



**POTENSI EKSTRAK DAUN JATI BELANDA (*Guazuma ulmifolia* Lam.)  
SEBAGAI ANTIDIABETES DAN ANTIOKSIDAN: METODE  
PENGHAMBATAN ENZIM  $\alpha$ -GLUKOSIDASE DAN DPPH *IN VITRO***

**SKRIPSI**

Oleh:

**Firdausia Irawanda Rachmi  
NIM. 122210101101**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS JEMBER  
2016**



**POTENSI EKSTRAK DAUN JATI BELANDA (*Guazuma ulmifolia* Lam.)  
SEBAGAI ANTIDIABETES DAN ANTIOKSIDAN: METODE  
PENGHAMBATAN ENZIM  $\alpha$ -GLUKOSIDASE 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:  
**Firdausia Irawanda Rachmi**  
**NIM. 122210101101**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS JEMBER  
2016**

## PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk :

1. Allah SWT Yang Maha Segala-galanya
2. Orang tua tercinta, bapak Bambang Irawan dan ibu Rachmi Masnilah atas segala do'a, dukungan moril maupun materi, pengorbanan, kepercayaan, semangat, motivasi, cinta dan kasih sayang yang telah diberikan selama ini. Semoga Allah selalu melimpahkan rahmat dan rizki serta membalas dengan surga-Nya.
3. Seluruh guru-guru tercinta yang telah mendidik saya selama dibangku SDN Jember Lor 3 Jember, SMP Negeri 2 Jember, SMA Negeri 2 Jember dan juga bapak ibu dosen tercinta Fakultas Farmasi Universitas Jember yang telah membimbing dan memberikan ilmunya selama menempuh pendidikan Strata Satu ini.
4. Seluruh saudara seperjuangan Farmasi angkatan 2012 "Petrok Rollas"
5. Almamater Fakultas Farmasi Universitas Jember.

**MOTTO**

Maka sesungguhnya bersama kesulitan ada kemudahan. Maka apabila engkau telah selesai (dari sesuatu urusan), tetaplah bekerja keras untuk (urusan yang lain). Dan hanya kepada Tuhanmulah engkau berharap. (terjemahan Surat *Al-Insyirah* ayat 6-8)

Berdoalah kepada-Ku, niscaya akan Ku perkenankan bagimu.  
(terjemahan Surat *Al-Mukmin* ayat 60)

*To get a success, your courage must be greater than your fear*

**PERNYATAAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama: Firdausia Irawnda Rachmi

NIM : 122210101101

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul "Potensi Ekstrak Daun Jati belanda (*Guazuma ulmifolia* Lam.) sebagai Antidiabetes dan Antioksidan: Metode Penghambatan Enzim  $\alpha$ -Glukosidase dan DPPH *In Vitro*" adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi mana pun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab penuh atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

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

Jember, 19 Agustus 2016

yang menyatakan,

Firdausia Irawanda Rachmi

NIM 122210101101

**SKRIPSI**

**POTENSI EKSTRAK DAUN JATI BELANDA (*Guazuma ulmifolia* Lam.)  
SEBAGAI ANTIDIABETES DAN ANTIOKSIDAN: METODE  
PENGHAMBATAN ENZIM  $\alpha$ -GLUKOSIDASE DAN DPPH *IN VITRO***

Oleh

Firdausia Irawanda Rachmi  
NIM 122210101101

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 “Potensi Ekstrak Daun Jati belanda (*Guazuma ulmifolia* Lam.) sebagai Antidiabetes dan Antioksidan: Metode Penghambatan Enzim  $\alpha$ -Glukosidase dan DPPH *In Vitro*” telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Farmasi Universitas Jember pada:

Hari : Jumat  
Tanggal : 19 Agustus 2016  
Tempat : Fakultas Farmasi

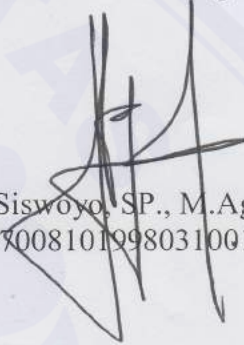
Tim Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama,



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

Dosen Pembimbing Anggota,



Prof. Tri Agus Siswoyo, SP., M.Agr., Ph.D  
NIP. 197008101998031001

Tim Penguji

Dosen Penguji I,



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

Dosen Penguji II,

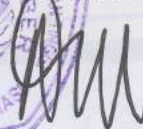


Lusia Oktora RKS, S.Farm., M.Sc., Apt.  
NIP. 197910032003122001



Mengesahkan,

Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember



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

## RINGKASAN

**Potensi Ekstrak Daun Jati Belanda (*Guazuma ulmifolia* Lam.) sebagai Antidiabetes dan Antioksidan: Metode Penghambatan Enzim  $\alpha$ -Glukosidase dan DPPH *In Vitro***; Firdausia Irawanda Rachmi, 122210101101; 2016; 38 halaman; Fakultas Farmasi Universitas Jember

Diabetes mellitus (DM) adalah suatu penyakit dengan gangguan metabolisme kronis yang ditandai dengan tingginya kadar glukosa darah akibat disfungsi insulin. Pada pasien DM, jumlah dan aktivitas enzim  $\alpha$ -glukosidase sebagai pemecah karbohidrat menjadi glukosa mengalami peningkatan. Oleh karena itu diperlukan jenis antidiabetika untuk menghambat enzim  $\alpha$ -glukosidase. DM yang terjadi berkelanjutan meningkatkan risiko berbagai komplikasi yang berakibat fatal yaitu terjadinya kerusakan mikrovaskular (retinopati, nefropati, dan neuropati) dan makrovaskular (penyakit jantung, stroke, dan kerusakan pembuluh darah). Hal itu disebabkan oleh adanya proses oksidasi sehingga dapat dihambat dengan antioksidan.

Salah satu tanaman yang dapat dikembangkan potensinya adalah jati belanda (*Guazuma ulmifolia* Lam.). Daun jati belanda mengandung flavonoid, asam fenolat, tanin, steroid atau triterpenoid, dan karotenoid. Berdasarkan kandungan fenol dan flavonoid jati belanda diharapkan memiliki aktivitas untuk menghambat enzim  $\alpha$ -glukosidase dan juga sebagai antioksidan.

Jenis penelitian ini adalah *true experimental laboratories*. Sampel daun jati diambil dari Taman Nasional Meru Betiri. Tahapan penelitian ini yaitu daun jati belanda dibuat menjadi serbuk simplisia, kemudian dilakukan ekstraksi dengan maserasi bertingkat dan didapatkan randemen ekstrak n-heksana daun jati belanda (EHJ), ekstrak etil asetat daun jati belanda (EEJ), dan ekstrak metanol daun jati belanda (EMJ). Ekstrak jati belanda dilakukan pengujian total fenolik, total flavonoid, uji aktivitas antidiabetes penghambatan enzim  $\alpha$ -glukosidase dan uji antioksidan DPPH *in vitro*.

Rendemen ekstrak yang dihasilkan dari proses ekstraksi yaitu ekstrak daun jati belanda untuk ekstrak n-heksana, etil asetat, dan metanol adalah 1,680 %,



2,343%, dan 5,213%. Hal ini diduga karena senyawa pada daun jati belanda lebih banyak yang memiliki sifat polar sehingga kelarutannya pada senyawa polar lebih tinggi daripada semipolar dan nonpolar. Total fenolik ekstrak daun jati belanda untuk ekstrak n-heksana, etil asetat, dan metanol adalah  $29,754 \pm 0,452$ ;  $445,795 \pm 0,548$ ;  $58,250 \pm 0,726$  mg GAE/gram ekstrak dan total flavonoid ekstrak daun jati belanda untuk ekstrak n-heksana, etil asetat, dan metanol adalah  $118,379 \pm 0,750$ ;  $175,04 \pm 1,194$ ;  $135,615 \pm 1,392$  mg GAE/gram ekstrak. Total fenolik ekstrak daun jati belanda meningkat setara dengan peningkatan kepolaran pelarut yang digunakan dalam ekstraksi. Senyawa flavonoid paling banyak larut pada pelarut semipolar yaitu flavonoid golongan flavon, flavanon, dan flavonol. Golongan flavonoid yang memiliki gugus gula menyebabkan larut pada pelarut polar yaitu metanol. Golongan flavonoid yaitu isoflavon larut pada pelarut nonpolar yaitu n-heksana.

Uji penghambatan enzim  $\alpha$ -glukosidase menunjukkan bahwa ekstrak metanol daun jati belanda memiliki aktivitas paling tinggi diikuti oleh etil asetat dan n-heksana dengan nilai  $IC_{50}$  masing-masing adalah  $563,724 \pm 4,080$ ;  $187,5 \pm 4,96$ ;  $70,985 \pm 0,46$   $\mu$ g Ekstrak/mL. Senyawa fenolik yaitu asam kafeat, asam ferulat dan asam kumarat dan senyawa flavonoid yaitu luteolin diduga dapat menghambat enzim  $\alpha$ -glukosidase Uji peredaman radikal DPPH menunjukkan bahwa ekstrak metanol daun jati belanda memiliki aktivitas paling tinggi diikuti oleh etil asetat dan n-heksana dengan nilai  $IC_{50}$  masing-masing adalah  $293,694 \pm 0,665$ ;  $133,018 \pm 1,67$ ;  $64,897 \pm 0,08$   $\mu$ g Ekstrak/mL. Senyawa pada jati belanda yang diduga berperan terhadap aktivitas antioksidan adalah asam kafeat dan asam ferulat. Berdasarkan aktivitas antidiabetes penghambatan enzim  $\alpha$ -glukosidase dan aktivitas antioksidan peredaman radikal DPPH, maka ekstrak terbaik yang memiliki aktivitas tersebut adalah ekstrak metanol daun jati belanda.

## PRAKATA

Puji syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT., karena atas berkat dan rahmat-Nya penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul “Potensi Ekstrak Daun Jati belanda (*Guazuma ulmifolia* Lam.) sebagai Antidiabetes dan Antioksidan: Metode Penghambatan Enzim  $\alpha$ -Glukosidase dan DPPH *In Vitro*”. Penulisan skripsi ini dimaksudkan untuk memenuhi syarat bahwa telah menyelesaikan pendidikan strata satu (S1), Fakultas Farmasi, Universitas Jember.

Terselesainya penelitian dan penulisan skripsi ini tidak terlepas dari bantuan dan dukungan dari berbagai pihak. Melalui kesempatan ini penulis menyampaikan terima kasih yang sebanyak-banyaknya 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 Ibu Lusia Oktora RKS, S.Farm., M.Sc., Apt. selaku 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, Bapak Bambang Irawan dan Ibu Rachmi Masnilah atas segala doa, dukungan, pengorbanan, kepercayaan, semangat, motivasi, cinta dan kasih sayang yang telah diberikan kepada penulis selama ini.

7. Rekan kerja selama penelitian Aulia Aditya Arifianti, Putri Nur Rahmawati, dan teman-teman Meru Betiri Group yang telah membantu proses penelitian, rekan-rekan divisi nutraceutical and pharmaceutical CDAST atas segala kerjasama dan bantuannya.
8. Sahabat-sahabat tercinta seperjuangan farmasi angkatan 2012 Petrok Rollas, Grup “5” (Aulia, Utin, Imut, Nidia), Grup “6chi” (Hesti, Shinta, Ika, Hersila, Ines), KKN 112, Shinta, dan Sasa yang selalu setia memberi semangat.
9. Alvin Rahmadiar Alam yang telah memberikan bantuan, saran, dan motivasi dalam penyusunan skripsi ini
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, 19 Agustus 2016

Penulis

**DAFTAR ISI**

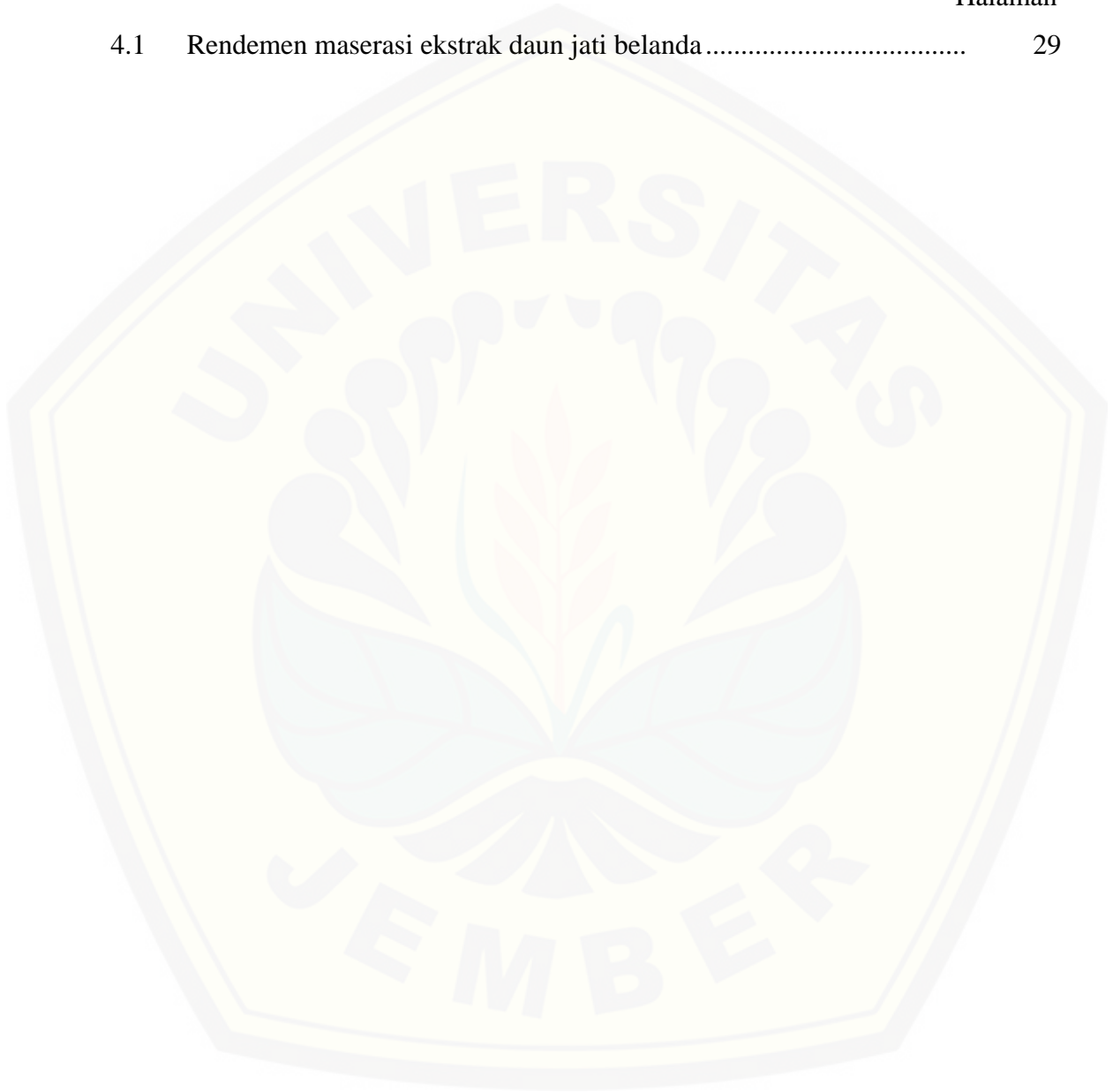
	Halaman
<b>HALAMAN SAMPUL</b> .....	i
<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	ii
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN</b> .....	iii
<b>HALAMAN MOTTO</b> .....	iv
<b>HALAMAN PERNYATAAN</b> .....	v
<b>HALAMAN PEMBIMBINGAN</b> .....	vi
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	vii
<b>RINGKASAN</b> .....	viii
<b>PRAKATA</b> .....	x
<b>DAFTAR ISI</b> .....	xii
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	xv
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xvi
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	xvii
<b>BAB 1. PENDAHULUAN</b> .....	1
<b>1.1 Latar Belakang</b> .....	1
<b>1.2 Rumusan Masalah</b> .....	3
<b>1.3 Tujuan Penelitian</b> .....	3
<b>1.4 Manfaat Penelitian</b> .....	4
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	4
<b>2.1 Jati Belanda</b> .....	5
2.1.1 Klasifikasi .....	5
2.1.2 Morfologi .....	5
2.1.3 Kandungan dan Manfaat .....	6
<b>2.2 Senyawa Fenolik dan Flavonoid</b> .....	6
<b>2.3 Diabetes Melitus</b> .....	9

