode maserasi bertingkat dengan perbedaan kepolaran pelarut. Pelarut yang digunakan dalam ekstraksi adalah n-heksana (non polar), etil asetat (semipolar), dan metanol (polar).
4. Analisis kadar fenolik menggunakan Folin-Ciocalteu 50% dan Na_2CO_3 dengan standart asam galat (*galic acid*). Kadar fenolik diukur dalam mg *galic acid equivalent* (GAE) per gram ekstrak. Analisis kadar flavonoid menggunakan Na_2NO_2 dan Na_2CO_3 dengan standart kuersetin. Kadar flavonoid diukur dalam mg *quersetin equivalent* (QE) per gram ekstrak.
5. Konsentrasi uji untuk uji aktivitas antihiperlipidemia dan antioksidan berdasarkan kadar total fenoliknya.
6. Uji penghambatan lipase menggunakan enzim lipase dari bakteri, substrat p-NPB (p-nitrofenil butirrat) dengan kontrol positif orlistat. Blanko uji adalah semua bahan uji tanpa sampel, dan keberadaan sampel diganti dengan pelarut yang digunakan. Sedangkan blanko sampel adalah sampel uji ditambah dengan pelarut hingga sama dengan volume pengujian.
7. Uji aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH dengan kontrol positif asam askorbat (vitamin C).

3.4.2 Rancangan Percobaan

Pada penelitian ini akan dilakukan uji aktivitas penghambatan lipase dan uji aktivitas antioksidan pada daun bayur. Tahap awal penelitian dilakukan ekstraksi dengan menggunakan tiga pelarut dengan perbedaan kepolaran yaitu n-heksana, etil asetat, dan metanol. Kemudian dilakukan pengukuran kadar fenolik dan flavonoid. Selanjutnya dilakukan uji aktivitas antihiperlipidemia dengan metode penghambatan lipase *in vitro* dan uji aktivitas antioksidan dengan metode peredaman radikal DPPH. Diagram rancangan percobaan dapat dilihat pada Gambar 3.1.



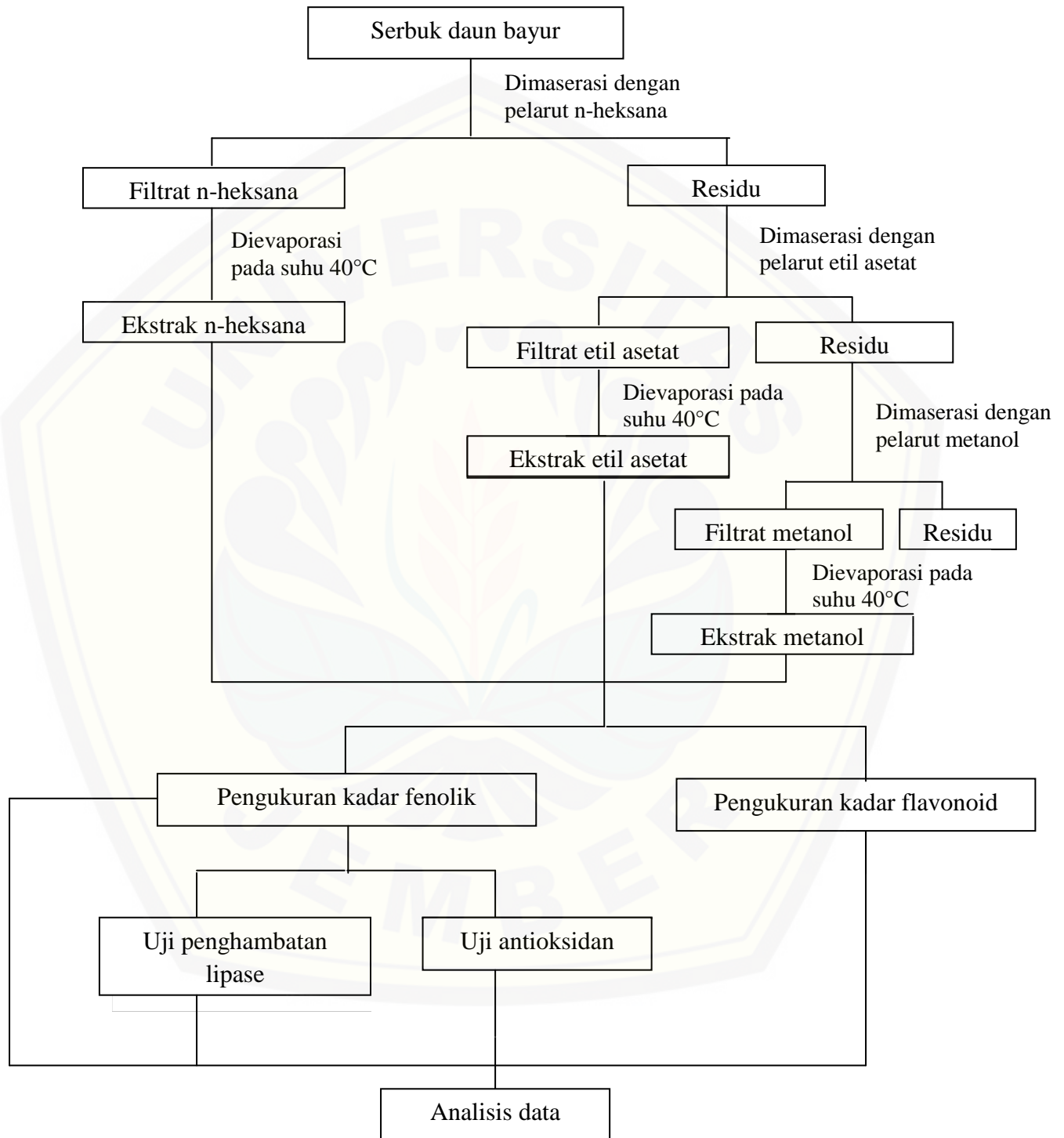
Gambar 3.1 Diagram rancangan percobaan

Keterangan :

- P : Populasi tanaman bayur
- S : Sampel daun bayur
- EHB : Ekstrak n-heksana daun bayur
- EEB : Ekstrak etil asetat daun bayur
- EMB : Ekstrak metanol daun bayur
- F1 : Uji kadar fenolik
- F2 : Uji kadar flavonoid
- AH : Uji aktivitas antihiperlipidemia
- AO : Uji aktivitas antioksidan

3.4.3 Alur Penelitian

Alur penelitian yang dilakukan dapat dilihat pada Gambar 3.2.



Gambar 3.2 Alur penelitian

3.5 Alat dan Bahan

3.5.1 Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian adalah alat-alat gelas, timbangan analitik, *vacuum evaporator* (Steroglass Strike300), mikro pipet, *microplate reader*, inkubator (Stuart SBS40), satu set alat spektrofotometer UV-Vis (Hitach U-2900), *shaker* (Stuart SSL1), dan sentrifugator (Hitachi CF15RXII).

3.5.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi daun bayur (*Pterospermum javanicum*); n-heksana (Merck); etil asetat (Merck); metanol (Merck); reagen *Folin-Ciocalteu* (Merck); natrium karbonat (Brataco); asam galat (Sigma-Aldrich); natrium nitrit (Brataco); Alumunium (III) klorida (Merck); natrium hidroksida (Merck); kuersetin (nacalai tasque); *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil* (DPPH) (nacalai tasque); etanol (Merck); asam askorbat (nacalai tasque); *p*-NPB (Sigma-Aldrich); natrium asetat (Merck); Triton X-100 (Merck); asam asetat (Merck); aseton (Merck); orlistat (Roche S. P. A. Milan), *lipase porcine pancreas* (Sigma-Aldrich).

3.6 Prosedur Penelitian

3.6.1 Perlakuan Awal Sampel

Sampel daun bayur yang diambil dari Taman Nasional Meru Betiri dibersihkan dari kotoran-kotoran, kemudian dikeringkan dengan cara diangin-anginkan tanpa terkena sinar matahari langsung dan selanjutnya digiling hingga diperoleh dalam bentuk simplisia kering. Simplisia daun bayur diserbuk dan diayak.

3.6.2 Ekstraksi

Ekstraksi daun bayur dilakukan dengan metode maserasi bertingkat. Metode maserasi bertingkat yaitu dengan menggunakan tiga jenis pelarut yang berbeda tingkat kepolarannya yaitu n-heksana (non polar), etil asetat (semipolar), dan metanol (polar). Serbuk daun bayur ditimbang sebanyak 50 gram,

dimasukkan ke dalam erlenmeyer 1000 mL. Ditambahkan 500 mL pelarut ke dalam erlenmeyer dan digojog menggunakan *shaker* selama 3 x 24 jam pada suhu ruang. Setelah tiga hari, difiltrasi dengan menggunakan corong *buchner* dan dilanjutkan dengan evaporasi menggunakan evaporator vakum pada suhu 40° C sampai didapatkan ekstrak kental. Residu atau ampas dikeringkan di dalam oven kemudian digojog kembali dengan pelarut selanjutnya dalam volume 500 mL selama 3 x 24 jam pada suhu ruang. Setelah tiga hari difiltrasi dan dilanjutkan dengan evaporasi kembali pada suhu 40° C hingga didapatkan ekstrak kental. Ekstrak kental yang didapatkan dari ketiga pelarut tersebut yaitu ekstrak n-heksana, etil asetat, dan metanol daun bayur yang kemudian disimpan pada wadah gelap, diberi label dan disimpan dalam lemari pendingin untuk selanjutnya dilakukan pengujian.