2.3.1	Klasifikasi Diabetes Melitus.....	9
2.3.2	Penatalaksanaan Diabetes Melitus .....	11
<b>2.4</b>	<b>Enzim <math>\alpha</math>-Glukosidase .....</b>	<b>14</b>
<b>2.5</b>	<b>Radikal Bebas dan Antioksidan .....</b>	<b>17</b>
<b>BAB 3.</b>	<b>METODE PENELITIAN .....</b>	<b>20</b>
<b>3.1</b>	<b>Jenis Penelitian .....</b>	<b>20</b>
<b>3.2</b>	<b>Waktu dan Tempat Penelitian .....</b>	<b>20</b>
<b>3.3</b>	<b>Variabel Penelitian .....</b>	<b>20</b>
<b>3.4</b>	<b>Rancangan Penelitian.....</b>	<b>21</b>
3.4.1	Definisi Operasional .....	21
3.4.2	Rancangan Percobaan.....	21
3.4.3	Alur Penelitian.....	23
<b>3.5</b>	<b>Alat dan Bahan .....</b>	<b>24</b>
3.5.1	Alat .....	24
3.5.2	Bahan.....	24
<b>3.6</b>	<b>Prosedur Penelitian .....</b>	<b>24</b>
3.6.1	Pembuatan Simplisia Daun Jati Belanda.....	24
3.6.2	Ekstraksi Simplisia Daun Jati Belanda.....	25
3.6.3	Analisis Kandungan Total Fenolik Ekstrak Daun Jati belanda.....	25
3.6.4	Analisis Kandungan Total Flavonoid Ekstrak Daun Jati belanda.....	26
3.6.5	Analisis Antidiabetes Ekstrak Daun Jati belanda dengan Penghambatan Enzim $\alpha$ -Glukosidase .....	26
3.6.6	Analisis Antioksidan Ekstrak Daun Jati belanda dengan Metode DPPH.....	27
<b>3.5</b>	<b>Analisis Data .....</b>	<b>28</b>

<b>BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>29</b>
<b>4.1 Penetapan Kandungan Total Fenolik Ekstrak Daun Jati belanda .....</b>	<b>30</b>
<b>4.2 Penetapan Kandungan Total Flavonoid Ekstrak Daun Jati belanda .....</b>	<b>31</b>
<b>4.3 Aktivitas Antidiabetes dengan Ekstrak Daun Jati belanda penghambatan Enzim <math>\alpha</math>-Glukosidase.....</b>	<b>33</b>
<b>4.4 Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Jati belanda dengan Metode DPPH .....</b>	<b>35</b>
<b>BAB 5. PENUTUP .....</b>	<b>38</b>
<b>5.1 Kesimpulan .....</b>	<b>38</b>
<b>5.2 Saran .....</b>	<b>38</b>
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>39</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>45</b>

**DAFTAR TABEL**

	Halaman
4.1 Rendemen maserasi ekstrak daun jati belanda.....	29



**DAFTAR GAMBAR**

	Halaman
2.1 Morfologi jati belanda.....	6
2.2 Reaksi kimia pembentukan kompleks molibdenum .....	7
2.3 Reaksi kimia pembentukan senyawa quino .....	8
2.4 Mekanisme hidrolisis karbohidrat oleh enzim pencernaan .....	15
2.5 Reaksi pembentukan warna <i>quinoneimine</i> .....	17
2.6 Reaksi radikal DPPH dengan antioksidan .....	19
3.1 Diagram rancangan penelitian uji aktivitas antidiabetes dan antioksidan <i>in vitro</i> .....	22
3.2 Alur penelitian.....	23
4.1 Total fenolik ekstrak daun jati belanda.....	30
4.2 Total flavonoid ekstrak daun jati belanda.....	32
4.3 Aktivitas penghambatan enzim $\alpha$ -glukosidase ekstrak daun jati belanda.....	34
4.4 Nilai IC <sub>50</sub> untuk penghambatan enzim $\alpha$ -glukosidase ekstrak daun jati belanda.....	34
4.5 Aktivitas peredaman radikal DPPH ekstrak daun jati belanda.....	35
4.6 Nilai IC <sub>50</sub> untuk peredaman radikal DPPH ekstrak daun jati belanda	36



DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
<b>A. Validasi Tanaman Jati Belanda.....</b>	45
<b>B. Perhitungan Randemen Maserasi .....</b>	46
<b>C. Uji Total Fenolik .....</b>	46
<b>C.1 Standar Asam Galat.....</b>	46
C.1.1 Preparasi Standar Asam Galat.....	46
C.1.2 Kurva Standar Asam Galat.....	47
<b>C.2 Total Fenolik Ekstrak .....</b>	47
C.2.1 Preparasi Ekstrak Uji.....	47
C.2.2 Pengujian Total Fenolik Ekstrak.....	48
C.2.3 Perhitungan Total Fenolik Ekstrak.....	48
<b>D. Uji Total Flavonoid.....</b>	49
<b>D.1 Standar Kuersetin.....</b>	49
D.1.1 Preparasi Standar Kuersetin.....	49
D.1.2 Kurva Standar Kuersetin.....	49
<b>D.2 Total Flavonoid Ekstrak.....</b>	50
D.2.1 Preparasi Ekstrak Uji.....	50
D.2.2 Pengujian Total Flavonoid Ekstrak.....	50
D.2.3 Perhitungan Total Flavonoid Ekstrak.....	50
<b>E. Uji Penghambatan Enzim <math>\alpha</math>-Glukosidase.....</b>	52
<b>E.1 Preparasi Kontrol Positif Akarbose.....</b>	52
<b>E.2 Preparasi Ekstrak Uji.....</b>	53
<b>E.3 Pengujian Penghambatan Enzim <math>\alpha</math>-Glukosidase.....</b>	54
E.3.1 Kontrol Positif Akarbose.....	54
E.3.2 Ekstrak Uji.....	54
<b>E.4 Perhitungan Nilai IC<sub>50</sub> Penghambatan Enzim <math>\alpha</math>-Glukosidase.....</b>	55
<b>F. Uji Peredaman Radikal DPPH.....</b>	58
<b>F.1 Preparasi Kontrol Positif Asam Askorhat.....</b>	58

<b>F.2 Preparasi Ekstrak Uji.....</b>	<b>59</b>
<b>F.3 Pengujian Peredaman Radikal DPPH.....</b>	<b>60</b>
F.3.1 Kontrol Positif Asam Askorbat.....	60
F.3.2 Ekstrak Uji.....	60
<b>F.4 Perhitungan Nilai IC<sub>50</sub> Peredaman Radikal DPPH.....</b>	<b>61</b>
<b>G. Hasil Uji Statistik Kandungan Total Fenolik, Flavonoid, Nilai IC<sub>50</sub> Penghambatan Enzim <math>\alpha</math>-Glukosidase, dan Nilai IC<sub>50</sub> Peredaman Radikal DPPH.....</b>	<b>64</b>
<b>G1. Kandungan Total Fenolik Ekstrak.....</b>	<b>64</b>
<b>G2. Kandungan Total Flavonoid Ekstrak.....</b>	<b>66</b>
<b>G3. Nilai IC<sub>50</sub> Penghambatan Enzim <math>\alpha</math>-Glukosidase.....</b>	<b>68</b>
<b>G4. Nilai IC<sub>50</sub> Peredaman Radikal DPPH Ekstrak Jati belanda.....</b>	<b>70</b>



## BAB 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Penyakit tidak menular (PTM) sudah menjadi masalah kesehatan masyarakat, baik secara global, regional, nasional, dan lokal (Kemenkes RI, 2013). *World Health Organization* (WHO) tahun 2011 melaporkan bahwa 60% penyebab kematian semua umur di dunia adalah karena PTM. Salah satu PTM yang menyita banyak perhatian adalah diabetes melitus (DM). DM menduduki peringkat ke-6 sebagai penyebab kematian. *International Diabetes Federation* (IDF) tahun 2013 menyatakan bahwa lebih dari 371.000.000 jiwa di dunia yang berumur 20-79 tahun menderita DM. Sekitar 1.300.000 jiwa meninggal akibat diabetes melitus dan 4% meninggal sebelum usia 70 tahun. Indonesia merupakan negara urutan ke-7 dengan prevalensi DM tertinggi, di bawah China, India, USA, Brazil, Rusia, dan Mexico. Jumlah penderita DM di Indonesia telah mencapai 8.554.155 orang. Tahun 2030 diperkirakan Indonesia akan memiliki penyandang DM sebanyak 21.300.000 jiwa (IDF, 2013).

Diabetes mellitus adalah suatu penyakit dengan gangguan metabolisme kronis yang ditandai dengan tingginya kadar glukosa darah akibat disfungsi insulin (Dirjen Binar Depkes RI, 2005). Pada keadaan normal, karbohidrat kompleks yang masuk akan dihidrolisis oleh enzim  $\alpha$ -amilase di dalam mulut menjadi menjadi oligosakarida. Kemudian hasil hidrolisis tersebut akan dihidrolisis kembali menjadi glukosa (monosakarida) oleh enzim  $\alpha$ -glukosidase. Di epitelum intestinal terjadi absorpsi glukosa menuju pembuluh darah dengan bantuan transporter glukosa (Williamson, 2013). Di dalam pembuluh darah insulin memasukkan glukosa menuju sel-sel, jaringan adiposa, atau hepar untuk diubah menjadi energi (Dirjen Bina Farmasi dan Alkes, 2005). Pada pasien DM, jumlah dan aktivitas enzim  $\alpha$ -glukosidase sebagai pemecah karbohidrat menjadi glukosa mengalami peningkatan (Dyer *et al.*, 2002). Akibatnya glukosa yang diabsorpsi ke dalam darah semakin meningkat sehingga kadar glukosa darah juga meningkat. Oleh karena itu, diperlukan jenis antidiabetika untuk menghambat enzim  $\alpha$ -glukosidase (Bosenberg, 2008).

DM yang terjadi berkelanjutan meningkatkan risiko berbagai komplikasi yang berakibat fatal yaitu terjadinya kerusakan mikrovaskular (retinopati, nefropati, dan neuropati) dan makrovaskular (penyakit jantung, stroke, dan kerusakan pembuluh darah) (WHO, 2010). Komplikasi DM berkorelasi dengan konsentrasi glukosa darah sehingga glukosa berlebih diduga menjadi penyebab utama kerusakan jaringan (Rahbani *et al.*, 1999). Autooksidasi glukosa merupakan salah satu dampak dari glukosa darah yang berlebih, sehingga mempercepat pembentukan senyawa oksigen reaktif. Pembentukan senyawa oksigen reaktif tersebut dapat meningkatkan modifikasi lipid, DNA, dan protein pada berbagai jaringan (Ueno *et al.*, 2002). Modifikasi molekuler pada berbagai jaringan tersebut mengakibatkan ketidakseimbangan antara antioksidan protektif dan peningkatan produksi radikal bebas. Hal itu merupakan awal kerusakan oksidatif yang dikenal sebagai stres oksidatif (Nuttal *et al.*, 1999). Proses oksidasi dapat dicegah dengan antioksidan.

Pengelolaan DM mempunyai tujuan akhir untuk menurunkan morbiditas dan mortalitas DM, yang secara spesifik ditujukan untuk mencapai dua target utama, yaitu untuk menjaga agar kadar glukosa plasma berada dalam kisaran normal dan mencegah atau meminimalkan kemungkinan terjadinya komplikasi diabetes (Dirjen Binfar Depkes RI, 2005). Kombinasi penghambatan enzim  $\alpha$ -glukosidase dan antioksidan akan memiliki efek farmakologis yang saling mendukung dalam terapi DM dan komplikasinya (Shabeer *et al.*, 2009). Pengobatan dengan menggunakan senyawa sintetik memiliki beberapa efek samping yang harus diwaspadai. Efek samping dari penggunaan obat sintesis DM yaitu diare, pusing, sakit kepala, mual, muntah serta hipoglikemia BPOM (2010), sehingga diperlukan bahan alam sebagai alternatif antidiabetes.

Salah satu tanaman yang dapat dikembangkan potensinya sebagai antidiabetes dan antioksidan adalah jati belanda (*Guazuma ulmifolia* Lam.). Menurut ITIS (2012), *Guazuma ulmifolia* Lam. memiliki nama sinonim yaitu *Guazuma tomentosa* Kunth. Kulit batang jati belanda memiliki aktivitas farmakologi sebagai antidiabetes terhadap tikus DM (Alonso *et al.*, 2008). Menurut

Kusumowati *et al.* (2012), ekstrak etanol daun jati belanda memiliki aktivitas antioksidan metode DPPH.

Menurut Hartanto (1986), daun jati belanda mengandung flavonoid, fenol, tanin, steroid atau triterpenoid, dan karotenoid. Komponen fenolik mampu menghambat enzim jumlah enzim  $\alpha$ -glukosidase (You *et al.*, 2011). Menurut Fonata *et al.* (2011), senyawa flavonoid dapat menghambat jumlah enzim  $\alpha$ -glukosidase pada penderita DM. Menurut Kusumowati *et al.* (2012), senyawa fenolik merupakan senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan. Selain itu, senyawa flavonoid juga memiliki kemampuan sebagai antioksidan (Giorgio, 2000). Berdasarkan kandungan fenolik dan flavonoid jati belanda diharapkan memiliki potensi sebagai antidiabetes dan antioksidan.

Senyawa pada tanaman jati belanda sangat beragam sehingga memiliki kepolaran yang berbeda. Oleh karena itu digunakan metode ekstraksi dengan maserasi bertingkat. Pelarut yang digunakan dalam penelitian ini yaitu n-heksana sebagai pelarut nonpolar, etil asetat sebagai pelarut semipolar, dan metanol sebagai pelarut polar. Ekstraksi bertingkat dilakukan untuk memisahkan senyawa berdasarkan tingkat kepolarannya (Harborne dan Turner, 1984). Hasil dari ekstraksi dengan pelarut yang berbeda dapat dibandingkan dengan harapan dapat menarik seluruh senyawa fenolik dan flavonoid dari daun jati belanda.

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas maka rumusan masalah yang didapat pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

- a. Bagaimana kandungan fenolik dan flavonoid ekstrak n-heksana, etil asetat, dan metanol daun jati belanda?
- b. Bagaimana aktivitas antidiabetes ekstrak n-heksana, etil asetat, dan metanol daun jati belanda dengan penghambatan enzim  $\alpha$ -glukosidase?
- c. Bagaimana aktivitas antioksidan ekstrak n-heksana, etil asetat, dan metanol daun jati belanda?

### 1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

- a. Untuk mengetahui kandungan fenolik dan flavonoid ekstrak n-heksana, etil asetat, dan metanol daun jati belanda.
- b. Untuk mengetahui aktivitas antidiabetes ekstrak n-heksana, etil asetat, dan metanol daun jati belanda dengan penghambatan enzim  $\alpha$ -glukosidase.
- c. Untuk mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak n-heksana, etil asetat, dan metanol daun jati belanda.

### 1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

- a. Menginspirasi peneliti lain untuk menggali potensi bahan alam yang digunakan sebagai bahan obat dan dapat dikembangkan menjadi sediaan fitofarmaka.
- b. Memberikan informasi pengembangan alternatif antidiabetes bahan alam dengan mekanisme penghambatan enzim  $\alpha$ -glukosidase daun jati belanda.
- c. Memberikan informasi pengembangan alternatif mengenai antioksidan baru khususnya antioksidan alami yaitu daun jati belanda.

## BAB. 2 TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Jati Belanda

#### 2.1.1 Klasifikasi

Menurut ITIS (2012), taksonomi tanaman jati belanda adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Tracheophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Ordo	: Malvales
Famili	: Malvaceae
Genus	: Guazuma
Nama binomial	: <i>Guazuma ulmifolia</i> Lam.
Sinonim	: <i>Guazuma tomentosa</i> Kunth.