3.6.3 Analisis Kandungan Total Fenolik

Kandungan total senyawa fenolik ditentukan berdasarkan metode Taga *et al.* (1984) dan dihitung berdasarkan standar asam galat. Metode penelitian ini telah dioptimasi oleh Wahyudi (2015). Sebanyak 50 mg sampel ekstrak dilarutkan dalam metanol p.a sampai 10 mL. Larutan sampel ekstrak dipipet sebanyak 50 µL, ditambahkan ke dalam 1 mL Na₂CO₃ 2% (b/v) dan didiamkan selama 2 menit. Kemudian ditambahkan 50 µL reagen *Folin-Ciocalteu* 50% (v/v) ke dalam campuran, dicampur menggunakan *vortex* dan diinkubasi selama 30 menit pada suhu ruang. Absorbansi campuran diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 750 nm. Total fenolik masing-masing ekstrak ditentukan dalam mg GAE per gram ekstrak menggunakan persamaan dari kurva standar asam galat, dengan beberapa konsentrasi asam galat yaitu 3, 6, 9, 12 dan 15 µg/mL. Pengujian dilakukan sebanyak tiga kali replikasi.

3.6.4 Analisis Kandungan Total Flavonoid

Kandungan total senyawa flavonoid ditentukan berdasarkan metode kolorimetri yang mengacu pada Chang *et al.* (2002) dan dihitung berdasarkan

standar kuersetin. Metode penelitian ini telah dioptimasi oleh Wahyudi (2015). Larutan sampel ekstrak dipipet sebanyak 150 μL ditambahkan dalam 400 μL akuades. Kemudian ditambahkan dengan 30 μL NaNO_2 5% (b/v) dan 30 μL AlCl_3 10% (v/v). Setelah 6 menit, ditambahkan 200 μL NaOH 1 M dan 240 μL akuades, lalu dicampur menggunakan *vortex*. Absorbansi campuran diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 415 nm. Total flavonoid masing-masing ekstrak ditentukan dalam mg QE per gram ekstrak menggunakan persamaan dari kurva standar kuersetin dengan beberapa konsentrasi kuersetin yaitu 10, 20, 40, 50 dan 60 $\mu\text{g/mL}$. Pengujian dilakukan sebanyak tiga kali replikasi.

3.6.5 Pengujian Penghambatan Lipase

Pengujian penghambatan lipase mengacu pada Nakuku (2002) meliputi beberapa tahap mulai dari preparasi substrat hingga perhitungan persentase hambatan lipase. Metode penelitian ini telah dioptimasi oleh Apriliani (2015). Preparasi substrat dimulai dengan ditimbang 1,61 mg ρ -NPB, dimasukkan dalam erlenmeyer 100 mL. Kemudian ditambahkan 10 mL Triton X-100 4% (dalam buffer asam asetat), dihangatkan pada suhu 60° C sampai jernih (\pm 2 menit). Selanjutnya ditambahkan 1 mL buffer asam asetat 1M (pH 5,61), diinkubasi pada suhu ruang selama 5 menit. Dan ditambahkan 8 mL akuades. Substrat ini dapat disimpan pada suhu 20-30° C.

Pengujian penghambatan lipase selanjutnya yaitu dipipet 425 μL substrat ρ -NPB, diinkubasi pada suhu 37 °C selama 5 menit. Ditambahkan 50 μL larutan sampel dengan beberapa konsentrasi uji berdasarkan konsentrasi fenolik, yaitu 1, 2, 3, 4 dan 5 μg GAE/mL. Ditambahkan 100 μL enzim, diinkubasi pada suhu 37 °C selama satu jam. Setelah satu jam ditambahkan 1 mL aseton untuk menghentikan reaksi. Absorbansi diukur pada panjang gelombang 412 nm. Pengujian dilakukan sebanyak tiga kali replikasi. Kontrol positif metode berikut menggunakan orlistat. Persentase penghambatan lipase dapat dihitung dengan Persamaan 3.1.

$$\text{Penghambatan lipase (\%)} = \frac{A \text{ blanko} - A \text{ uji}}{A \text{ blanko}} \times 100 \% \quad (3.1)$$

Keterangan :

A blanko = absorbansi pengujian tanpa sampel uji

A uji = absorbansi pengujian dengan sampel uji

Setelah didapatkan persentase penghambatan lipase dari beberapa konsentrasi uji, kemudian ditentukan persamaan $y = bx + a$ dengan perhitungan secara regresi linear dimana x adalah konsentrasi uji ($\mu\text{g/mL}$) dan y adalah presentase penghambatan lipase (%). Kemampuan ekstrak dalam menghambat aktivitas lipase dinyatakan dalam IC_{50} (*inhibition concentration 50%*) yaitu konsentrasi sampel yang dapat menghambat aktivitas lipase sebanyak 50%. Nilai IC_{50} didapatkan dari nilai x setelah mengganti $y = 50$.

3.6.6 Analisis Peredaman Radikal DPPH

Penentuan aktivitas antioksidan ekstrak daun bayur terhadap 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) mengacu pada Siswoyo (2013). Metode penelitian ini telah dioptimasi oleh Wahyudi (2015). Dibuat larutan DPPH 90 μM dalam metanol sebagai larutan persediaan. Dipipet 75 μL larutan sampel dengan beberapa konsentrasi uji berdasarkan konsentrasi total fenolik yaitu EHB sebesar 3, 5, 7, 9, 11 $\mu\text{g GAE/mL}$, EEB sebesar 1, 2, 3, 4, 5 $\mu\text{g GAE/mL}$, dan EMB sebesar 0,25, 0,5, 1, 1,5, 2 $\mu\text{g GAE/mL}$. Kemudian ditambahkan 658 μL etanol 80% dan ditambahkan 300 μL larutan DPPH persediaan. Setelah itu diinkubasi selama 30 menit pada suhu ruang dalam ruang yang gelap atau tidak ada cahaya. Absorbansi larutan diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 515 nm. Pengujian dilakukan sebanyak tiga kali replikasi. Kontrol positif metode berikut menggunakan asam askorbat. Persentase peredaman radikal DPPH dihitung menggunakan persamaan 3.2

$$\text{Peredaman radikal DPPH (\%)} = \frac{(A \text{ blanko} - A \text{ uji})}{A \text{ blanko}} \times 100 \% \quad (3.2)$$

Keterangan :

A blanko = absorbansi pengujian tanpa sampel uji

A uji = absorbansi pengujian dengan sampel uji

Setelah didapatkan persentase peredaman radikal DPPH dari beberapa konsentrasi uji, kemudian ditentukan persamaan $y = bx + a$ dengan perhitungan secara regresi linear dimana x adalah konsentrasi uji ($\mu\text{g/mL}$) dan y adalah presentase peredaman radikal DPPH (%). Kemampuan ekstrak dalam meredam radikal DPPH dinyatakan dalam IC_{50} (*inhibition concentration 50%*) yaitu konsentrasi sampel yang dapat meredam radikal DPPH sebanyak 50%. Nilai IC_{50} didapatkan dari nilai x setelah mengganti $y = 50$.

3.6.7 Analisis Data

Data yang diperoleh dari penelitian berupa total fenolik, flavonoid, aktivitas penghambatan lipase, dan aktivitas antioksidan. Data-data ini kemudian diuji dengan Shapiro-Wilk untuk mengetahui apakah data tersebut terdistribusi normal atau tidak, serta diuji homogenitas variannya. Apabila data terdistribusi normal dan varian homogen maka dilanjutkan dengan uji parametrik *ANOVA*. Jika pada uji *ANOVA* menghasilkan nilai $p < 0,05$, maka dilanjutkan dengan analisis *Post-Hoc* yaitu *LSD*. Namun apabila data tidak terdistribusi normal dan varian tidak homogen maka dapat dilakukan transformasi terhadap data. Jika data kembali terdistribusi normal dan homogen, maka dapat dilakukan uji *ANOVA* yang dilanjutkan dengan uji *Post Hoc* yaitu *LSD* jika uji *ANOVA* menghasilkan $p < 0,05$. Apabila proses transformasi tidak juga menghasilkan data yang terdistribusi normal dan homogen, maka uji *ANOVA* tidak valid untuk dilakukan, sehingga harus menggunakan uji non-parametrik seperti *Kruskal Wallis*. Jika pada uji *Kruskal Wallis* menghasilkan nilai $p < 0,05$, maka dilanjutkan dengan melakukan analisis *Post-Hoc* yaitu uji *Mann-Whitney* untuk melihat perbedaan antar tiap kelompok perlakuan (Besral, 2010)

BAB 5 PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian, diperoleh beberapa kesimpulan sebagai berikut:

1. Ketiga ekstrak daun bayur memiliki perbedaan nyata pada analisis kandungan total fenolik dan flavonoid, dengan hasil tertinggi sampai terendah, yaitu EEB, EMB dan EHB.
2. Ketiga ekstrak daun bayur memiliki perbedaan nyata pada uji aktivitas penghambatan lipase dan daya penghambatan lipase tertinggi sampai terendah adalah EEB, EMB dan EHB dengan IC_{50} berturut-turut $1,844 \pm 0,092$; $19,610 \pm 0,810$; dan $34,149 \pm 0,883 \mu\text{g/mL}$.
3. Ketiga ekstrak daun bayur memiliki perbedaan nyata pada uji aktivitas antioksidan dan daya peredaman radikal tertinggi sampai terendah adalah EMB, EEB dan EHB dengan IC_{50} berturut-turut $23,998 \pm 0,437$; $76,667 \pm 1,370$; dan $199,225 \pm 3,984 \mu\text{g/mL}$.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian, diperoleh beberapa saran sebagai berikut:

1. EEB diketahui memiliki aktivitas antihiperlipidemia dengan daya penghambatan lipase paling baik, sehingga perlu dilakukan penelitian lanjut tentang identifikasi dan isolasi dari senyawa aktif pada ekstrak tersebut.
2. EMB memiliki aktivitas antioksidan dengan daya peredaman radikal DPPH paling baik, sehingga perlu dilakukan penelitian lanjut tentang identifikasi dan isolasi senyawa aktif pada ekstrak tersebut.

DAFTAR PUSTAKA

- Achmadi, S. S. 1992. *Tehnik Kimia Organik*. Bogor: Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, IPB.
- Adisakwattana S., Intrawongso J., Hemrid A., Chanathong B., dan Mayken. 2012. Extracts of Edible Plants Inhibit Pancreatic Lipase, Cholesterol Esterase and Cholesterol Micellization, and Bind Bile Acids. *Edible Plant Extracts for Treatment of Hyperlipidaemia*. Vol. 50 (1): 11–16.
- Andersen, dan Kenneth R. 2006. *Flavonoids: Chemistry, Biochemistry and Applications*. United States of America: CRC Press Taylor & Francis Group, Boca Raton, FL.
- Ascenbrenner, Diane, dan Samantha, J. 2009. *Drug Therapy in Nursing Third Edition*. China: Wolters Kluwer Health.
- Apriliani, F. Y. 2015. Potensi Ekstrak Daun Timo (*Kleinhovia hospita*) sebagai Antioksidan dan Antihiperlipidemia: Metode DPPH dan Penghambatan Lipase *In Vitro*. Jember: Fakultas Farmasi, Universitas Jember.
- Aryulina, D., Choirul, M., Syalfinaf, M., dan Endang, W. 2004. *Biologi Edisi 3*. Penerbit Erlangga ESIS.
- Besral. 2010. *Pengolahan dan Analisa Data-1 Menggunakan SPSS*. Depok: Departemen Biostatistika Fakultas Kesehatan Masyarakat, UI.
- Bhalke, R. D., Deepak, Musmade, dan Subodh. 2013. Estimation of Rutin, Quercetin and Gallic Acid in *Pterospermum acerifolium* (L) Willd. by Planner Chromatography. *Indo American Journal of Pharmaceutical Research*. Vol. 3 (9): 7008-7017.
- Bustanji, Y., Ala, I., Mohammad, M., Mohammad, H., Khalid, T., Hatim, A., Ihab, A., dan Bashar, A. 2010. Inhibition of hormone sensitive lipase and pancreatic lipase by *Rosmarinus officinalis* extract and selected phenolic constituents. *Journal of Medicinal Plants Research*. Vol. 4 (21): 2235-2242.
- Gurung. 2012. Bhutan Biodiversity Portal *Pterospermum javanicum*. <http://biodiversity.bt/observation/show/1471> [17 Juli 2016].
- Boer, E. dan Lemmens, R.H.M.J. 1998. Timber trees: Lesser-known timbers: *Plant Resources of South-East Asia*. Vol. 5 (3): 479-482. Bogor Indonesia.

- Carvalho, P. Campos, P., Noffs, M., Fregolenteb, P., dan Fregolenteb, L. 2009. Enzymatic Hydrolysis of Salmon Oil by Native Lipases: Optimization of Process Parameters. *Journal of the Brazilian Chemical Society*. Vol. 20 (1): 117-124.
- Chang, Kim, Hwang, Choi, Ahn, Lee, dan Park. 2002. Antioxidant Activity and Free Radical Scavenging Capacity Between Korean Medicinal Plants and Flavonoids by Assay-Guided Comparison. *Plant Sciences*. Vol. 163: 1161-1168.
- Dipiro, Talbert, Yee, Matzke, Wells, dan Posey. 2008. *Pharmacotherapy A Pathophysiologic Approach*. New York: Mc Graw Hill.
- Droge W. 2002. Free Radicals in The Physiological Control of Cell Function. *Physiological Reviews*. Vol. 82: 47-95.
- Fengel, D. dan Wegener, G. 1995. Kayu: Kimia Ultrastruktur Reaksi – Reaksi. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press, Yogyakarta
- Fredrickson. 1967. *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Gomes, N., Goncalves, C., Roma, M., Teixeira, J., dan Belo. 2011. Optimization of a Colorimetric Assay for Yeast Lipase Activity in Complex Systems. *The Royal Society of Chemistry*. Vol. 3: 1008-1013.
- Guillermo, Zamilpa, Zavala, Perez, Morales, Tortoriello. 2016. Chrysoeriol and other polyphenols from *Tecomastans* with lipase inhibitory activity. *Journal of Ethnopharmacology*. 1-24.
- Habtemariam. 2012. Antihyperlipidemic Components of *Cassia auriculata* Aerial Parts: Identification Through *In Vitro* Studies. *Phytoterapy Research*. Vol. 10: 1-5.
- Hadvary, P., Lengsfeld, H., dan Wolfer, H. 1988. Inhibition of Pancreatic Lipase *In Vitro* by the Covalent Inhibitor Tetrahydroplastin. *Journal Biochemistry*. Vol. 256: 357-361.
- Harbone. 1987. Metode Fitokimia: *Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Alih bahasa oleh Kosasih Padmawinata & Iwang Soediro. Bandung: Penerbit ITB.
- Hidayat, Soeng, Prahastuti, Patricia, dan Yonathan. 2014. Aktivitas Antioksidan dan Antitrigliserida Ekstrak Tunggal Kedelai, Daun Jati Belanda Serta

- Kombinasinya. *Bionatura-Jurnal Ilmu-Ilmu Hayati dan Fisik*. Vol. 16 (2): 89-94.
- Iswantini, D., Darusman, L., Fitriani, dan Ana. 2010. Uji *In Vitro* Ekstrak Air dan Etanol dari Buah Asam Gelugur, Rimpang Lengkuas, dan Kencur sebagai Inhibitor Lipase Pankreas. *Jurnal Sains dan Teknologi Indonesia*. Vol. 12 (1): 15-20.
- Iswantini, D., Silitonga R., Martatilofa E., Darusman L. 2011. *Zingiber cassumunar*, *Guazuma ulmifolia*, and *Murraya paniculata* Extracts as Antiobesity: *In Vitro* Inhibitory Effect on Pancreatic Lipase Activity. *Journal of Biosciences*. Vol. 18: 6-10.
- Jabeen, M., Fatima, A., dan Bashir, A. C. 2016. Phytochemical analysis and antioxidant activity of *Pterospermum acerifolium* (Sterculiaceae). *International Journal of Pharmaceutical Chemistry*. Vol. 6 (3): 67-70.
- Kamso, S., Purwastyastuti, Yohana, S., dan Widjaja, L. 2005. Nutritional Status of Hyperlipidemics Elderly in Indonesia According to Body Mass Index (Study in Four Indonesia Big Cities). *Medical Journal Indonesia*. Vol. 14 (2): 97-100.
- Kumar, A. dan Arora, S. 2015. Role of Phenolic and Flavonoid Compounds from Selected Plant Inhibiting Pro-Oxidant Elicited Strand Breaks in Plasmid pBR322 DNA. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*. Vol. 7 (3): 401-404.
- Kusumaningati. 2009. *Analisis Kandungan Fenol Total Jahe (Zingiber officinale Roscoe) secara In Vitro*. Jakarta: Fakultas Kedokteran, Universitas Indonesia.
- Lichtenstein, A. H dan Jones, P. 2001. *Lipid Absorption and Transport*. In *Present Knowledge in Nutrition*. 8th ed. 93-103. Washington DC: ISLI Press.
- Li, Peng, Fei, Zong-Wen, dan Bin. 2011. Probing The Interaction Between 3 Flavonoids And Pancreatic Lipase By Methods Of Fluorescence Spectroscopy And Enzymatic Kinetics. *European Food and Research Technology*. 233: 63-69.
- Malik, S. K., Zaheer, U. K., dan Muhammad, A. 2012. Investigation Investigation Of In-Vitro Antioxidant Potential Of Ethnobotanically Important Tree, *Pterospermum acerifolium*. *Pakistan Journal o Botany*. 44: 105-109.

- Marinova, G. dan Batchvarov, V. 2011. Evaluation of Methods for Determination of The Free Radical Scavenging Activity by DPPH. *Bulgarian Journal of Agriculture Science*. Vol. 17 (1): 11-24.
- Marisa, H. 2009. Vegetation to Grip Stone-Hill Bukit Munggu Case; Tanjung Enim, Sumatera Selatan. *Jurnal Penelitian Sains*. Vol 12 (1): 12108-1-12108-4.
- Markham, K. 1988. *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*, Terjemahan Kosasih Padmawinata. Bandung: ITB.
- Marks, D., Marks, A., dan Smith, C. 2000. *Biokimia Kedokteran Dasar*. Editor Joko Suyono, Vivi Sadikin, Lydia I. Mandra. Jakarta: EGC.
- Mazumder, P., Sasmal, D., Ghosh, A., dan Paramaguru, R. 2011. Evaluation of Antihyperlipidemic and Antioxidant Activity of *Pterospermum acerifolium* (L.) Willd. *Pharmacologia*. Vol. 3 (9): 126-148.
- Mayes, P.A. 1990. *Lipid Transport and Storage* (Harper's Biochemistry). New Jersey: Prentice-Hall International Inc.
- McNair, JB. 1935. Angiosperm Phylogeny on Chemical Basis: *Bull Torrey Bot. Club*. Vol. 62: 515-32.
- Molyneux, P. 2004. The Use of The Stable Free Radical Dyphenylpicrylhydrazil (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. *Journals of Science and Technology*. Vol. 26: 211-219.
- Murray, R. K., Granner, and Rodwell. 2009. *Biokimia Harper* (Brahm U. Pendit, et all, penerjemah.). (Ed ke-27). Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Muttaqin, Arif. 2008. *Buku Ajar Asuhan Keperawatan Klien dengan Gangguan Sistem Persarafan*. Jakarta: Salemba Medika.
- Nakaku, N. 2002. *Amano Enzyme for Diagnostic*. Japan: Amano Enzyme Inc.
- Nitin, Lunagariya, Neeraj, Sneha, dan Kamlesh. 2014. Inhibitor of Pancreatic Lipase: State of The Art of Clinical Perspectives. *EXCLI Journal*. Vol. 13: 897-921.
- Noorani, Arshad, Gaurav dan M. K. Kale. 2011. Antihyperlipidemic Activity of Rimonabant on High Cholesterol Diet Induced Hyperlipidemia in Rats. *Pharmacologyonline*. Vol. 1: 1212-1220.