#### 2.1.2 Morfologi

Tumbuhan jati belanda berupa semak atau pohon dengan tinggi 10 m sampai 20 m, percabangannya ramping. Bentuk daun bundar telur sampai lanset, panjang helai daun 4 cm sampai 22,5 cm, lebar 2 cm sampai 10 cm, pangkal menyering berbentuk jantung yang kadang-kadang tidak setangkup, bagian ujung tajam, pinggir daun bergigi, permukaan daun bagian atas berambut jarang, permukaan bagian bawah berambut rapat, warna hijau kecoklatan sampai coklat muda; panjang tangkai daun 5 mm sampai 25 mm, mempunyai daun penumpu berbentuk lanset atau berbentuk paku, panjang 3 mm sampai 6 mm. Perbungaan berupa mayang, panjang 2 cm sampai 4 cm berbunga banyak, bentuk bunga agak ramping dan berbau wangi; panjang gagang bunga lebih kurang 5 mm; kelopak bunga lebih kurang 3 mm; mahkota bunga berwarna kuning, panjang 3 mm sampai 4 mm; tajuk terbagi dalam 2 bagian, berwarna ungu tua kadang-kadang kuning tua, panjang 3 mm sampai 4 mm, bagian bawah berbentuk garis, panjang 2 mm sampai 2,5 mm; tabung benang sari berbentuk mangkuk; bakal buah berambut, panjang buah 2 cm sampai 3,5 cm. Buah telah masak berwarna hitam (Depkes RI, 1989). Morfologi tumbuhan jati belanda dapat dilihat terdapat pada Gambar 2.1





Gambar 2.1 Morfologi jati belanda: a) seluruh tanaman b) daun (Sumber: Sharma *et al.*, 2015)

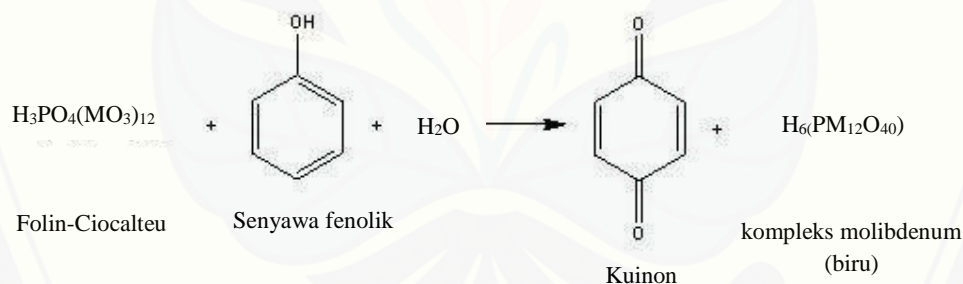
### 2.1.3 Kandungan dan Manfaat

Daun jati belanda mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, steroid, triterpenoid, dan tanin (Rachmadani, 2001). Selain itu, serbuk daun jati belanda mengandung fenol hidrokuinon, dan senyawa flavonoid lain seperti kalkon, auron, dan flavonol (Miradiono, 2002). Menurut Hartanto (1986) daun jati belanda mengandung senyawa fenolik, tanin, steroid, triterpenoid, dan karotenoid.

Jati belanda memiliki aktivitas farmakologi sebagai antidiabetes, antihipertensi, antimikroba, aktivitas hepatotoksik, dan aktivitas sitotoksik (Sharma *et al.*, 2015). Kulit batang jati belanda memiliki aktivitas farmakologi sebagai antidiabetes terhadap tikus DM (Alonso *et al.*, 2008). Menurut Kusumowati *et al.* (2012), ekstrak etanol daun jati belanda memiliki aktivitas antioksidan dengan cara diuji kadar fenol dan flavonoid total. Komponen fenolik mampu menghambat enzim jumlah enzim  $\alpha$ -glukosidase (You *et al.*, 2011). Menurut Fonata *et al.* (2011), senyawa flavonoid dapat menghambat jumlah enzim  $\alpha$ -glukosidase pada penderita DM. Menurut Kusumowati *et al.* (2012), senyawa fenolik merupakan senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan. Selain itu senyawa flavonoid juga memiliki kemampuan untuk mengubah atau mereduksi radikal bebas dan juga sebagai antioksidan (Giorgio, 2000). Berdasarkan kandungan flavonoid dan fenoliknya tanaman jati belanda memiliki aktivitas antioksidan dan antidabetes dengan menghambat enzim  $\alpha$ -glukosidase.

## 2.2 Senyawa Fenolik dan Flavonoid

Senyawa fenolik adalah senyawa yang memiliki satu atau lebih gugus hidroksil yang menempel di cincin aromatik (Vermerris *et al.*, 2006). Senyawa fenolik adalah senyawa yang sekurang-kurangnya memiliki satu gugus fenol. Senyawa fenolik mampu menghambat enzim jumlah enzim  $\alpha$ -glukosidase (You *et al.*, 2011). Menurut Kusumowati *et al.* (2012), senyawa fenolik merupakan senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan. Satuan dasar yang digunakan untuk menentukan potensi senyawa fenolik sebagai antidiabetes dan antioksidan yaitu berdasarkan total fenoliknya. Standar yang digunakan yaitu asam galat. Asam galat (senyawa fenolik) bereaksi dengan natrium bikarbonat kemudian menjadi ion fenolat. Ion fenolat akan mereduksi satu atau lebih atom oksigen dari tungstat dan molbdat sehingga menghasilkan kompleks molibdenum berwarna biru (Turisman *et al.*, 2012). Larutan warna biru yang terbentuk memiliki panjang gelombang maksimum 750 nm (Swamy *et al.*, 2014). Reaksi kimia pembentukan kompleks molibdenum dari asam galat terdapat pada Gambar 2.2

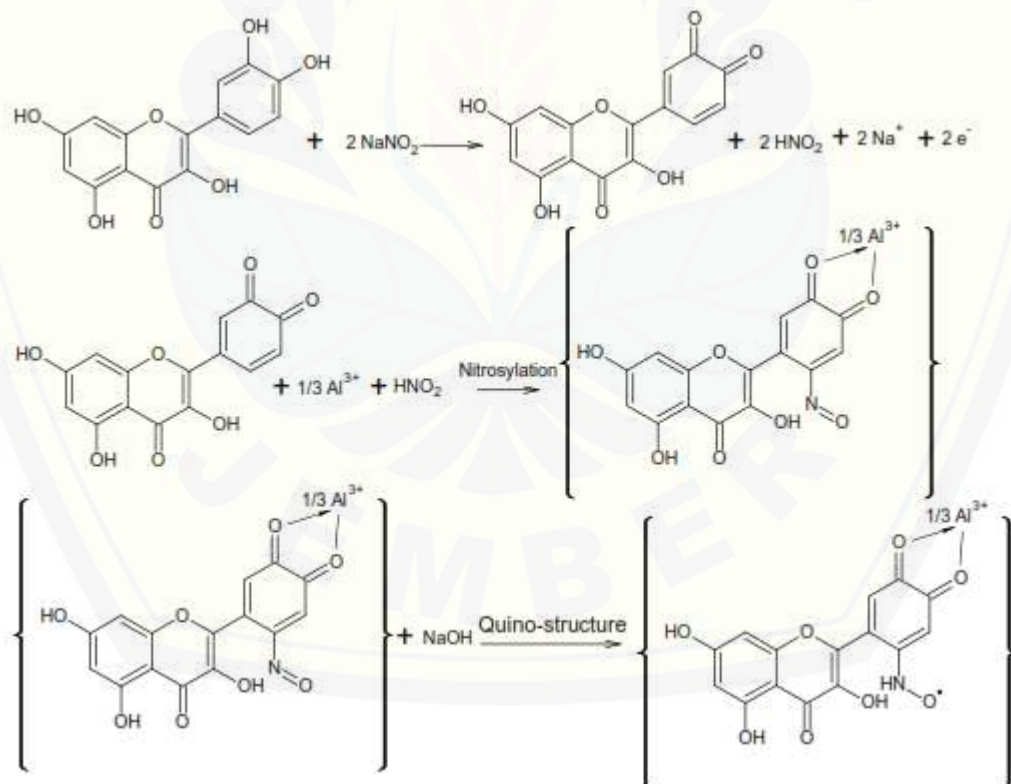


Gambar 2.2 Reaksi kimia pembentukan kompleks molibdenum (Sumber: Turisman *et al.*, 2012)

Flavonoid merupakan salah satu kelompok senyawa fenolik terbesar yang ditemukan di dalam jaringan tanaman (Rajalakshmi *et al.*, 1985). Flavonoid termasuk dalam golongan senyawa fenolik dengan struktur kimia C6-C3-C6 yaitu dua cincin aromatik yang dihubungkan oleh satuan tiga karbon yang dapat atau tidak dapat membentuk cincin tiga (White *et al.*, 2001). Menurut Fonata *et al.* (2011), senyawa flavonoid dapat menghambat jumlah enzim  $\alpha$ -glukosidase pada penderita DM. Selain itu, senyawa flavonoid juga memiliki kemampuan sebagai

antioksidan (Giorgio, 2000). Senyawa antioksidan dapat digunakan sebagai terapi tambahan bagi penderita DM (Setiawan dan Eko Suhartono, 2005).

Penentuan kadar flavonoid pada tumbuhan salah satunya menggunakan metode kolorimetri dengan penambahan senyawa alumunium klorida (Chang *et al.*, 2002). Kuersetin merupakan standar yang digunakan karena salah satu jenis flavonoid yang memiliki gugus katekol (1,2-dihidroksibenzena) (Zhu *et al.*, 2009). Gugus katekol pada cincin B kuersetin akan dioksidasi oleh natrium nitrit menjadi keton. Natrium nitrit tereduksi menjadi asam nitrit. Gugus keton yang telah terbentuk akan bereaksi dengan  $\text{Al}^{3+}$  yang berasal dari  $\text{AlCl}_3$  dan terjadi reaksi nitrosilasi oleh asam nitrit. Senyawa tersebut direduksi oleh natrium hidroksida sehingga menghasilkan struktur quino yang berwarna kuning. Larutan berwarna kuning yang terbentuk memiliki panjang gelombang 415 nm (Zhu *et al.*, 2009). Reaksi kimia pembentukan senyawa quino dapat dilihat pada Gambar 2.3



Gambar 2.3 Reaksi kimia pembentukan senyawa quino (Sumber: (Zhu *et al.*, 2009))

Penarikan suatu senyawa tergantung dari pelarut yang digunakan saat ekstraksi. Senyawa yang sifatnya kurang polar akan diekstraksi dengan pelarut non polar, senyawa yang agak polar diekstraksi dengan pelarut semi polar, dan senyawa yang lebih polar diekstraksi dengan pelarut polar. Senyawa fenolik dan flavonoid memiliki kepolaran yang berbeda-beda. Senyawa isoflavon, flavon, dan flavonol merupakan senyawa yang kurang polar, sedangkan glikosida flavonoid, aglikon flavonoid (Andersen dan Kenneth, 2006), katekol, pirogalol, dan asam galat (Harborne dan Turner, 1984) merupakan senyawa polar. Oleh karena itu dari tingkat kepolaran yang berbeda digunakan metode maserasi bertingkat dengan menggunakan pelarut nonpolar, semipolar, dan polar, dengan harapan dapat menarik seluruh senyawa fenolik dan flavonoid dari daun jati belanda.

### 2.3 Diabetes Melitus

Diabetes melitus adalah penyakit kronis yang disebabkan oleh warisan dan atau kekurangan produksi insulin oleh pankreas, atau tidak efektifnya insulin yang dihasilkan. Seperti peningkatan konsentrasi glukosa dalam darah dan dapat merusak banyak sistem tubuh, khususnya pembuluh darah dan saraf (WHO, 2006). Gejala yang sering ditemukan pada pasien diabetes adalah rasa haus yang berlebihan (polidipsi), sering kencing terutama pada malam hari (poliuri), berat badan turun dengan cepat, cepat merasa lapar (polifagi), timbul kelemahan pada tubuh, kesemutan pada jari tangan dan kaki, gata-gatal, luka atau bisul yang sukar sembuh, dan keputihan (BPOM, 2010).

Apabila terdapat gejala tersebut disertai dengan hasil pemeriksaan kadar glukosa darah sewaktu  $\geq 200$  mg/dl, maka sudah cukup untuk menegakkan diagnosis DM. Hasil pemeriksaan kadar glukosa darah puasa  $\geq 126$  mg/dl juga dapat digunakan sebagai patokan diagnosis DM (Dirjen Binfar Depkes RI, 2005).

#### 2.3.1 Klasifikasi Diabetes Melitus:

##### a. Diabetes Melitus Tipe 1

Diabetes melitus tipe 1 yaitu pankreas tidak dapat menghasilkan insulin yang penting untuk kelangsungan hidup. Bentuk ini paling sering berkembang

pada anak-anak dan remaja, tetapi terdapat juga pada orang dewasa (WHO, 2006). Pada umumnya gangguan produksi insulin pada DM Tipe 1 terjadi karena kerusakan sel-sel  $\beta$ -Langerhans yang disebabkan oleh reaksi otoimun. Namun ada pula yang disebabkan oleh bermacam-macam virus, di antaranya yaitu virus Cocksakie, Rubella, CM Virus, Herpes, dan lain sebagainya (Dirjen Binfar Depkes RI, 2005).

#### b. Diabetes Melitus Tipe 2

Diabetes melitus tipe 2 disebabkan oleh ketidakmampuan tubuh untuk merespon aksi insulin yang diproduksi oleh pankreas. Penyakit ini dapat didiagnosis beberapa tahun setelah onset, atau ketika komplikasi sudah ada (WHO, 2006). Faktor genetik dan pengaruh lingkungan cukup besar dalam menyebabkan terjadinya DM tipe 2, antara lain obesitas, diet tinggi lemak dan rendah serat, serta kurang olahraga. DM Tipe 2 dapat juga timbul gangguan sekresi insulin dan produksi glukosa hepatic yang berlebihan. Namun demikian, tidak terjadi pengrusakan sel-sel  $\beta$ -Langerhans secara otoimun sebagaimana yang terjadi pada DM Tipe 1. Dengan demikian defisiensi fungsi insulin pada penderita DM Tipe 2 hanya bersifat relatif, tidak absolut. Oleh sebab itu dalam penanganannya umumnya tidak memerlukan terapi pemberian insulin (Dirjen Binfar Depkes RI, 2005).

#### c. Diabetes Melitus Gestasional

Diabetes mellitus gestasional adalah keadaan diabetes atau intoleransi glukosa yang timbul selama masa kehamilan, dan biasanya berlangsung hanya sementara atau temporer. Sekitar 4-5% wanita hamil diketahui menderita *GDM*, dan umumnya terdeteksi pada atau setelah trimester kedua. (Dirjen Binfar Depkes RI, 2005). DM pada kehamilan dapat menimbulkan beresiko buruk pada janin termasuk cacat bawaan, peningkatan berat badan, dan peningkatan risiko kematian perinatal (WHO, 2006). Insulin merupakan obat pilihan karena obat noninsulin tidak aman jika digunakan jangka panjang (ADA guideline, 2015).

#### d. Diabetes Melitus Tipe Lain

Diabetes melitus tipe lain merupakan tipe diabetes yang terjadi akibat beberapa faktor yaitu defek genetik kerja insulin, penyakit eksokrin pankreas, obat-obatan, ataupun infeksi (Dirjen Binar Depkes RI, 2005).

#### 2.3.2 Penatalaksanaan Diabetes Melitus

Penatalaksanaan DM mempunyai tujuan akhir untuk menurunkan morbiditas dan mortalitas, yang secara spesifik ditujukan untuk mencapai dua target utama, yaitu untuk menjaga agar kadar glukosa plasma berada dalam kisaran normal dan mencegah atau meminimalkan kemungkinan terjadinya komplikasi diabetes (Dirjen Binar Depkes RI, 2005). Penatalaksanaan DM meliputi terapi non farmakologi dan farmakologi. Jika telah melakukan terapi non farmakologi namun kadar gula darah masih belum terkontrol dengan baik, maka dibutuhkan pengelolaan farmakologi (BPOM, 2010).

##### a. Terapi non farmakologi meliputi:

###### 1) Pengaturan Diet

Diet yang dianjurkan adalah makanan dengan komposisi yang seimbang dalam hal karbohidrat, protein, dan lemak. Masukan serat sangat penting bagi penderita DM, paling sedikit yaitu 25 gram per hari. Serat dapat menghambat penyerapan lemak dan dapat membantu mengatasi rasa lapar yang kerap dirasakan penderita DM tanpa risiko masukan kalori yang berlebih. Jumlah kalori disesuaikan dengan pertumbuhan, status gizi, umur, stres akut, dan kegiatan fisik, dengan tujuan untuk mencapai dan mempertahankan berat badan ideal (Dirjen Binar Depkes RI, 2005).