- Ouédraogo, Konaté, Zerbo, Barro dan Sawadogo. 2013. Phytochemical Analysis and in vitro Antifungal Profile of Bioactive Fractions from *Sterculia setigera* (Sterculiaceae). *Current Research Journal of Biological Sciences*. Vol 5 (2): 75-80.
- Pekal dan Krystyna. 2014. Evaluation of Aluminium Complexation Reaction for Flavonoid Content Assay. *Food Analytical Methods*. Vol. 4: 1776-1782.
- Pliego, J., Mateos, J., Rodriguez, J., Valero, F., Baeza, M., Femat, R., Camacho, R., Sandoval, G., dan Herrera. 2015. Monitoring Lipase/Esterase Activity by Stopped Flow in a Sequential Injection Analysis System Using p-Nitrophenyl Butyrate. *Journal Sensors*. Vol. 15: 2798-2811.
- Pramono, S. 2013. *Jenis Pelarut dan Jenis Senyawa Terlarut*. Yogyakarta: Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Rahardjo, S., Ngatijan, dan Pramono. 2005. Influence of Etanol Extract of Jati Belanda Leaves (*Guazuma ulmifolia* Lamk.) on Lipase Enzym Activity of Rattus Norvegicus Serum. Vol. 4 (17): 48-49.
- Raharjo, R. 2009. *Kumpulan Kuliah Farmakologi*. Jakarta: EGC.
- Rath, S.K., Patra, Gouda, Dutta dan Thatoi. 2014. Chemical Profiling and Evaluation of Bioactivity of Solvent Extracts of *Pterospermum acerifolium* Linn: an Ethnomedicinal Plant of Similipal Biosphere Reserve. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Science*. Vol. 3 (3): 1862-1874.
- Rayner, C. M dan Raynel, G. R. J. F. 2011. *Process for the capture of carbon dioxide*. <http://www.google.com/patents/WO2011135378A1?cl=en> [17 Juli 2016].
- Rifkind, B. M. 1991. *Drug Treatment of Hyperlipidemia*. New York: Marcel Dekker, Inc.
- Riskesdas. 2013. *Riset Kesehatan Dasar*. Jakarta: Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kementerian Kesehatan RI.
- Robinson, T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Edisi Keempat. Terjemahan Kosasih Padmawinata. Bandung: ITB Press.
- Roche. 2008. Xenical® (Orlistat). <http://www.roche.co.id/bahasa/index.htm> [2 Juli 2016].

- Saboo, Tapadiya, Khadabadi, dan Deokate. 2010. *In vitro* antioxidant activity and total phenolic, flavonoid contents of the crude extracts of *Pterospermum acerifolium* wild leaves (Sterculiaceae). *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*. Vol. 2 (3): 417-423.
- Saefudin, Marusin S., dan Chairul. 2013. Aktivitas Antioksidan Pada Enam Jenis Tumbuhan *Sterculiaceae*. *Jurnal Penelitian Hasil Hutan*. Vol. 31 (2): 103-109.
- Sastrohamidjojo. 1996. Sintesis Bahan Alam. Cetakan Pertama, Yogyakarta: Gadjah Mada University Press
- Shahidi, dan N. Marian. 1995. *Food Phenolics: Sources, Chemistry, Effects, Applications*. United States of America: Lancaster, Inc.
- Seidel, V. 2008. Initial and Bulk Extraction. In: Sarker, S. D., Latif, Z. and Gray, A. I., editors. *Natural Products Isolation*. 2nd Ed. New Jersey: Humana Press. P.33-34.
- Singleton, V. L., dan Rossi, J. A. 1965. Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagent. *American Journal of Enology and Viticulture*. Vol. 16 (147).
- Siswoyo, T. A., Aldino, M., dan Hoshokawa, K. 2013. Free Radical Scavenging Activity and DNA Damage Protective Effect of Melinjo (*Gnetum gnemon* L.). *Journal of Medical Plant Research*. Vol 7 (32): 2399-2406.
- Stuessy, T. F. 1989. *Plant Taxonomy. The Systematic Evaluation of Comparative Data*. New York: Columbia University Press.
- Taga, M. S., Miller, E. E., dan Prat, D. E. 1984. Chia Seeds as A Source of Nature Lipid Antioxidant. *Journal of the American Oil Chemist's Society*. Vol. 61: 928-931.
- Tuminah, S. 2009. Peran Kolesterol HDL terhadap Penyakit Kardiovaskular dan Diabetes Mellitus. *Gizi Indonesia*. Vol. 32 (1): 69-76.
- Vermerris, dan Nicholson, R. 2009. *Phenolic Compound Biochemistry*. Springer, Dordrecht.
- Wahyudi, 2015. Potensi Ekstrak Fenolik Tanaman Obat Taman Nasional Meru Betiri: Bidara Upas (*Merreima mammosa*) dan Kayu Kuning (*Arcangelisia flava*) sebagai Antidiabet dan Antioksidan. Jember: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Jember.

- World Health Organization (WHO). 2014. Noncommunicable Disease Country Profiles 2014. 92, France: *World Health Organization*.
- Yuhernita dan Juniarti. 2011. Analisis Senyawa Metabolit Sekunder dari Ekstrak Metanol Daun Surian yang Berpotensi sebagai Antioksidan. Vol. 15 (1): 48-52.
- Zaliha, Raja, A. R., Norsyuhada, A., Adam, T. C., Mohd. Shukuri, Asilah, A. T., dan Abu, B. S. 2014. Antilipase and Antioxidant Activity of *Phyllanthus niruri* Methanolic Extract. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*. Vol. 9 (7): 133-136.
- Zhao, Y., Jun Dou, Tao Wu 1 dan Haji Akber. 2013. Investigating the Antioxidant and Acetylcholinesterase Inhibition Activities of *Gossypium herbaceam*. *Molecules*. Vol. 18: 551-962.
- Zhu, H., Wang, Y. Z., Liu, Y. X. & Xia, Y. L. 2009. Analysis of flavonoids in *Portulaca oleracea* L. by UV-Vis spectrophotometry with comparative study on different extraction technologies. *Food Analytical Methods*. Vol. 3 (2).
- Zulviyati. 2015. Uji Aktivitas Antioksidan dan Antihiperlipidemia Ekstrak Daun Kepuh (*Sterculia foetida*): Metode DPPH dan Penghambatan Lipase *In Vitro*. Jember: Fakultas Farmasi Universitas Negeri Jember.

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran A. Validasi Tumbuhan Bayur



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

BERITA ACARA PEMERIKSAAN PENGAMBILAN SAMPEL TUMBUHAN

Nomor : BA. 1271 /BTNMB-1/2015


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

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



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

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

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


Yang diperiksa,
 Pemohon,

 Zulviyati

Jember, 20 Mei 2015
 Yang memeriksa,

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



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


 Sulistrianto S.Si M.Si
 NIP. 196805101995031002

Lampiran B. Perhitungan Rendemen Maserasi

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

Ekstrak	Berat ekstrak (g)	Berat simplisia (g)	Rendemen (%)
EHB	2,44	50	4,880
EEB	3,23	48,35	6,680
EMB	4,18	47,52	8,796

Contoh perhitungan:

$$\begin{aligned} \text{EHB: Rendemen (\%)} &= \frac{2,44 \text{ g}}{50 \text{ g}} \times 100 \% \\ &= 4,880 \% \end{aligned}$$

Lampiran C. Analisis Kandungan Total Fenolik**C.1 Standar Asam Galat****C.1.1 Preparasi Standar Asam Galat**

Dibuat larutan induk asam galat dengan konsentrasi 1000 µg/mL, selanjutnya dilakukan uji kadar asam galat dengan 5 konsentrasi. Dari larutan induk, diambil volume 3; 6; 9; 12; dan 15 µL. Sehingga diperoleh konsentrasi akhir asam galat dalam larutan uji sebesar 2,7; 5,5; 8,2; 10,9; dan 13,6.

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

Contoh perhitungan:

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

$$1000 \text{ µg/mL} \times 3 \text{ µL} = M2 \times 1100 \text{ µL}$$

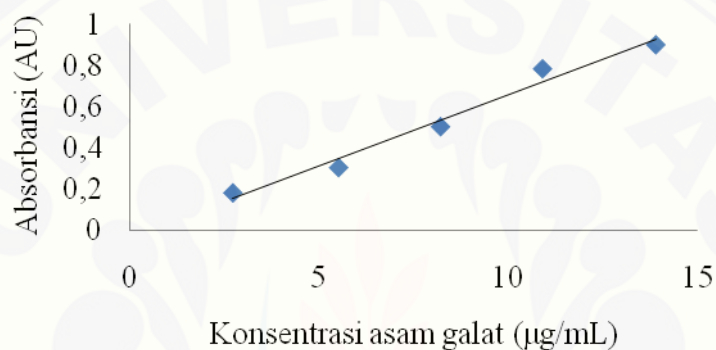
$$M2 = 3000 / 1100$$

$$M2 = 2,7 \text{ µg/mL}$$

C.1.2 Kurva Standar Asam Galat

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbansi Uji (AU)
2,7	0,194
5,5	0,311
8,2	0,512
10,9	0,794
13,6	0,88

Konsentrasi asam galat dan absorbansi diplotkan hingga diperoleh persamaan $y = 0,0683x - 0,0192$ dengan nilai $R^2 = 0,986$



C.2 Total Fenolik Ekstrak

C.2.1 Preparasi Ekstrak Uji

$$\text{Konsentrasi stok ekstrak} = \frac{\text{Berat ekstrak}}{\text{Volume metanol}}$$

Ekstrak	Berat ekstrak (mg)	Volume metanol (mL)	[Ekstrak] (mg/mL)
EHB	50	10	5
EEB	50	10	5
EMB	50	10	5

Contoh perhitungan:

$$\begin{aligned} \text{EHB: Konsentrasi stok ekstrak} &= \frac{50 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \\ &= 5 \text{ mg/mL} \end{aligned}$$

C.2.2 Pengujian Total Fenolik Ekstrak

Ekstrak	Stok ekstrak (μL)	Na ₂ CO ₃ (μL)	Folin Ciocalteu (μL)	Volume total (μL)
EHB	50	1000	50	1100
EEB	50	1000	50	1100
EMB	50	1000	50	1100

C.2.3 Perhitungan Total Fenolik Ekstrak

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

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

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

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

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

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

Ekstrak	Absorbansi	x ₁	FP	x ₂	x ₃	[Fenolik] (mg GAE/g)
EHB	0,544	8,246	22	181,411	36,283	36,089 ± 0,193
	0,541	8,202	22	180,445	36,089	
	0,538	8,158	22	179,479	35,896	
EEB	0,834	12,492	22	274,823	54,965	54,535 ± 0,377
	0,825	12,360	22	271,924	54,385	
	0,823	12,331	22	271,280	54,896	
EMB	0,627	9,461	22	208,146	41,629	41,500 ± 0,129
	0,625	9,432	22	207,502	41,500	
	0,623	9,403	22	206,858	41,372	

Contoh perhitungan:

$$\text{EHB: } y = 0,0683x - 0,0192$$

$$x_1 = \frac{0,544 + 0,0192}{0,0683}$$

$$= 8,246 \mu\text{g GAE/mL}$$

$$\text{FP} = \frac{1100 \mu\text{L}}{50 \mu\text{L}}$$

$$= 22$$

$$x_2 = 8,246 \text{ mg GAE/mL} \times 22$$

$$= 181,411 \text{ mg GAE/mL}$$

$$x_3 = \frac{181,411 \text{ mg GAE/mL}}{5 \text{ mg/mL}}$$

$$= 36,283 \text{ mg GAE/g}$$

Lampiran D. Analisis Kandungan Total Flavonoid

D.1 Standar Kuersetin

D.1.1 Preparasi Standar Kuersetin

Dibuat larutan induk kuersetin dengan konsentrasi 1000 µg/mL, selanjutnya dilakukan uji kadar kuersetin dengan 5 konsentrasi. Dari larutan induk, diambil volume 10; 20; 40; 50; dan 60 µL. Sehingga diperoleh konsentrasi akhir kuersetin dalam larutan uji sebesar 9,5; 19,0; 38,1; 47,6; dan 57,1 µg/mL.

M1 (konsentrasi larutan induk) (µg/mL)	V1 (volume larutan induk) (µL)	M2 (konsentrasi akhir uji) (µg/mL)	V2 (volume akhir uji) (µL)
1000	10	9,5	1050
1000	20	19,0	1050
1000	40	38,1	1050
1000	50	47,6	1050
1000	60	57,1	1050

Contoh perhitungan:

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

$$1000 \text{ µg/mL} \times 10 \text{ µL} = M2 \times 1050 \text{ µL}$$

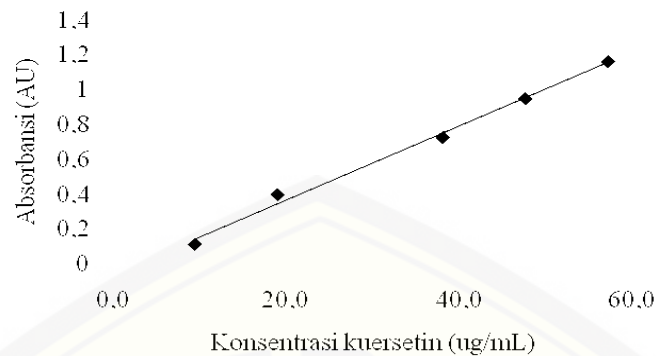
$$M2 = 10.000 / 1050$$

$$M2 = 9,5 \text{ µg/mL}$$

D.1.2 Kurva Standar Kuersetin

Konsentrasi (µg/mL)	Absorbansi Uji (AU)
9,5	0,114
19,0	0,399
38,1	0,726
47,6	0,948
57,1	1,160

Konsentrasi kuersetin dan absorbansi diplotkan hingga diperoleh persamaan $y = 0,021x - 0,056$ dengan nilai $R^2 = 0,993$



D.2 Total Flavonoid Ekstrak

D.2.1 Preparasi Ekstrak Uji

$$\text{Konsentrasi stok ekstrak} = \frac{\text{Berat ekstrak}}{\text{Volume metanol}}$$

Ekstrak	Berat ekstrak (mg)	Volume metanol (mL)	[Ekstrak] (mg/mL)
EHB	50	10	5
EEB	50	10	5
EMB	50	10	5

Contoh perhitungan:

$$\begin{aligned} \text{ENB: Konsentrasi stok ekstrak} &= \frac{50 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \\ &= 5 \text{ mg/mL} \end{aligned}$$

D.2.2 Pengujian Total Flavonoid Ekstrak

Ekstrak	Stok ekstrak (μL)	Metanol 50% (μL)	Akuades (μL)	NaNO ₂ (μL)	AlCl ₃ (μL)	NaOH (μL)	Akuades (μL)	Vol Tot
EHB	50	100	400	30	30	200	240	1050
EEB	50	100	400	30	30	200	240	1050
EMB	50	100	400	30	30	200	240	1050

D.2.3 Perhitungan Total Flavonoid Ekstrak

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

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

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

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

$$x_3 \text{ (mg QE/g)} = \frac{x_2}{\text{Konsentrasi ekstrak}}$$

$$\text{mg QE/g} = \text{Konsentrasi flavonoid atau [Flavonoid]}$$

Ekstrak	Absorbansi	x_1	FP	x_2	x_3	[Flavonoid] (mg QE/g)
EHB	0,268	15,429	21	324	64,8	63,933 ± 0,808
	0,263	15,190	21	319	63,8	
	0,268	15,048	21	316	63,2	
EEB	0,535	28,143	21	591	118,2	118,800 ± 0,6
	0,538	28,286	21	594	118,8	
	0,541	28,429	21	597	119,4	
EMB	0,485	25,762	21	541	108,2	107,667 ± 0,611
	0,483	25,667	21	539	107,8	
	0,479	25,476	21	535	107,0	

Contoh perhitungan:

$$\text{EHB: } y = 0,021x - 0,056$$

$$x_1 = \frac{0,268 + 0,056}{0,021}$$

$$= 15,425 \mu\text{g QE/mL}$$

$$\text{FP} = \frac{1050 \mu\text{L}}{50 \mu\text{L}}$$

$$= 21$$

$$x_2 = 15,425 \text{ mg QE/mL} \times 21$$

$$= 324 \text{ mg QE/mL}$$

$$x_3 = \frac{324 \text{ mg QE/mL}}{5 \text{ mg/mL}}$$

$$= 64,8 \text{ mg QE/g}$$

Lampiran E. Uji Penghambatan Lipase

E.1 Preparasi Kontrol Positif Orlistat

Orlistat yang digunakan dalam bentuk sediaan kapsul memiliki kandungan sebesar 120 mg dengan isi kapsul sebesar 226,8 mg. Ditimbang orlistat 5 mg, kemudian dilarutkan dalam 1 mL buffer. Sehingga didapatkan konsentrasi orlistat sebesar 2,64 mg/mL. Dari konsentrasi orlistat tersebut dibuat larutan stok orlistat dengan konsentrasi 150 µg/mL.

$$\frac{5 \text{ mg}}{226,8 \text{ mg}} \times 120 \text{ mg} = 2,64 \text{ mg}$$

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

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

$$2.640 \text{ µg/mL} \times V1 = 150 \text{ µg/mL} \times 1000 \text{ µL}$$

$$V1 = 56 \text{ µL}$$

Dari larutan stok orlistat dibuat 5 konsentrasi uji sebesar 1; 2; 3; 4; dan 5 µg/mL. Sehingga diambil volume dari larutan stok sebesar 10,3; 20,6; 31; 41,3; dan 51,6 µL. Konsentrasi 0 berlaku sebagai blanko.