###### 2) Olah Raga

Berolah raga secara teratur dapat menurunkan dan menjaga kadar gula darah tetap normal. Olah raga ringan yang dilakukan secara teratur akan sangat bagus pengaruhnya bagi kesehatan. Beberapa contoh olah raga yang disarankan, antara lain jalan atau lari pagi, bersepeda, berenang, dan lain sebagainya. Olahraga aerobik ini paling tidak dilakukan selama total

30-40 menit per hari didahului dengan pemanasan 5-10 menit dan diakhiri pendinginan antara 5-10 menit (Dirjen Binfar Depkes RI, 2005).

b. Terapi farmakologi meliputi:

1) Insulin

Terapi insulin merupakan obat yang wajib dikonsumsi bagi penderita DM Tipe 1. Pada prinsipnya, sekresi insulin dikendalikan oleh tubuh untuk menstabilkan kadar gula darah. Apabila kadar gula di dalam darah tinggi, sekresi insulin akan meningkat. Sebaliknya, apabila kadar gula darah rendah, maka sekresi insulin juga akan menurun (Dirjen Binfar Depkes RI, 2005). Efek samping yang dapat ditimbulkan yaitu hipoglikemia, reaksi alergi, resistensi, edema, dan peningkatan berat badan.

2) Antidiabetika Oral

Obat antidiabetika oral digunakan untuk pengobatan diabetes melitus tipe 2. Antidiabetika oral menurut BPOM RI (2010) terbagi menjadi beberapa golongan yaitu:

a) Golongan Sulfonilurea

Golongan obat ini bekerja dengan menstimulasi sel  $\beta$ -pankreas untuk melepaskan insulin yang tersimpan, dan karena itu obat golongan ini hanya bermanfaat pada pasien yang masih mempunyai kemampuan untuk mensekresi insulin. Memiliki efek samping yaitu mual, muntah, diare, hipoglikemia, dan kenaikan berat badan. Contoh obat golongan ini adalah klorpropamid, glikazid, glibenklamid, glipizid, glikuidon, dan tolbutamid.

b) Golongan Biguanid

Bekerja dengan cara menurunkan kadar glukosa darah dengan menekan produksi glukosa yang diproduksi hati dan mengurangi resistensi insulin. Obat golongan ini bisa digunakan sebagai monoterapi atau dikombinasikan dengan obat golongan sulfonilurea. Memiliki efek samping mual, muntah, diare, dan pusing. Contoh obat golongan ini adalah metformin hidroklorida.

c) Golongan Analog Meglitinid

Mekanisme aksi dan profil efek samping repaglinid hampir sama dengan sulfonilurea. Agen ini memiliki onset yang cepat dan diberikan saat makan setiap hari. Bisa sepaai obat pengganti bagi pasien yang menderita alergi obat golongan sulfa yang tidak direkomendasikan sulfonilurea. Memiliki efek samping kenaikan berat badan dan hipoglikemi. Contoh obat golongan ini adalah repaglinid.

d) Golongan Tiazolidindion (TZDs atau glitazon)

Berfungsi untuk memperbaiki sensitivitas insulin dengan mengaktifkan gen-gen tertentu yang terlibat dalam sintesa lemak dan metabolisme karbohidrat. Tiazolidindion tidak menyebabkan hipoglikemia jika digunakan sebagai terapi tunggal, meskipun mereka seringkali diberikan secara kombinasi dengan sulfonilurea, insulin, atau metformin. Obat golongan ini memiliki efek samping hipoglikemi dan kenaikan berat badan. Contoh obat golongan ini adalah pioglitaxon.

e) Golongan Penghambat Dipeptidil Peptidase tipe 4

Merupakan antidiabetika oral yang bekerja dengan menghambat dipeptidil peptidase tipe 4. Obat ini merupakan obat baru yang diindikasikan sebagai terapi tambahan pada diet dan olahraga untuk meningkatkan kontrol kadar gula darah pada pasien diabete melitus tipe 2. Efek samping yang ditimbulkan yaitu penurunan berat badan. Contoh obat golongan ini adalah sitagliptin dan vidagliptin.

f) Golongan Penghambat  $\alpha$ -Glukosidase

Obat ini bekerja secara kompetitif menghambat enzim  $\alpha$ -glukosidase di dalam saluran cerna. Efek samping yang dapat ditimbulkan yaitu rasa kurang enak pada perut dan diare. Contoh obat golongan ini yaitu maglitol dan akarbose.

Masing-masing terapi farmakologi diabetes melitus menggunakan senyawa sintetis memiliki efek samping yang beragam terhadap tubuh. Diperlukan alternatif senyawa alami dari tumbuh-tumbuhan untuk terapi alternatif antidiabetes dengan



harapan memiliki efek samping lebih minimal. Salah satu terapi antidiabetes alami yaitu sebagai penghambat enzim  $\alpha$ -glukosidase.

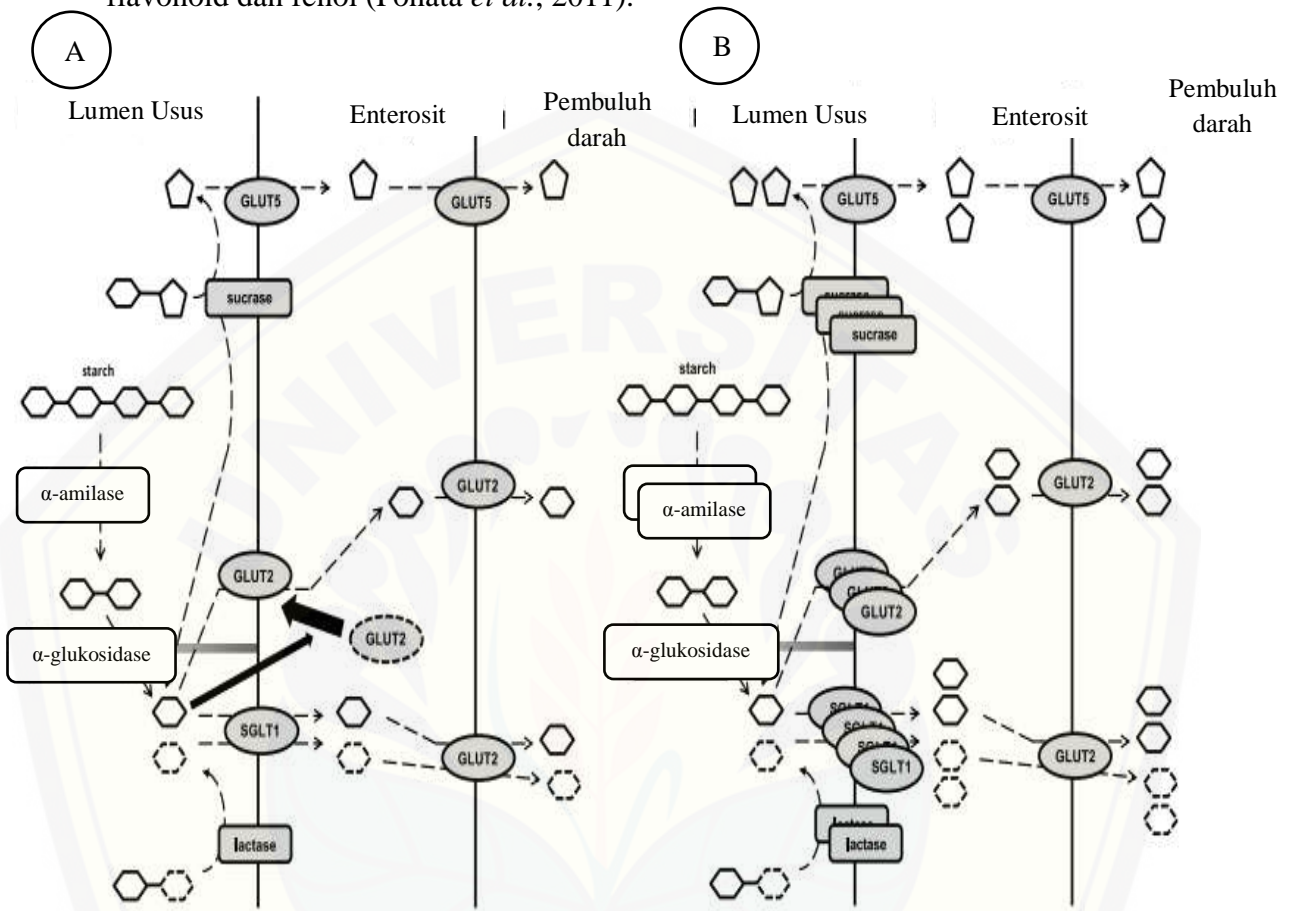
#### 2.4 Enzim $\alpha$ -Glukosidase

Enzim  $\alpha$ -glukosidase berfungsi untuk menghidrolisis oligosakarida menjadi monosakarida pada dinding usus halus (Sim *et al.*, 2010). Pada keadaan normal, karbohidrat yang masuk dihidrolisis oleh enzim  $\alpha$ -amilase di dalam mulut menjadi menjadi oligosakarida dengan memotong ikatan 1,4-glikosida. Di epitelium intestinal oligosakarida dihidrolisis menjadi glukosa (monosakarida) oleh enzim  $\alpha$ -glukosidase dengan memotong ikatan 1,4-glikosida dan 1,6-glikosida. Di epitelium intestinal terjadi absorpsi glukosa menuju pembuluh darah dengan bantuan transporter glukosa (GLUTs dan SGLTs) (Williamson, 2013). Di dalam pembuluh darah insulin memasukan glukosa menuju sel-sel, jaringan adiposa, atau hepar (Dirjen Bina Farmasi dan Alkes, 2005). Mekanisme hidrolisis karbohidrat pada keadaan normal dapat dilihat pada gambar 2.4 (a)

DM timbul akibat kelainan sekresi insulin, resistensi insulin, dan defisiensi insulin (Dirjen Bina Farmasi dan Alkes, 2005). Hal tersebut menyebabkan enzim  $\alpha$ -glukosidase sebagai pemecah karbohidrat menjadi glukosa jumlah dan aktivitasnya semakin meningkat (Dyer *et al.*, 2002). Transporter pembawa glukosa (GLUTs dan SGLTs) ke dalam darah jumlahnya juga meningkat (Williamson, 2013). Glukosa yang diabsorpsi ke dalam darah semakin meningkat akibatnya kadar glukosa darah juga meningkat. Oleh karena itu, diperlukan jenis antidiabetika untuk menghambat enzim  $\alpha$ -glukosidase. Penghambatan kerja enzim  $\alpha$ -glukosidase, menyebabkan turunnya penyerapan glukosa sehingga glukosa dalam darah dapat dikembalikan dalam batas normal (Bosenberg, 2008). Mekanisme hidrolisis karbohidrat pasien DM dapat dilihat pada Gambar 2.4 (b).

Senyawa penghambat  $\alpha$ -glukosidase bekerja menghambat jumlah enzim  $\alpha$ -glukosidase yang terdapat pada dinding usus halus. Penghambatan kerja enzim ini secara efektif mengurangi hidrolisis karbohidrat kompleks menjadi glukosa dan absorpsinya di epitelium intestinal. Obat sintetis yang termasuk penghambat enzim  $\alpha$ -glukosidase adalah akarbose (Bosenberg, 2008). Selain senyawa sintetis senyawa

metabolit sekunder pada tanaman juga memiliki aktivitas sebagai antidiabetes dengan mekanisme penghambat enzim  $\alpha$ -glukosidase. Senyawa tersebut yaitu flavonoid dan fenol (Fonata *et al.*, 2011).



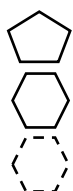
Gambar 2.4 Mekanisme hidrolisis karbohidrat oleh enzim pencernaan a) pasien normal b) pasien DM. Pada pasien DM jumlah dan aktivitas enzim  $\alpha$ -glukosidase meningkat dibandingkan keadaan normal (Sumber: Williamson, 2013)

Keterangan:

SGLT1 dan GLUT2 = transporter pembawa glukosa dan galaktosa

GLUT5 = transporter pembawa fruktosa.

Sukrase dan laktase = enzim pemecah karbohidrat kompleks (oligosakarida dan disakarida) menjadi monosakarida yang dapat diabsorpsi oleh tubuh.



= fruktosa

= glukosa

= galaktosa

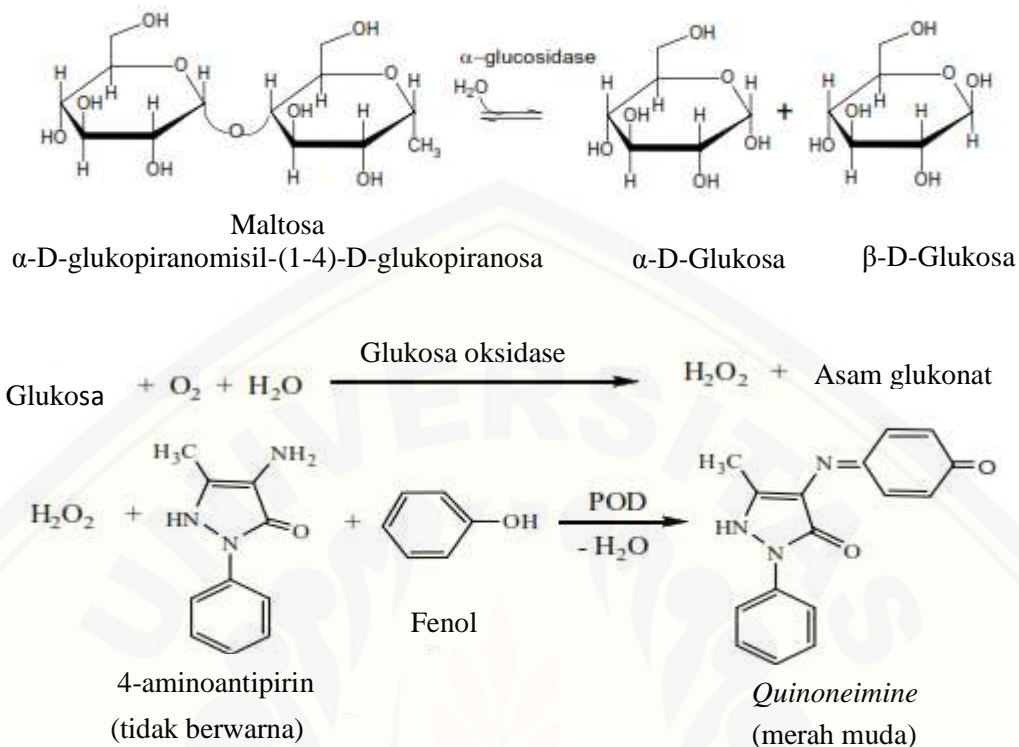
Uji analisis penghambatan  $\alpha$ -glukosidase senyawa tumbuhan *in vitro* yaitu penghambatan  $\alpha$ -glukosidase didasarkan pada penurunan reaksi (glukosa) ketika ditambahkan inhibitor. Inhibitor dalam uji analisis ini adalah ekstrak tumbuhan jati belanda. Enzim  $\alpha$ -glukosidase yang digunakan yaitu dari *Saccharomyces cerevisiae*. Maltosa digunakan sebagai substrat  $\alpha$ -glukosidase. Maltosa (disakarida) dihidrolisis oleh enzim  $\alpha$ -glukosidase menjadi 2 unit glukosa (monosakarida) (Miyazawa *et al.*, 2005).

Glukosa merupakan hasil hidrolisis dari maltosa oleh enzim  $\alpha$ -glukosidase. Kemudian glukosa dioksidasi oleh glukosa oksidase sehingga terbentuk senyawa asam glukonat dan hidrogen peroksida. Hidrogen peroksida yang dihasilkan dari reaksi tersebut kemudian direaksikan dengan 4-aminoantipirin, fenol, dan peroksidase (POD). Reaksi tersebut menghasilkan senyawa *quinoneimine* yang berwarna merah muda.