M1 (konsentrasi larutan stok) (µg GAE/mL)	V1 (volume larutan uji) (µL)	M2 (konsentrasi uji) (µg/mL)	V2 (volume akhir uji) (µL)
150	10,3	1	1550
150	20,6	2	1550
150	31	3	1550
150	41,3	4	1550
150	51,6	5	1550

Contoh perhitungan :

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

$$150 \text{ µg GAE/mL} \times V1 = 1 \times 1550$$

$$V1 = 1550 / 150$$

$$V1 = 10,3 \text{ µL}$$

E.2 Preparasi Ekstrak Uji

Dibuat larutan stok ekstrak dengan konsentrasi fenolik terkecil sebesar 150 µg GAE/mL, selanjutnya dilakukan uji penghambatan lipase dengan 5 konsentrasi uji. Dari larutan stok ekstrak, diambil volume 10,3; 20,6; 31; 41,3; dan 51,6 µL. Sehingga diperoleh konsentrasi uji sebesar 1; 2; 3; 4; dan 5 µg GAE/mL. Konsentrasi 0 berlaku sebagai blanko.

M1 (konsentrasi larutan stok) (µg GAE/mL)	V1 (volume larutan uji) (µL)	M2 (konsentrasi uji) (µg/mL)	V2 (volume akhir uji) (µL)
150	10,3	1	1550
150	20,6	2	1550
150	31	3	1550
150	41,3	4	1550
150	51,6	5	1550

Contoh perhitungan :

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

$$150 \text{ µg GAE/mL} \times V1 = 1 \times 1550 \text{ µL}$$

$$V1 = 1550 / 150$$

$$V1 = 10,3 \text{ µL}$$

E.3 Pengujian Penghambatan Lipase

E.3.1 Kontrol Positif Orlistat

Konsentrasi uji (µg/mL)	Substrat p-NPB (µL)	Orlistat (µL)	Buffer (µL)	Enzim lipase (µL)	Aseton (µL)
0	425	-	50	75	1000
1	425	10,3	39,7	75	1000
2	425	20,6	29,4	75	1000
3	425	31	19	75	1000
4	425	41,3	8,7	75	1000
5	425	51,6	-	75	1000

E.3.1 Ekstrak Uji

Konsentrasi uji ($\mu\text{g/mL}$)	Substrat p-NPB (μL)	Ekstrak (μL)	Buffer (μL)	Enzim lipase (μL)	Aseton (μL)
0	425	-	50	75	1000
1	425	10,3	39,7	75	1000
2	425	20,6	29,4	75	1000
3	425	31	19	75	1000
4	425	41,3	8,7	75	1000
5	425	51,6	-	75	1000

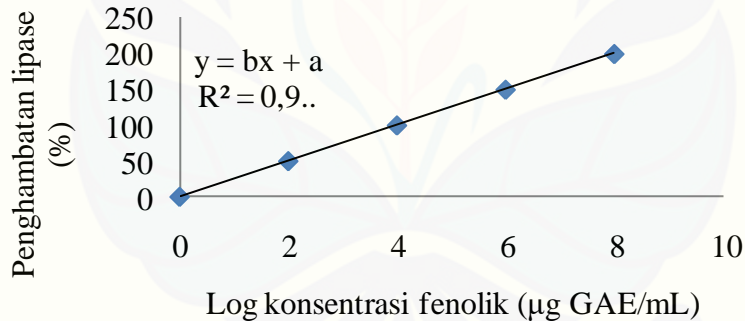
E.4 Perhitungan Nilai IC_{50} Penghambatan Lipase

$$\text{Penghambatan lipase (\%)} = \frac{A \text{ blanko} - A \text{ uji}}{A \text{ blanko}} \times 100\%$$

A blanko = absorbansi pengujian tanpa sampel \Rightarrow [Fenolik] = 0

A uji = absorbansi pengujian dengan sampel uji \Rightarrow [Fenolik] = 1 – 5
 $\mu\text{g GAE/mL}$

Kurva penghambatan lipase:



Perhitungan Nilai $\text{IC}_{50} \Rightarrow x = \frac{y - a}{b}$ dimana $y = 50$

$\text{antilog } x = \text{IC}_{50}$

Ekstrak	[Fenolik] (μg GAE/mL)	Log [Fenolik]	Absorbansi uji			Penghambatan lipase (%)			y=bx+a	IC ₅₀ (μg GAE/mL)	IC ₅₀ (μg ekstrak/mL)
			Rep 1	Rep 2	Rep 3	Rep1	Rep 2	Rep 3			
Blanko	0	-	0,375	0,376	0,378	-	-	-	-	-	
Orlistat	1	0	0,179	0,178	0,170	52,267	52,660	55,026	$y_1 = 29,63x + 51,94$ $R^2 = 0,996$	-	$0,769 \pm 1,996$
	2	0,301	0,149	0,149	0,146	60,267	60,372	61,376			
	3	0,477	0,128	0,126	0,125	65,867	66,489	66,931	$y_2 = 29,71x + 52,27$ $R^2 = 0,995$		
	4	0,602	0,111	0,110	0,110	70,400	70,745	70,899			
	5	0,699	0,103	0,102	0,104	72,533	72,872	72,487	$y_3 = 25,92x + 54,56$ $R^2 = 0,991$		
EHB	1	0	0,198	0,201	0,200	47,2	46,543	47,090	$y_1 = 28,62x + 47,67$ $R^2 = 0,991$	$1,239 \pm 0,032$	$34,149 \pm 0,883$
	2	0,301	0,160	0,163	0,166	57,333	56,649	56,085			
	3	0,477	0,145	0,146	0,145	61,333	61,170	61,640	$y_2 = 29,30x + 46,96$ $R^2 = 0,991$		
	4	0,602	0,135	0,137	0,142	64	63,564	62,434			
	5	0,699	0,120	0,121	0,124	68	67,819	67,196	$y_3 = 27,59x + 47,41$ $R^2 = 0,982$		
EEB	1	0	0,125	0,128	0,129	66,667	65,957	65,873	$y_1 = 15,99x + 66,30$ $R^2 = 0,992$	$0,101 \pm 0,005$	$1,844 \pm 0,092$
	2	0,301	0,110	0,110	0,114	70,667	70,745	69,841			
	3	0,477	0,099	0,100	0,101	73,600	73,404	73,280	$y_2 = 16,01x + 65,89$ $R^2 = 0,997$		
	4	0,602	0,090	0,093	0,094	76	75,266	75,132			
	5	0,699	0,083	0,085	0,087	77,867	77,394	76,984	$y_3 = 15,97x + 65,57$ $R^2 = 0,994$		
EMB	1	0	0,178	0,181	0,182	52,533	51,862	51,852	$y_1 = 19,55x + 52,08$ $R^2 = 0,992$	$0,816 \pm 0,034$	$19,610 \pm 0,810$
	2	0,301	0,160	0,161	0,159	57,333	57,181	57,937			
	3	0,477	0,146	0,144	0,146	61,067	61,702	61,376	$y_2 = 21,52x + 51,50$ $R^2 = 0,986$		
	4	0,602	0,135	0,130	0,132	64	65,426	65,079			
	5	0,699	0,127	0,130	0,130	66,133	66,133	65,608	$y_3 = 20,49x + 51,85$ $R^2 = 0,990$		

Contoh perhitungan:

EHB:

$$[\text{Fenolik}] = 1 \mu\text{gGAE/mL} \quad \text{Log} [\text{Fenolik}] = 0$$

$$\text{Penghambatan} = \frac{0,375 - 0,198}{0,375} \times 100\%$$

$$= 47,2 \%$$

$$[\text{Fenolik}] = 2 \mu\text{gGAE/mL} \quad \text{Log} [\text{Fenolik}] = 0,301$$

$$\text{Penghambatan} = \frac{0,375 - 0,160}{0,375} \times 100\%$$

$$= 56,649 \%$$

$$[\text{Fenolik}] = 3 \mu\text{gGAE/mL} \quad \text{Log} [\text{Fenolik}] = 0,477$$

$$\text{Penghambatan} = \frac{0,375 - 0,145}{0,375} \times 100\%$$

$$= 61,333 \%$$

$$[\text{Fenolik}] = 4 \mu\text{gGAE/mL} \quad \text{Log} [\text{Fenolik}] = 0,602$$

$$\text{Penghambatan} = \frac{0,375 - 0,135}{0,375} \times 100\%$$

$$= 64 \%$$

$$[\text{Fenolik}] = 5 \mu\text{gGAE/mL} \quad \text{Log} [\text{Fenolik}] = 0,699$$

$$\text{Penghambatan} = \frac{0,375 - 0,120}{0,375} \times 100\%$$

$$= 68 \%$$

Data kemudian diplotkan antara log [Fenolik] dengan penghambatan (%), dan didapatkan persamaan $y = 28,62x + 47,67$ dengan nilai $R^2 = 0,991$. Selanjutnya ditentukan nilai IC_{50} dengan $y = 50$.