Intensitas warna merah muda pada larutan tersebut diuji dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis dengan menggunakan panjang gelombang maksimum yaitu 500 nm. Jika ekstrak tanaman memiliki aktivitas menghambat enzim  $\alpha$ -glukosidase maka glukosa yang terbentuk jumlahnya rendah sehingga absorbansi yang dihasilkan juga rendah (Ngwe *et al.*, 2011). Reaksi pembentukan warna *quinoneimine* dapat dilihat pada Gambar 2.5

Inhibitor adalah molekul yang dapat menghambat bahkan menghentikan reaksi enzimatik dengan mengotori permukaan katalis (Shanmugam *et al.*, 2010). Inhibitor memiliki 3 mekanisme yaitu:

1. Inhibitor kompetitif adalah molekul penghambat yang bersaing dengan substrat untuk mendapatkan sisi aktif enzim.
2. Inhibitor non-kompetitif adalah penghambat yang dapat berikatan dengan enzim maupun dengan kompleks enzim-substrat.
3. Inhibitor un-kompetitif adalah inhibitor yang hanya dapat berikatan dengan kompleks enzim substrat tidak dengan enzim bebas.



Gambar 2.5 Reaksi pembentukan warna *quinoneimine* (Sumber: Ngwe *et al.*, 2011)

## 2.5 Radikal Bebas dan Antioksidan

Komplikasi pada DM berkorelasi dengan konsentrasi glukosa darah sehingga glukosa berlebih diduga menjadi penyebab utama kerusakan jaringan (Rahbani *et al.*, 1999). Glukosa darah yang berlebih dapat menyebabkan 3 hal yaitu glikasi protein, aktivasi jalur metabolisme pilol, dan autooksidasi glukosa. Autooksidasi glukosa merupakan faktor yang paling dominan (Soesilowati *et al.*, 2003).

Dampak dari glukosa darah yang berlebih mempercepat pembentukan senyawa oksigen reaktif. Pembentukan senyawa oksigen reaktif dapat meningkatkan modifikasi lipid, DNA, dan protein pada berbagai jaringan (Ueno *et al.*, 2002). Modifikasi molekuler pada berbagai jaringan tersebut mengakibatkan ketidakseimbangan antara antioksidan protektif (pertahanan antioksidan) dan peningkatan produksi radikal bebas. Hal tersebut merupakan awal kerusakan oksidatif yang dikenal sebagai stres oksidatif (Nuttal *et al.*, 1999). Stres oksidatif adalah suatu keadaan ketika kandungan oksidan atau radikal bebas didalam tubuh lebih banyak dibandingkan antioksidan (Febrinda *et al.*, 2013). Akibatnya terjadi

kerusakan organel sel, kenaikan peroksidasi lipid, dan meningkatkan resistensi insulin (Maritim *et al.*, 2003). DM yang terjadi berkelanjutan meningkatkan risiko berbagai komplikasi yang berakibat fatal yaitu terjadinya kerusakan mikrovaskular (retinopati, nefropati, dan neuropati) dan makrovaskular (penyakit jantung, stroke, dan kerusakan pembuluh darah) (WHO, 2010).

Kerusakan oksidatif dapat diredam dengan menggunakan antioksidan. Dalam pengertian kimia, antioksidan adalah senyawa pemberi elektron pada senyawa radikal untuk menetralkannya. Pengertian antioksidan dalam arti biologis adalah semua senyawa yang dapat meredam dampak negatif oksidan, termasuk dalam penghambatan dan penghentian kerusakan oksidatif terhadap suatu molekul target (Simanjuntak *et al.*, 1998). Radikal bebas dapat dihambat dengan vitamin C dan vitamin E. Senyawa kimia yang terdapat pada tumbuhan salah satunya flavonoid memiliki aktivitas sebagai antioksidan (Syaefudin *et al.*, 2014). Uji aktivitas antioksidan dapat diukur salah satunya menggunakan metode DPPH.

Metode DPPH (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*) merupakan metode yang mudah, cepat, dan sensitif untuk pengujian aktivitas antioksidan senyawa tertentu atau ekstrak tanaman (Koleva *et al.*, 2002). Senyawa DPPH digunakan sebagai senyawa pendeteksi. Senyawa DPPH merupakan senyawa radikal bebas yang bersifat stabil sehingga dapat bereaksi dengan atom hidrogen yang berasal dari suatu antioksidan (Ciesla *et al.*, 2015). Ketika larutan DPPH dicampur dengan yang dari zat yang dapat menyumbangkan atom hidrogen, maka ini menimbulkan bentuk tereduksi dengan hilangnya warna ungu. Senyawa antioksidan dapat mengubah warna larutan DPPH yang berwarna ungu menjadi *2,2-diphenyl-1-picrylhydrazine* (DPPH-H) yang berwarna kuning (Dehpour *et al.*, 2009). Reaksi radikal DPPH dengan antioksidan dapat dilihat pada Gambar 2.6. Pengukuran antioksidan dengan metode DPPH menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 517 nm (Siswoyo *et al.*, 2000).

Proses degradasi warna DPPH dari ungu menjadi kuning menyebabkan penurunan nilai absorbansi. Degradasi warna tersebut dapat digunakan untuk menentukan persen peredaman radikal DPPH pada berbagai konsentrasi sehingga dapat ditentukan nilai  $IC_{50}$ . Nilai  $IC_{50}$  adalah konsentrasi yang dibutuhkan oleh



## BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN

### 3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan adalah *true experimental laboratories*. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui kandungan fenolik, flavonoid, aktivitas antidiabetes dengan metode penghambatan  $\alpha$ -glukosidase dan aktivitas antioksidan dengan metode DPPH *in vitro* dari ekstrak daun jati belanda.

### 3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Desember 2015 sampai Juni 2016 di CDAST (*Center for Development of Advanced Sciences and Technology*) Universitas Jember.

### 3.3 Variabel Penelitian

#### a. Variabel Bebas

Variabel bebas yang digunakan dalam penelitian ini yaitu: jenis ekstrak dan konsentrasi ekstrak daun jati belanda yang diperoleh dari Taman Nasional Meru Betiri.

#### b. Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah total fenolik, total flavonoid, aktivitas penghambatan  $\alpha$ -glukosidase, dan aktivitas antioksidan.

#### c. Variabel Terkendali

Variabel terkontrol dalam penelitian ini antara lain: metode ekstraksi, waktu ekstraksi, jenis pelarut, metode penentuan total fenolik, metode penentuan total flavonoid, uji aktivitas antidiabetes dengan metode uji aktivitas penghambatan  $\alpha$ -glukosidase, dan uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH.

### 3.4 Rancangan Penelitian

#### 3.4.1 Definisi Operasional

Definisi operasional pada penelitian ini yaitu:

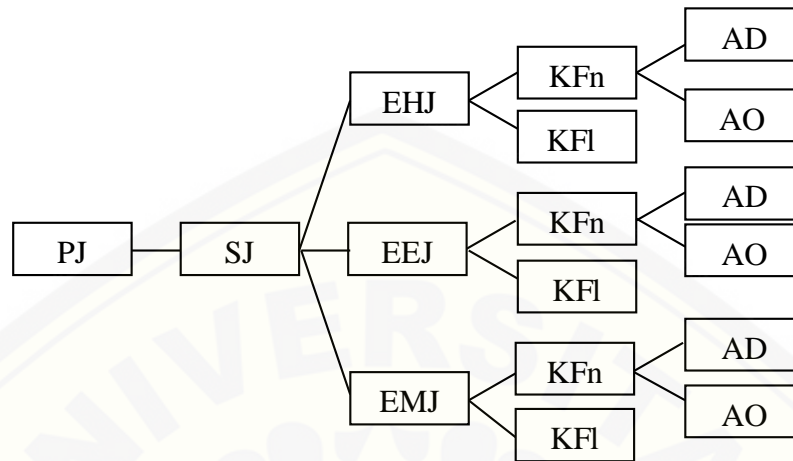
1. Daun jati belanda yang digunakan pada penelitian ini berasal dari Taman Nasional Meru Betiri. Daun jati belanda yang digunakan berasal dari tumbuhan jati belanda yang sudah dewasa yaitu pernah berbunga dan berbuah. Daun jati belanda yang digunakan, diambil secara acak tanpa membedakan daun muda dan daun tua.
2. Ekstraksi menggunakan metode maserasi bertingkat dengan perbedaan kepolaran pelarut. Pelarut yang digunakan yaitu n-heksana, etil asetat, dan metanol.
3. Analisis kandungan total fenolik menggunakan *Folin-ciocalteu* 50% dan  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  dengan menggunakan standar asam galat. Kadar total fenolik diukur dalam mg *galic acid equivalent* (GAE) per gram ekstrak.
4. Analisis kandungan total flavonoid menggunakan  $\text{Na}_2\text{NO}_2$  dan  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  dengan menggunakan standar kuersetin. Kadar total flavonid diukur dalam mg *quercetin equivalent* (QE) per gram ekstrak.
5. Konsentrasi uji untuk uji penghambatan  $\alpha$ -glukosidase dan uji aktivitas antioksidan berdasarkan kadar total fenoliknya.
6. Uji penghambatan  $\alpha$ -glukosidase menggunakan enzim  $\alpha$ -glukosidase, substrat maltosa dengan kontrol positif akarbosa.
7. Uji aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH dengan standar asam askorbat.

#### 3.4.2 Rancangan Percobaan

Tahap pertama pada penelitian ini yaitu dilakukan ekstraksi daun jati belanda dengan tiga pelarut yaitu n-heksana, etil asetat, dan metanol. Kemudian dilakukan uji kandungan total fenolik dengan standar asam galat. Selanjutnya dilakukan uji kandungan total flavonoid dengan standar kuersetin. Lalu dilakukan uji aktivitas antibiabetes dengan metode penghambatan  $\alpha$ -glukosidase in vitro dan uji aktivitas



antioksidan dengan metode peredaman DPPH. Rancangan penelitian dapat dilihat pada Gambar 3.1



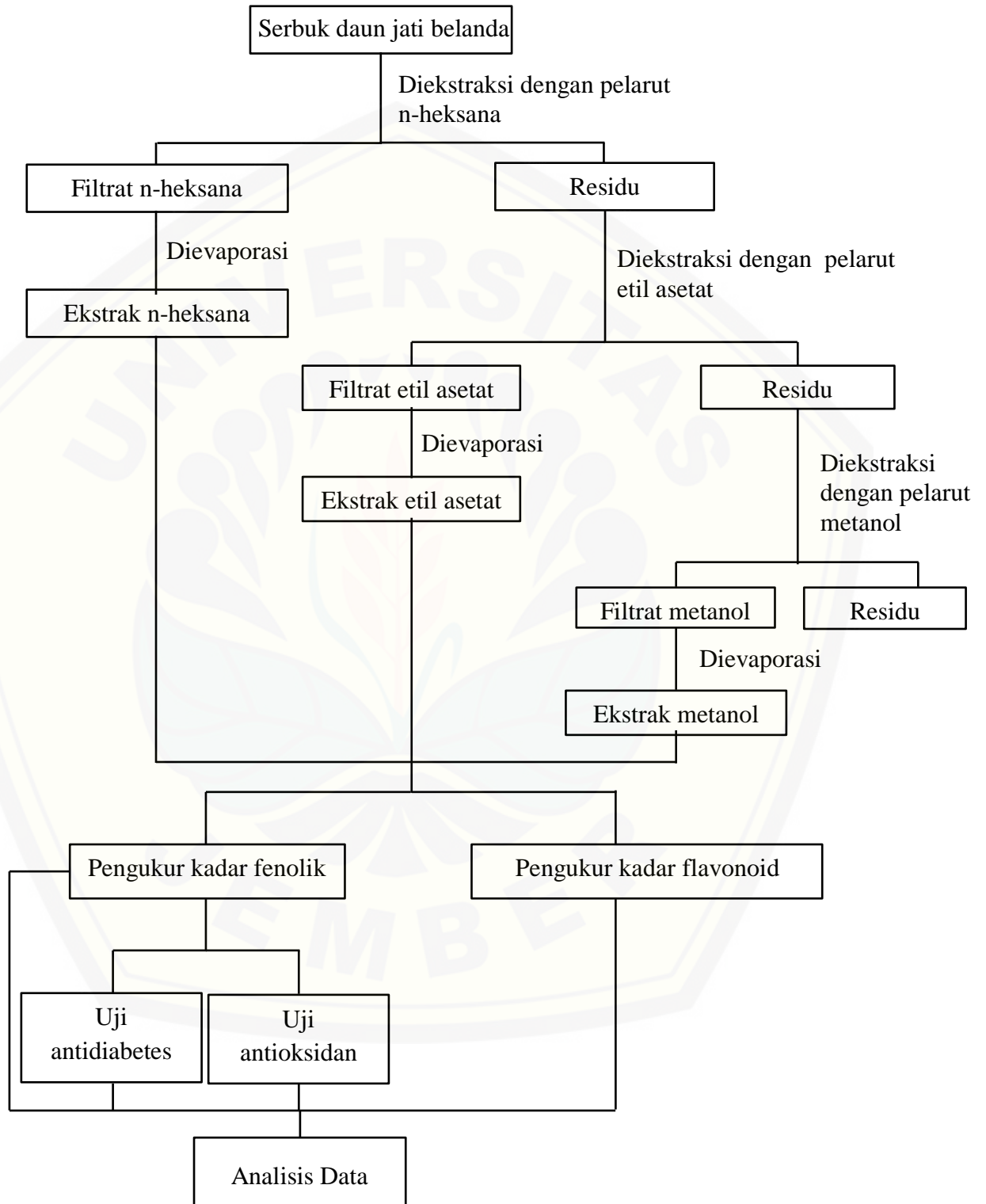
Gambar 3.1 Diagram rancangan penelitian uji aktivitas antidiabetes dan antioksidan *in vitro*.

Keterangan:

- PJ : Populasi tumbuhan jati belanda
- SJ : Sampel daun jati belanda
- EHJ : Ekstrak n-heksana daun jati belanda
- EEJ : Ekstrak etilasetat daun jati belanda
- EMJ : Ekstrak metanol daun jati belanda
- KFn : Uji kadar fenolik
- KFl : Uji kadar flavonoid
- AD : Uji aktivitas antidiabetes
- AO : Uji aktivitas antioksidan

## 3.4.3 Alur Penelitian

Alur penelitian dapat dilihat pada Gambar 3.2



Gambar 3.2 Alur penelitian

### 3.5 Alat dan Bahan

#### 3.5.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat-alat gelas, timbangan analitik, blender, *shaker* (Stuart Orbital Shaker SSL 1), corong buchner, *vacuum evaporator* (Steroglass Strike 300), sentrifugator (Hitachi CF15RXII), mikro pipet, *microtube*, spektrofotometer UV-Vis (Hitachi U-2900), kuvet, *stopwatch*, *96-well plates*, *mikroplate reader*, inkubator (Stuart SBS40).

#### 3.5.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun jati belanda (*Guazuma ulmifolia* memiliki nama sinonim *Guazuma tomentosa*) (ITIS, 2012), n-heksana p.a (Merck), etil asetat p.a (Merck), metanol p.a (Merck), akuades, akuabides, reagen Folin-Ciocalteu (Merck), natrium karbonat (Merck), asam galat (Sigma-Aldrich), natrium nitrit (Merck), alumunium (III) klorida (Merck), natrium hidroksida (Merck), kuersetin (nacalai tasque), *1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazil* (DPPH) (nacalai tasque), etanol (Merck), asam askorbat (nacalai tasque),  $\alpha$ -glukosidase dari *Saccharomyces cerevisiae* (Sigma-Aldrich), glukosa oksidase (Sigma-Aldrich), 4-aminoanipirin (Sigma-Aldrich), fenol (Sigma-Aldrich), dan akarbosa (Glucobay).

### 3.6 Prosedur Penelitian

#### 3.6.1 Pembuatan Simplisia Daun Jati Belanda

Daun jati belanda yang diperoleh dari Lembaga Taman Nasional Meru Betiri Jember, Jawa Timur dikeringkan dalam ruangan pada suhu ruang tanpa terkena sinar matahari langsung hingga diperoleh bentuk simplisia kering. Simplisia kering dipotong kecil-kecil dan dihaluskan dengan blender. Simplisia yang telah halus diseragamkan ukurannya dengan ayakan 60 mesh.

### 3.6.2 Ekstraksi Simplisia Daun Jati Belanda dengan Pelarut n-Heksana, Etil Asetat, dan Metanol

Ekstraksi dilakukan dengan metode ekstraksi bertingkat dengan maserasi. Serbuk daun jati belanda diekstraksi secara bertingkat berdasarkan kepolarannya yaitu n-heksana, etil asetat, dan metanol. Maserasi diawali dari pelarut non polar (n-heksana) kemudian pelarut semi polar (etil asetat), dan pelarut polar (metanol). Serbuk daun jati belanda sebanyak 50 gram dimasukkan ke dalam erlenmeyer 500 ml. Ditambahkan 250 ml pelarut dan *dishaker* selama 72 jam dengan kecepatan 150 RPM. Setelah itu difiltrasi dengan corong buchner sehingga dihasilkan filtrat dan residu. Filtrat dievaporasi dengan evaporator vakum pada suhu 40° C hingga didapatkan ekstrak kental. Ekstrak kental disimpan pada botol kaca gelap dan disimpan di lemari pendingin. Residu dikeringkan di dalam lemari asam untuk dilakukan maserasi selanjutnya. Ekstrak yang diperoleh dari masing-masing tahapan maserasi kemudian dihitung persen rendemennya menggunakan Persamaan 3.1

$$\text{Rendemen ekstrak (\%)} = \frac{\text{Berat ekstrak}}{\text{Berat simplisia}} \times 100\% \quad (3.1)$$

### 3.6.3 Analisis Kandungan Total Fenolik

Analisis kandungan total senyawa fenolik ekstrak jati belanda ditentukan dengan metode Folin-Ciocalteu (Taga *et al.*, 1984). Metode ini didasarkan pada optimasi yang dilakukan oleh Wahyudi (2015). Kandungan total fenolik ekstrak jati belanda dihitung berdasarkan kurva standar asam galat dengan lima konsentrasi yaitu 2,7; 5,5; 8,2; 10,9; 13,6 (Rahmawati, 2016). Kurva standar asam galat dapat dilihat pada Lampiran C.1.2. Sampel ekstrak n-heksana jati belanda, etil asetat jati belanda, dan metanol jati belanda masing-masing sebanyak 50 mg masing-masing dilarutkan dalam metanol p.a hingga 10 ml. Larutan ekstrak sebanyak 50 µl dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berbeda. Sebanyak 1 ml Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 2% (b/v) ditambahkan ke dalam masing-masing tabung reaksi dan diinkubasi selama 2 menit. Ditambahkan 50 µl reagen Folin-Ciocalteu 50% (v/v) dan diinkubasi selama 30 menit pada suhu kamar. Diukur absorbansi larutan dengan menggunakan

spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 750 nm. Total fenolik masing-masing ekstrak ditentukan dalam mg *gallic acid equivalent* (GAE) per gram ekstrak menggunakan persamaan dari kurva standar asam galat. Pengujian dilakukan sebanyak replikasi 3 kali untuk masing-masing ekstrak.

#### 3.6.4 Analisis Kandungan Total Flavonoid

Analisis kandungan total flavonoid ekstrak ditentukan dengan metode kolorimetri  $\text{AlCl}_3$  dengan kuersetin sebagai standar (Chang *et al.*, 2002). Metode ini didasarkan oleh optimasi yang dilakukan oleh Wahyudi (2015). Kandungan total flavonoid dihitung berdasarkan standar kuersetin dengan 5 konsentrasi yaitu 9,5; 19,0; 38,1; 47,6; 57,1 (Rahmawati, 2016). Kurva standar kuersetin dapat dilihat pada Lampiran D.1.2. Larutan ekstrak n-heksana jati belanda, etil asetat jati belanda, dan metanol jati belanda sebanyak 150  $\mu\text{l}$  dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berbeda. Masing-masing ditambahkan sebanyak 400  $\mu\text{l}$  akuades. Selanjutnya ditambahkan dengan 30  $\mu\text{l}$   $\text{NaNO}_2$  5% (b/v) dan diinkubasi selama 6 menit. Setelah itu 30  $\mu\text{l}$   $\text{AlCl}_3$  10% (b/v) ditambahkan. Sebanyak 200  $\mu\text{l}$   $\text{NaOH}$  1 M dan 240  $\mu\text{l}$  akuades ditambahkan ke dalam campuran. Ditentukan absorbansi larutan menggunakan spektrofotometer UV-Vis diukur pada panjang gelombang 415 nm. Total flavonoid masing-masing ekstrak ditentukan dalam mg *quercetin equivalent* (QE) per gram ekstrak menggunakan persamaan dari kurva standar kuersetin. Pengujian dilakukan sebanyak replikasi 3 kali untuk masing-masing ekstrak.

#### 3.6.5 Analisis Antidiabetes Ekstrak Daun Jati belanda dengan Penghambatan Enzim $\alpha$ - Glukosidase

Penghambatan  $\alpha$ -glukosidase oleh ekstrak jati belanda dianalisis dengan metode Miyazawa *et al.* (2005) yang telah dimodifikasi. Metode ini didasarkan pada optimasi yang sebelumnya dilakukan oleh Wahyudi (2015). Ekstrak jati belanda dibuat dengan 5 konsentrasi uji yang berbeda yaitu ekstrak n-heksana dibuat dengan konsentrasi 1; 5; 10; 15; 20, ekstrak etil asetat dengan konsentrasi 1; 4; 8; 12; 16, dan ekstrak metanol dengan konsentrasi 1; 3; 4,5; 6; 8. Sebanyak 100  $\mu\text{l}$

maltosa dimasukkan ke dalam *microtube*. Sebanyak 100 µl larutan ekstrak n-heksana jati belanda, etil asetat jati belanda, dan metanol jati belanda ditambahkan. Kemudian ditambahkan 50 µl DMSO. Setelah itu ditambahkan 190 µl buffer fosfat pH 7 ke dalam setiap *microtube*. Larutan dicampur menggunakan vortex dan ditambahkan 10 µl α-glukosidase (1 unit/µl). Larutan diinkubasi pada suhu 37°C selama 1 jam setelah divortex. Reaksi dihentikan dengan cara dididihkan larutan selama 3 menit. Sebanyak 750 µl buffer fenol pH 7 ditambahkan ke dalam setiap *microtube*. Setelah itu ditambah dengan 5µl peroksidase (0,5 unit/µl), 5µl aminoantipirin (4 mg/ml), dan 5µl glukosa oksidase (0,8 unit/µl). Larutan dicampur dengan menggunakan vortex. Kemudian diinkubasi selama 10 menit pada suhu 37°C. Dipipet 200 µl dan dimasukkan ke dalam 96-well plates untuk diukur absorbansinya pada 500 nm dengan *microplate readers*. Persen penghambatan α-glukosidase oleh masing-masing ekstrak dihitung dengan Persamaan 3.2. Standar yang digunakan adalah akarbose. Preparasi standar akarbose dapat dilihat pada Lampiran E.1.

$$\text{Penghambatan } \alpha\text{-glukosidase (\%)} = \left[ \frac{(A_0 - A_1)}{A_0} \right] \times 100\% \quad (3.2)$$

Keterangan:

$A_0$  = nilai absorbansi kontrol

$A_1$  = nilai absorbansi sampel

Nilai  $IC_{50}$  penghambatan enzim α-glukosidase dihitung melalui persamaan linear yang dihasilkan melalui pengeplotan antara persen penghamatan dan log konsentrasinya. Kemampuan ekstrak dalam menghambatan enzim α-glukosidase dinyatakan dalam  $IC_{50}$ , yaitu konsentrasi ekstrak yang dibutuhkan untuk menurunkan 50% aktivitas penghambatan enzim α-glukosidase.

### 3.6.6 Analisis Antioksidan Ekstrak Daun Jati belanda dengan Metode DPPH

Peredaman radikal DPPH ekstrak jati belanda dianalisis dengan metode Siswoyo *et al.* (2000). Metode ini didasarkan pada optimasi yang dilakukan oleh Wahyudi (2015). Ekstrak jati belanja dibuat dengan 5 konsentrasi uji yang berbeda yaitu ekstrak n-heksana dibuat dengan konsentrasi 1; 5; 10; 15; 20, ekstrak etil

asetat dengan konsentrasi 1; 3; 6; 9; 12, dan ekstrak metanol dengan konsentrasi 1; 3; 4,5; 6; 8. Larutan DPPH 500  $\mu\text{M}$  dalam etanol dibuat untuk larutan stok. Sebanyak 300  $\mu\text{l}$  larutan DPPH dan 700  $\mu\text{l}$  etanol dimasukkan ke dalam *microtube*, kemudian ditambahkan sampel ekstrak sebanyak 33  $\mu\text{l}$ . Setelah 30 menit, absorbansi larutan diukur pada panjang gelombang 517 nm menggunakan *microplate reader*. Dihitung persen peredaman radikal DPPH pada masing-masing konsentrasi ekstrak dengan Persamaan 3.3

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

Keterangan :

$A_0$  = nilai absorbansi kontrol

$A_1$  = nilai absorbansi sampel

Nilai  $\text{IC}_{50}$  radikal DPPH dihitung melalui persamaan linear yang dihasilkan melalui pengeplotan antara persen peredaman dan log konsentrasinya. Kemampuan ekstrak dalam menangkap radikal DPPH dinyatakan dalam  $\text{IC}_{50}$ , yaitu konsentrasi ekstrak yang dibutuhkan untuk menurunkan 50% aktivitas radikal DPPH. Standar yang digunakan adalah asam askorbat. Preparasi standar asam askorbat dapat dilihat pada Lampiran F.1.

### 3.7 Analisis Data

Data yang diperoleh dari penelitian berupa total fenolik, flavonoid,  $\text{IC}_{50}$  penghambatan  $\alpha$ -glukosidase, dan  $\text{IC}_{50}$  antioksidan peredaman radikal DPPH. Data-data diuji dengan uji 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  $p < 0,05$ . (Besral, 2010).

## BAB 5 PENUTUP

### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian diperoleh beberapa kesimpulan yaitu sebagai berikut:

1. Kandungan total fenolik dari yang tertinggi hingga terendah yaitu ekstrak metanol, etil asetat, dan n-heksana daun jati belanda. Ketiga ekstrak tersebut mempunyai perbedaan nyata antar ekstrak.
2. Kandungan total flavonoid dari yang tertinggi hingga terendah yaitu ekstrak etil asetat, metanol, dan n-heksana daun jati belanda. Ketiga ekstrak tersebut mempunyai perbedaan nyata antar ekstrak.
3. Aktivitas penghambatan enzim  $\alpha$ -glukosidase berdasarkan konsentrasi ekstrak yang tertinggi hingga terendah yaitu ekstrak metanol, etil asetat, dan n-heksana daun jati belanda. Aktivitas penghambatan enzim  $\alpha$ -glukosidase dari ketiga ekstrak mempunyai perbedaan yang nyata.
4. Aktivitas antioksidan peredaman radikal DPPH berdasarkan konsentrasi ekstrak yang tertinggi hingga terendah yaitu ekstrak metanol, etil asetat, dan n-heksana daun jati belanda. Aktivitas antioksidan peredaman radikal DPPH dari ketiga ekstrak mempunyai perbedaan yang nyata.

### 5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian diperoleh saran yang dapat diberikan adalah sebagai berikut:

1. Perlu dilakukan penelitian lanjutan mengenai identifikasi dan isolasi senyawa kimia yang terdapat pada daun jati belanda, sehingga dapat diketahui senyawa yang berperan sebagai antidiabetes dan antioksidan.
2. Perlu dilakukan uji in vivo mengenai aktivitas antidiabetes dengan mekanisme penghambatan enzim  $\alpha$ -glukosidase.
3. Perlu dilakukan pengembangan ekstrak jati belanda menjadi sediaan fitofarmaka.



## DAFTAR PUSTAKA

- Ahmed, D., Kumar, V., Sharma, M., dan Verma, A. 2014. Target Guided Isolation, In Vitro Antidiabetic, Antioxidant Activity and Molecular Docking Studies of some Flavonoid from *Albizia Lebbeck Benth* Bark. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 14 (55): 1-12.
- Alonso, C. A. J. dan Salazar, O. L. A. 2008. The Antidiabetic Properties of *Guazuma ulmifolia* Lam. are Mediated by The Stimulation of Glucose Uptake in Normal and Diabetic Adipocytes without Inducing Adipogenesis. *Journal of Ethnopharmacology*. 2: 252-256.
- American Diabetes Association. 2015. Pregnancy Gestational Diabetes. *Diabetes Care*. 38 (1):1-93.
- Andersen, O. M. dan Kenneth, R.M. 2006. *Flavonoids Chemistry, Biochemistry and Applications*. New York: CRC Press.
- Apriliani, F.Y. 2015. *Potensi Ekstrak Daun Timo (Kleinhovia hospita) sebagai Antioksidan dan Antihiperlipidemia: Metode DPPH dan Penghambatan Lipase In Vitro*. Fakultas Farmasi, Universitas Jember.
- Badan Pengawas Obat Makanan. 2010. *Info POM Antidiabetika Oral*. 9 (5): 1-9.
- Besral. 2010. *Pengolahan dan Analisa Data-I Menggunakan SPSS*. Depok: Departemen Biostatiska Fakultas Kesehatan Masyarakat, UI
- Bosenberg, L. H. 2008. The Mechanism of Action of Oral Antidiabetic Drugs: a Review of Recent Literatur. *The Journal of Endocrinology, Metabolism and Diabetes of South Africa*. 13 (3): 80-88.
- Chang, W. C., Kim, S. C., Hwang, S. S., Choi, B. K., Ahn, H. J., Lee, M. Y., Park, S. H., dan Kim, S. K. 2002. Antioxidant Activity and Free Radical Scavenging Capacity between Korean Medicinal Plants and Flavonoids by Assay Guided Comparison. *Plant Science*. 163: 1161-1168.
- Ciesla, L., Karyszen, J., Stochmal, A., Oleszek, W., dan Waksumundzka, H. M. 2012. Approach to Develop a Standardized TLC-DPPH• Test for Assessing Free Radical Scavenging Properties of Selected Phenolic Compounds. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 70: 126-135.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1989. *Materia Medika Edisi V*. Jakarta: Direktorat Pengawasan Obat dan Makanan.

- Dehpour, A.A., Ebrahimzadeh, M.A., Fazel, N.S., dan Mohammad, N. S. 2009. Antioxidant Activity of Methanol Extract of *Ferula Assafoetida* and Its Essential Oil Composition. *Grasas Aceites*. 60 (4): 405-412.
- Dirjen Binfar Depkes RI. 2005. *Pharmaceutical Care untuk Penyakit Diabetes Mellitus*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI.
- Dyer, J., Wood, I. S., Palejwala, A., Ellis, A., dan Shirazi, B. S. P. 2002. Expression of Monosaccharide Transporters in Intestine of Diabetic Humans. *American Journal of Physiology Gastrointestinal and Liver Physiology*. 282: 241-248.
- Febrinda, A. E., Astawan M., Wresdiyati, T., dan Nancy, D. 2013. Kapasitas Antioksidan dan Inhibitor Alfa Glukosidase Ekstrak Bawang Dayak. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*. 24 (2): 161-167.
- Fontana, D., Cazarolli, L. H., Lavado St, C., dan Mengatto St, V. 2011. Effects of Flavonoids on  $\alpha$ -Glucosidase Activity: Potential Targets for Glucose Homeostasis. *Journal Nutrition*. 27: 1161–1167.
- Giorgio, P. 2000. Flavonoid an Antioxidant. *Journal National Product*. 63: 1035-1045.
- Harborne, J.B. dan Turner, B.L. 1984. *Plant Chemosystematics*. London: Academic Press.
- Hartanto, B. 1986. *Fitokimia daun jati belanda (Guazuma ulmifolia Lamk.)*. Bandung: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Teknologi Bandung.
- IDF. 2013. *IDF Diabetes Atlas Seventh Edition*.
- ITIS (*integrated taxonomic information system*). 2011. *Guazuma ulmifolia Lamk.* [http://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search\\_topic=TSN&search\\_value=21546](http://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=21546). [18 April 2016]
- Kaneria, M., Baravalia, Y., Vaghasiya, Y., dan Chandra, S. 2009. Determination of Antibacterial and Antioxidant Potential of Some Medicinal Plants from Saurashtra Region, India. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 71(4): 406-412
- Kemenkes RI. 2013. Buletin Data Informasi Kesehatan. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia
- Kim, J.S., Kwon, C.S., dan Son K.H. 2000. Inhibition of Alpha-Glucosidase and Amylase by Luteolin, a Flavonoid. *Bioscience Biotechnology Biochemistry*. 64: 2458–61.