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

$$x = \frac{50 - 47,67}{28,62}$$

$$= 0,0814 \Rightarrow \text{antilog } 0,0814 = 1,206$$

$$\text{Nilai } IC_{50} = 1,206 \mu\text{gGAE/mL}$$

Lampiran F. Uji Peredaman Radikal DPPH

F.1 Preparasi Kontrol Positif Asam Askorbat

Ditimbang asam askorbat sebanyak 1,0 mg, kemudian dilarutkan dalam metanol sampai volume 1,0 mL, sehingga diperoleh konsentrasi asam askorbat 1 mg/mL. Dari konsentrasi asam askorbat tersebut dibuat larutan stok asam askorbat dengan konsentrasi 150 µg/mL.

$$\text{Konsentrasi asam askorbat} = \frac{1 \text{ mg}}{1 \text{ mL}} = 1 \text{ mg/mL}$$

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

$$1000 \text{ µg/mL} \times V1 = 150 \text{ µg/mL} \times 1000 \text{ µL}$$

$$V1 = 150 \text{ µL}$$

Dari larutan stok asam askorbat dibuat 5 konsentrasi uji sebesar 1; 2; 3; 4; dan 5 µg/mL. Sehingga diambil volume dari larutan stok sebesar 6,8; 13,7; 20,6; 27,5; dan 34,4 µL. Konsentrasi 0 berlaku sebagai blanko.

M1 (konsentrasi larutan stok) (µg GAE/mL)	V1 (volume larutan uji) (µL)	M2 (konsentrasi uji) (µg/mL)	V2 (volume akhir uji) (µL)
150	6,8	1	1033
150	13,7	2	1033
150	20,6	3	1033
150	27,5	4	1033
150	34,4	5	1033

Contoh perhitungan :

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

$$150 \text{ µg GAE/mL} \times V1 = 1 \times 1033 \text{ µL}$$

$$V1 = 1033 / 150$$

$$V1 = 6,8 \text{ µL}$$

F.2 Preparasi Ekstrak Uji

Dibuat larutan stok ekstrak dengan konsentrasi fenolik terkecil sebesar 150 $\mu\text{g GAE/mL}$, selanjutnya dilakukan uji peredaman radikal DPPH dengan 5 konsentrasi uji. Konsentrasi 0 berlaku sebagai blanko.

Ekstrak n-heksana bayur

M1 (konsentrasi larutan stok) ($\mu\text{g GAE/mL}$)	V1 (volume larutan uji) (μL)	M2 (konsentrasi uji) ($\mu\text{g/mL}$)	V2 (volume akhir uji) (μL)
150	20,6	3	1033
150	34,4	5	1033
150	48,2	7	1033
150	61,9	9	1033
150	75,7	11	1033

Ekstrak etil asetat bayur

M1 (konsentrasi larutan stok) ($\mu\text{g GAE/mL}$)	V1 (volume larutan uji) (μL)	M2 (konsentrasi uji) ($\mu\text{g/mL}$)	V2 (volume akhir uji) (μL)
150	6,8	1	1033
150	13,7	2	1033
150	20,6	3	1033
150	27,5	4	1033
150	34,4	5	1033

Ekstrak metanol bayur

M1 (konsentrasi larutan stok) ($\mu\text{g GAE/mL}$)	V1 (volume larutan uji) (μL)	M2 (konsentrasi uji) ($\mu\text{g/mL}$)	V2 (volume akhir uji) (μL)
150	1,7	0,25	1033
150	3,4	0,5	1033
150	6,8	1	1033
150	10,3	1,5	1033
150	13,7	2	1033

Contoh perhitungan:

$$\text{EHB: } M1 \times V1 = M2 \times V2$$

$$150 \mu\text{g GAE/mL} \times V1 = 3 \times 1033$$

$$V1 = 3.099 / 150$$

$$V1 = 20,6 \mu\text{L}$$

F.3 Pengujian Peredaman Radikal DPPH

F.3.1 Kontrol Positif Asam Askorbat

Konsentrasi uji ($\mu\text{g/mL}$)	As. Askorbat (μL)	Metanol 50% (μL)	Etanol 80% (μL)	Larutan DPPH (μL)
0	-	34,4	698,6	300
1	6,8	27,6	698,6	300
2	13,7	20,7	698,6	300
3	20,6	13,8	698,6	300
4	27,5	6,9	698,6	300
5	34,4	-	698,6	300

F.3.2 Ekstrak Uji

Ekstrak n-heksana bayur

Konsentrasi uji ($\mu\text{g/mL}$)	Ekstrak (μL)	Metanol 50% (μL)	Etanol 80% (μL)	Larutan DPPH (μL)
0	-	75,7	657,4	300
3	20,6	55,1	657,3	300
5	34,4	41,3	657,3	300
7	48,2	27,5	657,3	300
9	61,9	13,8	657,3	300
11	75,7	-	657,3	300

Ekstrak etil asetat bayur

Konsentrasi uji ($\mu\text{g/mL}$)	Ekstrak (μL)	Metanol 50% (μL)	Etanol 80% (μL)	Larutan DPPH (μL)
0	-	34,4	698,6	300
1	6,8	27,6	698,6	300
2	13,7	20,7	698,6	300
3	20,6	13,8	698,6	300
4	27,5	6,9	698,6	300
5	34,4	-	698,6	300

Ekstrak metanol bayur

Konsentrasi uji ($\mu\text{g/mL}$)	Ekstrak (μL)	Metanol 50% (μL)	Etanol 80% (μL)	Larutan DPPH (μL)
0	-	33	700	300
0,25	1,7	31,3	700	300
0,5	3,4	29,6	700	300
1	6,8	26,2	700	300
1,5	10,3	22,7	700	300
2	13,7	19,3	700	300

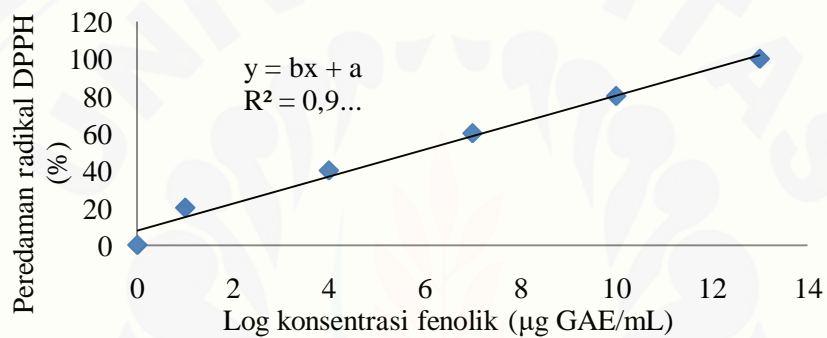
F.3 Perhitungan Nilai IC₅₀ Peredaman Radikal DPPH

$$\text{Peredaman DPPH (\%)} = \frac{A \text{ blanko} - A \text{ uji}}{A \text{ blanko}} \times 100\%$$

A blanko = absorbansi pengujian tanpa sampel \Rightarrow [Fenolik] = 0

A uji = absorbansi pengujian dengan sampel uji \Rightarrow [Fenolik] = 0,25 - 11
 $\mu\text{gGAE/mL}$

Kurva peredaman DPPH:



Perhitungan Nilai IC₅₀ $\Rightarrow x = \frac{y - a}{b}$ dimana $y = 50$

antilog $x = \text{IC}_{50}$

Ekstrak	[Fenolik] (μg GAE/mL)	Log [Fenolik]	Absorbansi uji			Peredaman DPPH (%)			y=bx+a	IC ₅₀ (μg GAE/mL)	IC ₅₀ (μg ekstrak/mL)
			Rep 1	Rep 2	Rep 3	Rep1	Rep 2	Rep 3			
Blanko	0	0	0,771	0,775	0,780	-	-	-	$y_1 = 72,37x + 26,79$		
Asam	1	0	0,554	0,550	0,558	28,145	29,032	28,462	$R^2 = 0,994$		
Askorbat	2	0,301	0,411	0,410	0,415	46,693	47,097	46,795	$y_2 = 70,37x + 27,87$	-	$2,078 \pm 0,015$
	3	0,477	0,303	0,298	0,306	60,700	61,548	60,769	$R^2 = 0,995$		
	4	0,602	0,233	0,235	0,230	69,780	69,677	70,513	$y_3 = 72,10x + 27,09$		
	5	0,699	0,161	0,168	0,165	79,118	78,323	78,846	$R^2 = 0,994$		
	EHB	0	0	0,957	0,956	0,959	-	-	-		
	3	0,477	0,757	0,749	0,733	20,899	21,653	23,566	$R^2 = 0,997$	$7,192 \pm 0,145$	$199,225 \pm 3,984$
	5	0,699	0,614	0,607	0,605	35,841	36,506	36,913	$y_2 = 76,29x - 15,39$		
	7	0,845	0,497	0,482	0,480	48,067	49,582	49,948	$R^2 = 0,997$		
	9	0,954	0,404	0,404	0,398	57,785	57,741	58,498	$y_3 = 74,22x - 12,93$		
	11	1,041	0,349	0,344	0,340	63,532	64,017	64,546	$R^2 = 0,994$		
EEB	0	0	0,815	0,818	0,819	-	-	-	$y_1 = 72,77x + 4,952$		
	1	0	0,761	0,762	0,764	6,626	6,846	6,716	$R^2 = 0,991$	$4,191 \pm 0,037$	$76,667 \pm 1,370$
	2	0,301	0,614	0,615	0,620	24,663	24,817	24,298	$y_2 = 71,97x + 5,276$		
	3	0,477	0,501	0,502	0,498	38,528	38,631	39,194	$R^2 = 0,992$		
	4	0,602	0,421	0,423	0,433	48,344	48,289	47,131	$y_3 = 71,58x + 5,155$		
	5	0,699	0,343	0,348	0,350	57,914	57,457	57,265	$R^2 = 0,991$		
EMB	0	0	0,600	0,607	0,597	-	-	-	$y_1 = 73,76x + 49,35$		
	0,25	-0,602	0,554	0,547	0,544	7,667	9,885	8,878	$R^2 = 0,990$	$0,999 \pm 0,018$	$23,998 \pm 0,437$
	0,5	-0,301	0,455	0,447	0,439	24,167	26,359	26,466	$y_2 = 71,09x + 50,34$		
	1	0	0,316	0,311	0,312	47,333	48,764	47,739	$R^2 = 0,992$		
	1,5	0,176	0,229	0,230	0,222	61,833	62,109	62,814	$y_3 = 72,73x + 50,38$		
	2	0,301	0,154	0,156	0,149	74,333	74,300	75,042	$R^2 = 0,991$		

Contoh perhitungan:

EHB:

$$[\text{Fenolik}] = 3 \mu\text{gGAE/mL} \quad \text{Log [Fenolik]} = 0,477$$

$$\text{Penghambatan} = \frac{0,957 - 0,757}{0,957} \times 100\%$$

$$= 20,899 \%$$

$$[\text{Fenolik}] = 5 \mu\text{gGAE/mL} \quad \text{Log [Fenolik]} = 0,699$$

$$\text{Penghambatan} = \frac{0,957 - 0,614}{0,957} \times 100\%$$

$$= 35,841 \%$$

$$[\text{Fenolik}] = 7 \mu\text{gGAE/mL} \quad \text{Log [Fenolik]} = 0,845$$

$$\text{Penghambatan} = \frac{0,957 - 0,497}{0,957} \times 100\%$$

$$= 48,067 \%$$

$$[\text{Fenolik}] = 9 \mu\text{gGAE/mL} \quad \text{Log [Fenolik]} = 0,954$$

$$\text{Penghambatan} = \frac{0,957 - 0,404}{0,957} \times 100\%$$

$$= 57,785 \%$$

$$[\text{Fenolik}] = 11 \mu\text{gGAE/mL} \quad \text{Log [Fenolik]} = 1,041$$

$$\text{Penghambatan} = \frac{0,957 - 0,397}{0,957} \times 100\%$$

$$= 63,532 \%$$

Data kemudian diplotkan antara log [Fenolik] dengan penghambatan (%), dan didapatkan persamaan $y = 77,01x - 16,64$ dengan nilai $R^2 = 0,997$. Selanjutnya ditentukan nilai IC_{50} dengan $y = 50$.

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

$$x = \frac{50 + 16,64}{77,01}$$

$$= 0,865 \Rightarrow \text{antilog } 0,865 = 7,328$$

$$\text{Nilai } IC_{50} = 7,328 \mu\text{gGAE/mL}$$

Lampiran G. Hasil Uji Statistik Kandungan Total Fenolik, Flavonoid, Nilai Ic_{50} Penghambatan Lipase, Dan Nilai Ic_{50} Peredaman Radikal Dpph Ekstrak Daun Bayur

G.1 Kandungan Total Fenolik Ekstrak

a. Uji Normalitas

Tests of Normality

Pelarut	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk			
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.	
Kandungan fenolik	N-heksana	.175	3	.	1.000	3	.997
	Etil asetat	.346	3	.	.838	3	.208
	Metanol	.175	3	.	1.000	3	.996

a. Lilliefors Significance Correction

Hasil uji normalitas menunjukkan bahwa data normal ($p > 0,05$).

b. Uji Homogenitas dan ANOVA Satu Arah

Test of Homogeneity of Variances

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.955	2	6	.222

Hasil uji homogenitas menunjukkan bahwa data homogen ($p > 0,05$), sehingga dapat dilanjutkan dengan uji ANOVA.

ANOVA

Kandungan fenolik	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	552.968	2	276.484	5.374E3	.000
Within Groups	.309	6	.051		
Total	553.277	8			

Hasil uji ANOVA menunjukkan bahwa terdapat perbedaan signifikan antar kelompok perlakuan ($p < 0,05$), sehingga dapat dilanjutkan uji *Pos Hoc* LSD.

c. Hasil Uji LSD

Multiple ComparisonsKandungan fenolik
LSD

(I) Pelarut	(J) Pelarut	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
N-heksana	Etil asetat	-18.659333*	.185194	.000	-19.11249	-18.20618
	Metanol	-5.411000*	.185194	.000	-5.86415	-4.95785
Etil asetat	N-heksana	18.659333*	.185194	.000	18.20618	19.11249
	Metanol	13.248333*	.185194	.000	12.79518	13.70149
Metanol	N-heksana	5.411000*	.185194	.000	4.95785	5.86415
	Etil asetat	-13.248333*	.185194	.000	-13.70149	-12.79518

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

G.2 Kandungan Total Flavonoid Ekstrak

a. Uji Normalitas

Tests of Normality

Pelarut	Kandungan flavonoid	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Kandungan flavonoid	N-heksana	.175	3	.	1.000	3	1.000
	Etil asetat	.175	3	.	1.000	3	1.000
	Metanol	.253	3	.	.964	3	.637

a. Lilliefors Significance Correction

Hasil uji normalitas menunjukkan bahwa data normal ($p > 0,05$).

b. Uji Homogenitas dan ANOVA Satu Arah

Test of Homogeneity of Variances

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.346	2	6	.721

Hasil uji homogenitas menunjukkan bahwa data homogen ($p > 0,05$), sehingga dapat dilanjutkan dengan uji ANOVA.

ANOVA

Kandungan flavonoid	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	5073.236	2	2536.618	4.390E3	.000
Within Groups	3.467	6	.578		
Total	5076.702	8			

Hasil uji ANOVA menunjukkan bahwa terdapat perbedaan signifikan antar kelompok perlakuan ($p < 0,05$), sehingga dapat dilanjutkan uji *Pos Hoc* LSD.

c. Hasil Uji LSD

Multiple Comparisons

Kandungan flavonoid

LSD

(I) Pelarut	(J) Pelarut	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
N-heksana	Etil asetat	-55.000000*	.620633	.000	-56.51863	-53.48137
	Metanol	-43.866667*	.620633	.000	-45.38530	-42.34803
Etil asetat	N-heksana	55.000000*	.620633	.000	53.48137	56.51863
	Metanol	11.133333*	.620633	.000	9.61470	12.65197
Metanol	N-heksana	43.866667*	.620633	.000	42.34803	45.38530
	Etil asetat	-11.133333*	.620633	.000	-12.65197	-9.61470

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

G.3 Nilai IC₅₀ Penghambatan Lipase

a. Uji Normalitas

Tests of Normality

Pelarut	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
IC50gram N-heksana	.191	3	.	.997	3	.898
Etil asetat	.220	3	.	.986	3	.776
Metanol	.218	3	.	.988	3	.787

a. Lilliefors Significance Correction

Hasil uji normalitas menunjukkan bahwa data normal ($p > 0,05$).

b. Uji Homogenitas dan ANOVA Satu Arah

Test of Homogeneity of Variances

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.082	2	6	.206

Hasil uji homogenitas menunjukkan bahwa data homogen ($p > 0,05$), sehingga dapat dilanjutkan dengan uji ANOVA.

ANOVA

IC ₅₀	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1570.691	2	785.345	1.631E3	.000
Within Groups	2.889	6	.482		
Total	1573.580	8			

Hasil uji ANOVA menunjukkan bahwa terdapat perbedaan signifikan antar kelompok perlakuan ($p < 0,05$), sehingga dapat dilanjutkan uji *Pos Hoc* LSD.

c. Hasil Uji LSD

Multiple ComparisonsIC₅₀
LSD

(I) Pelarut	(J) Pelarut	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
N-heksana	Etil asetat	32.305667*	.566590	.000	30.91927	33.69206
	Metanol	14.539333*	.566590	.000	13.15294	15.92573
Etil asetat	N-heksana	-32.305667*	.566590	.000	-33.69206	-30.91927
	Metanol	-17.766333*	.566590	.000	-19.15273	-16.37994
Metanol	N-heksana	-14.539333*	.566590	.000	-15.92573	-13.15294
	Etil asetat	17.766333*	.566590	.000	16.37994	19.15273

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

G.4 Nilai IC₅₀ Peredaman Radikal DPPH

a. Uji Normalitas

Tests of Normality

Pelarut	IC ₅₀	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
N-heksana		.182	3	.	.999	3	.937
Etil asetat		.331	3	.	.864	3	.280
Metanol		.375	3	.	.773	3	.052

a. Lilliefors Significance Correction

Hasil uji normalitas menunjukkan bahwa data normal ($p > 0,05$).

b. Uji Homogenitas dan ANOVA Satu Arah

Test of Homogeneity of Variances

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.578	2	6	.156

Hasil uji homogenitas menunjukkan bahwa data homogen ($p > 0,05$), sehingga dapat dilanjutkan dengan uji ANOVA.

ANOVA

IC ₅₀	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	47909.619	2	23954.809	4.004E3	.000
Within Groups	35.898	6	5.983		
Total	47945.516	8			

Hasil uji ANOVA menunjukkan bahwa terdapat perbedaan signifikan antar kelompok perlakuan ($p < 0,05$), sehingga dapat dilanjutkan uji *Pos Hoc* LSD.

c. Hasil Uji LSD

Multiple Comparisons

IC₅₀gram

LSD

(I) Pelarut	(J) Pelarut	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
N-heksana	Etil asetat	121.564333*	1.997151	.000	116.67748	126.45119
	Metanol	174.234333*	1.997151	.000	169.34748	179.12119
Etil asetat	N-heksana	-121.564333*	1.997151	.000	-126.45119	-116.67748
	Metanol	52.670000*	1.997151	.000	47.78315	57.55685
Metanol	N-heksana	-174.234333*	1.997151	.000	-179.12119	-169.34748
	Etil asetat	-52.670000*	1.997151	.000	-57.55685	-47.78315

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