- Koleva, I. I., van Beek, T.A., Linssen, J.P.H., de Groot, A., dan Evstatieva, L. N. 2002. Screening of Plant Extracts for Antioxidant Activity: A Comparative Study on Three Testing Methods. *Phytochemical Analysis*. 13: 8-17.
- Kusumowati, I. T. D., Tanti, A., Andi, S., Muhamad, D., dan Ririn, W., 2012. Korelasi Kandungan Fenolik dan Aktivitas Antiradikal Ekstrak Etanol Daun Empat Tanaman Obat Indonesia (*Piper bettle*, *Sauropus androgynus*, *Averrhoa billimbi*, dan *Guazuma ulmifolia*). *Pharmacon*. 13: 1-5.
- Maritim, A. C., Sanders, R. A., dan Watkins, J. B. 2003. Diabetes, Oxidative Stress, and Antioxidants: A Review. *Journal Biochemistry Molecular Toxicology*. 17 (1): 24-37.
- Miyazawa, M., Yagi, N., dan Taguchi, K. 2005. Inhibitory Compounds of  $\alpha$ -Glucosidase Activity from *Arctium lappa* L. *Journal of Oleo Science*. 54 (11): 589-594.
- Molyneux, P. 2004. The Use of the Stable Free Radical Diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. *Journal Science*. 26 (2): 211-219.
- Ngwe, H., Kyin, S., dan Nyo, H. H. 2011. Chemical Analisyis and  $\alpha$ -Glucosidase Inhibitory Effect of Bizat Leaves (*Eupatorium odoratum* Linn.). *Universities Research Journal*. 4 (3): 426-438.
- Nuttal, S. L., Dunne, F., Kendal, M.J., dan Martin U. 1999. Age Independent Oxidative Stress in Elderly Patiens with Non-insulin Dependent Diabetes Mellitus. *Quarterly Journal Medicine*. 92: 33-38.
- Pekal, A. Dan Krystyna, P. 2014. Evaluation of Aluminium Complestion Reaction of Flavonoid Content Assay. *Journal Food Anal*. 7: 1776-1782.
- Prior, R.L., Wu, X., dan Schaich, K. 2005. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal Agricultur Food Chemistry*. 53(10): 4290-302.
- Rachmadani. 2001. *Ekstrak air daun jati belanda (Guazuma ulmifolia Lamk.) berpotensi menurunkan kadar lipid darah pada tikus outih strain wistar*. Bogor: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor.
- Rahbani, N. M. E., Rahimi, P. A., Adi, B. F., dan Mirhashemi, S. M. 1999. Total Antioxidant Capacity, Superoxide Dismutase and Glutathione Peroxidase in Diabetic Patients. *Medical Journal of Islamic Academy of Sciences*. 12 (4): 109-114.

- Rahmawati, P. N. 2016. *Uji Aktivitas Antihiperlipidemia dan Antioksidan Ekstrak Daun Bayur (Pterospermum javanicum Jungh.) dengan Metode Penghambatan Lipase dan DPPH In Vitro*. Fakultas Farmasi, Universitas Jember.
- Rajalakshmi, D. dan Narasimhan S. 1985. *Food Antioxidants: Sources and Methods of Evaluation* dalam D.L. Madhavi: *Food Antioxidant, Technological, Toxicological and Health Perspectives*. Marcel Dekker Inc., Hongkong: 76-77.
- Ruoff, R.S., Tse, D. S., Malbotra, R., dan Lorents, D. C., 1993. Solubility of C<sub>60</sub> in a Variety of Solvents. *Journal Physical Chemistry*. 97: 3379-3383.
- Senthil, P., Kumar, A. A., Manasa, M., Kumar, A., Sravanthi, K., dan Deepa, D. 2011. Wound Healing Activity of Alcoholic Extract of *Guazuma umifolia* Leaves on Albino Wistar Rats. *International Journal of Pharmacology and Bio Sciences*. 2 (4): 34-38.
- Setiawan dan Suhartono, E. 2005. *Stress Oksidatif dan Peran Antioksidan Terhadap Diabetes Melitus*. Majalah Kedokteran Indonesia. 5: 86-91.
- Shabeer, J., Srivatava, R. S., dan Singh, S. K. 2009. Antidiabetic and Antioxidant Effect of Various Fractions of *Phyllanthus Simplex* in Alloxan Diabetic Rats. *Journal of Ethnopharmacology*. 124: 34-38.
- Shanmugam, S., Kumar, T.S, Selvam, K.P. 2010. *Laboratory Handbook on Biochemistry*. New Delhi: PHI Learning.
- Sharma, M., Chopra S., Prasad S. B. 2015. *Guazuma tomentosa: A Valuable Medicinal Plant*. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*. 7: 197-198.
- Shobana, S., Harsha, M.R., Platel, K., Srinivasan, K., Malleshi, N.G. 2010. Amelioration of Hyperglycaemia and Its Associated Complications by Finger Millet (*Eleusine coracana* L.) Seed Coat Matter in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *Journal Nutrition*. 104(12):1787-1795.
- Sim, L., Willemsma, C., Mohan, S., Naim, H. Y., Pinto, B. M., dan Rose, D. R. 2010. Structural Basis for Substrate Selectivity in Human Maltase-Glucoamylase and Sucrase-Isomaltase N-terminal Domains. *The Journal of Biological Chemistry*. 285 (23): 17763-17770.
- Simanjuntak, D. dan Sudaryati, E. 1998. Aspek Pencegahan Radikal Bebas Melalui Antioksidan. Majalah Kedokt Indonesia. 48(1): 50-4.

- Singleton, V.L., dan Rossi, J.A.J., 1965. Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. *Journal Enology*. 16, 144-158.
- Siswoyo, T. A., Aldino, M., & Hoshokawa, K. 2013. Free Radical Scavenging Activity and DNA Damage Protective Effect of Melinjo (*Gnetum gnemon* L.). *Journal of Medicinal Plant Research*. 7 (32): 2399-2406.
- Soesilowati, S. 2003. Diabetic Neuropathy: Pathogenesis and Treatment. *Acta Medica Indonesia*. 35 (1) : 27-34.
- Swamy, N., Prashanth, K. N., dan Basavaish, K. 2014. Redox-Reaction Based Spectrophotometric Assay of Isoniazid in Pharmaceuticals. *ISRN Analytical Chemistry*.
- Syaefudin, Wahyuni, W. T., Artika, L. M., dan Sulistiyani. 2014. Antioxidant Activity of Flavonoid from *Guazuma ulmifolia* Lamk. Leaves and Apoptosis Induction in Yeast Cells. *Journal of Biological Sciences*. 14 (4): 305-310.
- Tadera, K., Minami, Y., Takamatsu, K., dan Matsuoka, T. 2006. Inhibition of  $\alpha$ -Glucosidase and  $\alpha$ -Amylase by Flavonoids. *Journal of Nutrition Science and Vitaminology*. 52: 149-153.
- Taga, M. S., Miller, E. E., dan Prat, D. E. 1984. Chia Seeds as a Source of Nature Lipid Antioxidants. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 61: 928-931.
- Tursiman, Puji. A, Risa. N. 2012. Total Fenol Fraksi Etil Asetat Dari Buah Asam Kandis (*Garcinia dioica* Blume). *Jurnal Kimia Katulistiwa*. 1 (1): 45-48.
- Ueno, Y., Kizaki M., Nakagiri R., Kamiya T., Sumi H., dan Osawa T. 2002. Dietary Gluthatione Protects Rats from Diabetic Nephropathy and Neuropathy. *Journal Nutrition*. 132: 897-900.
- Vermerris, W. dan Nicholson, R. 2006. Phenolic Compound. Netherlands: Springer. 32: 88-90.
- Wahyudi, L. D. 2015. *Potensi Ekstrak Fenolik Tanaman Obat Taman Nasional Meru Betiri: Bidara Upas (Merreimia mammosa) dan Kayu Kuning (Arcangelisia flava) sebagai Antidiabetik dan Antioksidan*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Jember.
- White, P. J. dan Xing Y. 1954. *Antioxidants from Cereals and Legumes dalam Foreidoon Shahidi: Natural Antioxidants, Chemistry, Health Effect and Applications*. Champaign, Illinois. AOCS Press: 25-63.

- WHO. 2010. *Part 1: Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus*.
- WHO. 2011. *Noncommunicable diseases (NCDs) profiles 2011*.
- Williamson, G. 2013. Possible Effect of Dietary Polyphenols on Sugar Absorption and Digestion. *Molecular Nutrition and Food Research Journal*. 57: 48-57.
- Yang, Y., Hayden M. R., Sowers S., Bagree S.V., dan Sowers JR . 2010. Retinal Redox Stress and Remodeling in Cardiometabolic Syndrome and Diabetes. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 3 (6): 392-403.
- You, Q., Chen, F., Wang, X., Jiang, Y., dan Lin, S. 2011. Antidiabetic Activities of Phenolic Compounds in Muscadine Against  $\alpha$ -glucosidase and Pancreatic Lipase. *Food Science and Technology*. 46: 164-168.
- Zhang, X., Liu Z., Bi X., Liu, J., Li, W., dan Zhao, Y. 2013. Flavonoids and Its Derivatives From *Callistephus Chinensis* Flowers and Their Inhibitory Activitives Against  $\alpha$ -Glucosidase. *Experimental and Clinical Sciences journal*. 12: 956-966
- Zhou, J., Xie, G., Yan, X., 2011. *Encyclopediia of Traditional Chinese Medicines*. New York: Springer.
- 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*. 3:2.
- Zulvianti. 2015. *Uji Aktivitas Antioksidan dan Antihiperlipidemia Ekstrak Daun Kepuh (Sterculia foetida): Metode DPPH dan Hampatan Lipase In Vitro*. Fakultas Farmasi, Universitas Jember.

DAFTAR LAMPIRAN

LAMPIRAN A. Validasi Tanaman Jati Belanda



**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 -----

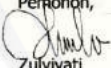
1. N a m a /NIP : Nur Rohmah Syarif S.Si. MP. / 197209051999032001-----  
 Pangkat / Gol. : Penata Tk I / (III/d)-----  
 Jabatan : PEH Muda-----
2. N a m a /NIP : Iva Tri Lindasari / 198310222002122002-----  
 Pangkat / Gol. : Pengatur Tk. I / (II/d)-----  
 Jabatan : PEH Pelaksana Lanjutan-----

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. -----

Jember, 20 Mei 2015  
 Yang memeriksa,


Yang diperiksa,  
 Perohon,  
  
 Zulviyati

1. Nur Rohmah Syarif S.Si MP  
 NIP. 197209051999032001
2. Iva Tri Lindasari  
 NIP. 198310222002122002

(  )  
 (  )



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

  
 Sulistrianto S.Si M.Si  
 NIP. 196805101995031002

**Lampiran B. Perhitungan Rendemen Maserasi**

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

Ekstrak	Berat ekstrak (g)	Berat simplisia (g)	Rendemen (%)
EHJ	0,84	50	1,68
EEJ	1,15	49,07	2,34
EMJ	2,52	48,34	5,21

Contoh perhitungan:

$$\begin{aligned} \text{EHJ: Rendemen (\%)} &= \frac{0,84}{50} \times 100 \% \\ &= 1,68 \% \end{aligned}$$

**Lampiran C. Uji 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:

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

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

$$M2 = 3000 / 1100$$

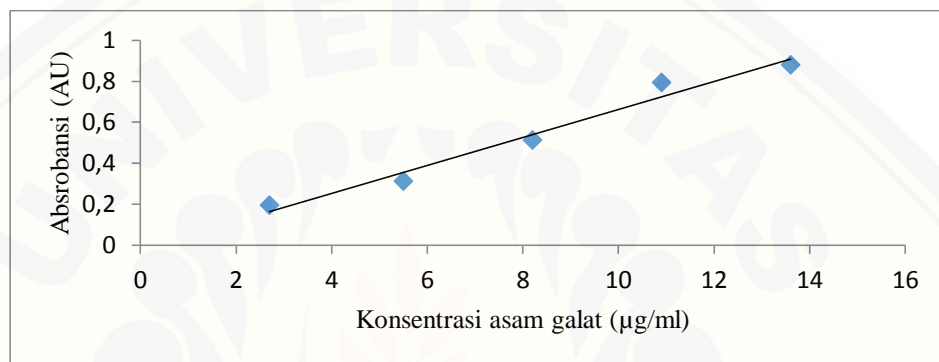
$$M2 = 2,7 \text{ µg/mL}$$



### 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	0,880

Konsentrasi asam galat dan absorbansi diplotkan hingga diperoleh persamaan  $y = 0,0683x - 0,0192$  dengan nilai  $R^2 = 0,973$



### 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)
EJH	50	10	5
EEJ	50	10	5
EMJ	50	10	5

Contoh perhitungan:

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

### C.2.2 Pengujian Total Fenolik Ekstrak

Ekstrak	Stok ekstrak ( $\mu\text{L}$ )	$\text{Na}_2\text{CO}_3$ ( $\mu\text{L}$ )	Folin Ciocalteu ( $\mu\text{L}$ )	Volume total ( $\mu\text{L}$ )
EJH	50	1000	50	1100
EEJ	50	1000	50	1100
EMJ	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)
EHJ	0,450	6,869	22	151,133	30,227	$29,754 \pm 0,452$
	0,442	6,753	22	148,556	29,711	
	0,436	6,665	22	146,624	29,325	
EEJ	0,682	10,266	22	225,862	45,172	$45,795 \pm 0,548$
	0,698	10,500	22	231,016	46,203	
	0,695	10,457	22	230,050	46,010	
EMJ	0,872	13,048	22	287,063	57,413	$58,250 \pm 0,726$
	0,891	13,326	22	293,183	58,637	
	0,892	13,341	22	293,505	58,701	

Contoh perhitungan:

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

$$x_1 = \frac{0,45 + 0,0192}{0,0683}$$

$$= 6,869 \mu\text{g GAE/mL}$$

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

$$= 22$$

$$x_2 = 6,86 \text{ mg GAE/mL} \times 22$$

$$= 151,13 \text{ mg GAE/mL}$$

$$x_3 = \frac{151,13 \text{ mg GAE/mL}}{5 \text{ mg/mL}}$$

$$= 30,22 \text{ mg GAE/g}$$

## Lampiran D. Uji Total Flavonoid

### D.1 Standar Kuersetin

#### D.1.1 Preparasi Standar Kuersetin

Dibuat larutan induk kuersetin dengan konsentrasi 1000  $\mu\text{g/mL}$ , selanjutnya dilakukan uji kadar kuersetin dengan 5 konsentrasi. Dari larutan induk, diambil volume 10; 20; 40; 50; dan 60  $\mu\text{L}$ . Sehingga diperoleh konsentrasi akhir kuersetin dalam larutan uji sebesar 9,5; 19,0; 38,1; 47,6; dan 57,1  $\mu\text{g/mL}$ .

M1 (konsentrasi larutan induk) ( $\mu\text{g/mL}$ )	V1 (volume larutan induk) ( $\mu\text{L}$ )	M2 (konsentrasi akhir uji) ( $\mu\text{g/mL}$ )	V2 (volume akhir uji) ( $\mu\text{L}$ )
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:

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

$$1000 \mu\text{g/mL} \times 10 \mu\text{L} = M2 \times 1050 \mu\text{L}$$

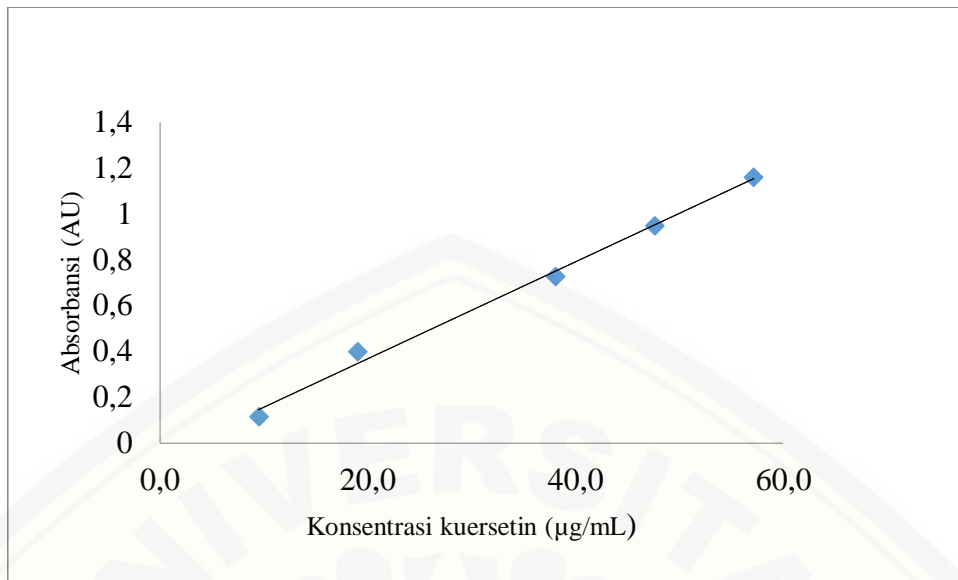
$$M2 = 10.000 / 1050$$

$$M2 = 9,5 \mu\text{g/mL}$$

#### D.1.2 Kurva Standar Kuersetin

Konsentrasi ( $\mu\text{g/mL}$ )	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  $y = 0,0212x - 0,0562$  dengan nilai  $R^2 = 0,994$



## 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)
EHJ	50	10	5
EEJ	50	10	5
EMJ	50	10	5

Contoh perhitungan:

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

### D.2.2 Pengujian Total Flavonoid Ekstrak

Ekstrak	Stok ekstrak (µL)	Metanol 50 % (µL)	Akuades (µL)	NaNO <sub>2</sub> (µL)	AlCl <sub>3</sub> (µL)	NaOH (µL)	Akuades (µL)	Vol Tot
EHJ	50	100	400	30	30	200	240	1050
EEJ	50	100	400	30	30	200	240	1050
EMJ	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)
EHJ	0,544	28,311	21	594,538	118,908	118,379 ± 0,750
	0,543	28,264	21	593,547	118,709	
	0,537	27,981	21	587,604	117,521	
EEJ	0,833	41,943	21	880,811	176,162	175,040 ± 1,194
	0,828	41,707	21	875,858	175,172	
	0,821	41,377	21	868,925	173,785	
EMJ	0,629	32,320	21	678,736	135,747	135,615 ± 1,392
	0,621	31,943	21	670,811	134,162	
	0,635	32,604	21	684,679	136,936	

Contoh perhitungan:

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

$$x_1 = \frac{0,544 + 0,056}{0,021}$$

$$= 28,311 \mu\text{g QE/mL}$$

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

$$= 21$$

$$x_2 = 28,311 \text{ mg QE/mL} \times 21$$

$$= 594,538 \text{ mg QE/mL}$$

$$x_3 = \frac{594,538 \text{ mg QE/mL}}{5 \text{ mg/mL}}$$

$$= 118,908 \text{ mg QE/g}$$

## Lampiran E. Uji Penghambatan Enzim $\alpha$ -Glukosidase

### E.1 Preparasi Kontrol Positif Akarbose

Akarbose yang digunakan dalam bentuk sediaan tablet yaitu Glucobay memiliki kandungan sebesar 50 mg dengan berat tablet sebesar 129,20 mg. Ditimbang akarbose 3 mg, kemudian dilarutkan dalam 1 mL DMSO. Sehingga didapatkan konsentrasi akarbose sebesar 1,16 mg/mL. Dari konsentrasi akarbose tersebut dibuat larutan stok akarbose dengan konsentrasi 100  $\mu$ g/mL.

$$\frac{3 \text{ mg}}{129,20 \text{ mg}} \times 50 \text{ mg} = 1,16 \text{ mg}$$

$$\text{Konsentrasi akarbose} = \frac{1,16 \text{ mg}}{1 \text{ mL}} = 1,16 \text{ mg/mL}$$

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

$$1160 \text{ } \mu\text{g/mL} \times V1 = 100 \text{ } \mu\text{g/mL} \times 1000 \text{ } \mu\text{L}$$

$$V1 = 82,20 \text{ } \mu\text{L}$$

Dari larutan stok akarbose dibuat 5 konsentrasi uji sebesar 1; 2; 3; 4; dan 5  $\mu$ g/mL. Sehingga diambil volume dari larutan stok sebesar 2,4; 4,8; 7,2; 9,6; dan 12  $\mu$ L. Konsentrasi 0 berlaku sebagai blanko.

M1 (konsentrasi larutan stok) ( $\mu$ g GAE/mL)	V1 (volume larutan uji) ( $\mu$ L)	M2 (konsentrasi uji) ( $\mu$ g/mL)	V2 (volume akhir uji) ( $\mu$ L)
100	2,4	1	240
100	4,8	2	240
100	7,2	3	240
100	9,6	4	240
100	12	5	240

Contoh perhitungan :

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

$$100 \text{ } \mu\text{g GAE/mL} \times V1 = 1 \times 240$$

$$V1 = 240 / 100$$

$$V1 = 2,4 \text{ } \mu\text{L}$$

## E.2 Preparasi Ekstrak Uji

Dibuat larutan stok ekstrak dengan konsentrasi fenolik terkecil sebesar 100  $\mu\text{g GAE/mL}$ , selanjutnya dilakukan uji penghambatan enzim  $\alpha$ -glukosidase dengan 5 konsentrasi uji. Konsentrasi 0 berlaku sebagai blanko.

Ekstrak n-heksana jati belanda

M1 (konsentrasi larutan stok) ( $\mu\text{g GAE/mL}$ )	V1 (volume larutan uji) ( $\mu\text{L}$ )	M2 (konsentrasi uji) ( $\mu\text{g/mL}$ )	V2 (volume akhir uji) ( $\mu\text{L}$ )
100	2,4	1	240
100	12	5	240
100	24	10	240
100	36	15	240
100	48	20	240

Ekstrak etil asetat jati belanda

M1 (konsentrasi larutan stok) ( $\mu\text{g GAE/mL}$ )	V1 (volume larutan uji) ( $\mu\text{L}$ )	M2 (konsentrasi uji) ( $\mu\text{g/mL}$ )	V2 (volume akhir uji) ( $\mu\text{L}$ )
100	2,4	1	240
100	9,6	4	240
100	19,2	8	240
100	28,8	12	240
100	38,4	16	240

Ekstrak metanol jati belanda

M1 (konsentrasi larutan stok) ( $\mu\text{g GAE/mL}$ )	V1 (volume larutan uji) ( $\mu\text{L}$ )	M2 (konsentrasi uji) ( $\mu\text{g/mL}$ )	V2 (volume akhir uji) ( $\mu\text{L}$ )
100	2,4	1	240
100	7,2	3	240
100	10,8	4,5	240
100	14,4	6	240
100	19,2	8	240

Contoh perhitungan :

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

$$100 \mu\text{g GAE/mL} \times V1 = 1 \times 240 \mu\text{L}$$

$$V1 = 240 / 100$$

$$V1 = 2,4 \mu\text{L}$$

### E.3 Pengujian Penghambatan Enzim $\alpha$ -Glukosidase

#### E.3.1 Kontrol Positif Akarbose

Konsentrasi uji ( $\mu\text{g/mL}$ )	Maltosa ( $\mu\text{L}$ )	Akarbose ( $\mu\text{L}$ )	DMSO ( $\mu\text{L}$ )	Buffer Fosfat pH 7 ( $\mu\text{L}$ )	Enzim $\alpha$ - Glukosidase ( $\mu\text{L}$ )
0	50	-	50	130	10
1	50	2,4	47,6	130	10
2	50	4,8	45,2	130	10
3	50	7,2	42,8	130	10
4	50	9,6	40,4	130	10
5	50	12	38	130	10

#### E.3.2 Ekstrak Uji

##### Ekstrak n-heksana jati belanda

Konsentrasi uji ( $\mu\text{g/mL}$ )	Maltosa ( $\mu\text{L}$ )	Ekstrak ( $\mu\text{L}$ )	DMSO ( $\mu\text{L}$ )	Buffer Fosfat pH 7 ( $\mu\text{L}$ )	Enzim $\alpha$ - Glukosidase ( $\mu\text{L}$ )
0	50	-	50	130	10
1	50	2,4	47,6	130	10
5	50	12	38	130	10
10	50	24	26	130	10
15	50	36	14	130	10
20	50	48	2	130	10

##### Ekstrak etil asetat jati belanda

Konsentrasi uji ( $\mu\text{g/mL}$ )	Maltosa ( $\mu\text{L}$ )	Ekstrak ( $\mu\text{L}$ )	DMSO ( $\mu\text{L}$ )	Buffer Fosfat pH 7 ( $\mu\text{L}$ )	Enzim $\alpha$ - Glukosidase ( $\mu\text{L}$ )
0	50	-	50	130	10
1	50	2,4	47,6	130	10
3	50	9,6	40,4	130	10
6	50	19,2	30,8	130	10
9	50	28,8	21,2	130	10
12	50	38,4	11,6	130	10

##### Ekstrak metanol jati belanda

Konsentrasi uji ( $\mu\text{g/mL}$ )	Maltosa ( $\mu\text{L}$ )	Ekstrak ( $\mu\text{L}$ )	DMSO ( $\mu\text{L}$ )	Buffer Fosfat pH 7 ( $\mu\text{L}$ )	Enzim $\alpha$ - Glukosidase ( $\mu\text{L}$ )
0	50	-	50	130	10
1	50	2,4	47,6	130	10
3	50	7,2	42,8	130	10
4,5	50	10,8	39,2	130	10
6	50	14,4	35,6	130	10
8	50	19,2	30,8	130	10



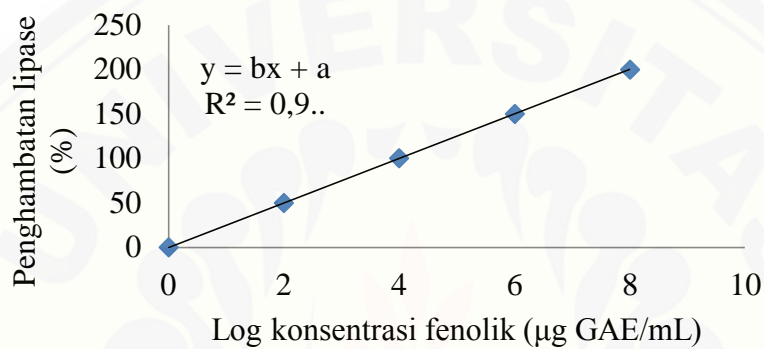
#### E.4 Perhitungan Nilai IC<sub>50</sub> Penghambatan Enzim $\alpha$ -Glukosidase

$$\text{Penghambatan Enzim } \alpha\text{-Glukosidase (\%)} = \left[ \frac{(A_0 - A_1)}{A_0} \right] \times 100\%$$

$A_0$  = absorbansi pengujian tanpa sampel  $\Rightarrow$  [Fenolik] = 0

$A_1$  = absorbansi pengujian dengan sampel uji  $\Rightarrow$  [Fenolik] = 1-20  $\mu\text{gGAE/mL}$

Kurva penghambatan enzim  $\alpha$ -glukosidase:



Perhitungan Nilai IC<sub>50</sub>  $\Rightarrow x = \frac{y - a}{b}$  dimana  $y = 50$

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

Ekstrak	[Fenolik] ( $\mu\text{g GAE/mL}$ )	Log [Fenolik]	Absorbansi uji			Penghambatan $\alpha$ -glukosidase (%)			y=bx+a	IC <sub>50</sub> ( $\mu\text{g GAE/mL}$ )	IC <sub>50</sub> ( $\mu\text{g ekstrak/mL}$ )
			Rep 1	Rep 2	Rep 3	Rep1	Rep 2	Rep 3			
Blanko	0	-	0,214	0,208	0,209	-	-	-	-	-	
Akarbosa	1	0	0,153	0,154	0,152	27,143	26,667	27,619	$y_1=58,518x+27,095$	2,473 $\pm$ 0,150	
	2	0,301	0,114	0,117	0,116	45,714	44,286	44,762	$R^2 = 0,985$		
	3	0,477	0,096	0,097	0,092	54,286	53,810	56,190	$y_2=58,574x+26,406$		
	4	0,602	0,085	0,084	0,082	59,524	60,000	60,952	$R^2 = 0,9942$		
	5	0,699	0,062	0,065	0,066	70,476	69,048	68,571	$y_3=57,713x +27,62$ $R^2 = 0,996$		
EHJ	0	-	0,150	0,149	0,156	-	-	-	-	16,772 $\pm$ 0,800 563,724 $\pm$ 4,080	
	1	0	0,146	0,146	0,146	3,947	3,947	3,947	$y_1=42,871x+2,3511$		
	5	0,699	0,107	0,107	0,107	29,605	29,605	30,263	$R^2 = 0,989$		
	10	1,000	0,085	0,085	0,085	44,079	44,079	44,079	$y_2=42,663+2,3935$		
	15	1,176	0,073	0,074	0,073	51,974	51,316	51,316	$R^2 = 0,988$		
	20	1,301	0,059	0,059	0,058	61,184	61,184	61,842	$y_3=42,864x+2,4884$ $R^2 = 0,988$		
EEJ	0	-	0,178	0,182	0,171	-	-	-	-	8,585 $\pm$ 0,146 187,500 $\pm$ 4,960	
	1	0	0,160	0,159	0,159	10,112	10,674	10,674	$y_1=45,574x+7,3793$		
	4	0,602	0,124	0,123	0,124	30,337	30,899	30,337	$R^2 = 0,973$		
	8	0,903	0,094	0,094	0,096	47,191	47,191	46,067	$y_2=45,485x+7,896$		
	12	1,079	0,080	0,079	0,080	55,056	55,618	55,056	$R^2 = 0,972$		
	16	1,204	0,059	0,058	0,059	66,854	67,416	66,854	$y_3=44,935x+7,751$ $R^2 = 0,968$		
EMJ	0	-	0,196	0,195	0,191	-	-	-	-	4,135 $\pm$ 0,025 70,985 $\pm$ 0,046	
	1	0	0,163	0,163	0,164	15,979	15,972	15,464	$y_1=57,326x+14,569$		
	3	0,477	0,118	0,118	0,118	39,175	39,175	39,691	$R^2 = 0,989$		
	4,5	0,653	0,096	0,097	0,096	50,515	50,000	50,515	$y_2=57,595x+14,416$		
	6	0,778	0,075	0,075	0,075	61,340	61,340	61,340	$R^2 = 0,988$		
	8	0,903	0,064	0,063	0,062	67,010	67,526	68,041	$y_3=58,533x+14,096$ $R^2 = 0,991$		

Contoh perhitungan:

EMJ:

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

$$\text{Penghambatan} = \frac{0,194 - 0,163}{0,194} \times 100\%$$

$$= 15,979 \%$$

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

$$\text{Penghambatan} = \frac{0,194 - 0,118}{0,194} \times 100\%$$

$$= 39,175 \%$$

$$[\text{Fenolik}] = 4,5 \mu\text{gGAE/mL} \quad \text{Log} [\text{Fenolik}] = 0,653$$

$$\text{Penghambatan} = \frac{0,194 - 0,096}{0,194} \times 100\%$$

$$= 50,515\%$$

$$[\text{Fenolik}] = 6 \mu\text{gGAE/mL} \quad \text{Log} [\text{Fenolik}] = 0,778$$

$$\text{Penghambatan} = \frac{0,194 - 0,075}{0,194} \times 100\%$$

$$= 61,340 \%$$

$$[\text{Fenolik}] = 8 \mu\text{gGAE/mL} \quad \text{Log} [\text{Fenolik}] = 0,903$$

$$\text{Penghambatan} = \frac{0,194 - 0,064}{0,194} \times 100\%$$

$$= 67,010\%$$

Data kemudian diplotkan antara log [Fenolik] dengan penghambatan (%), dan didapatkan persamaan  $y = 57,326x + 14,569$  dengan nilai  $R^2 = 0,989$ .

Selanjutnya ditentukan nilai  $IC_{50}$  dengan  $y = 50$ .

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

$$x = \frac{50 - 14,569}{57,236}$$

$$= 0,618 \Rightarrow \text{antilog } 0,618 = 4,140$$

$$\text{Nilai } IC_{50} = 4,140 \mu\text{gGAE/mL}$$

## 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 100 µg/mL.

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

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

$$1000 \text{ µg/mL} \times V1 = 100 \text{ µg/mL} \times 1000 \text{ µL}$$

$$V1 = 100 \text{ µL}$$

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 10,33; 20,66; 30,99; 41,32; 51,65 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)
100	10,33	1	1033
100	20,66	2	1033
100	30,99	3	1033
100	41,32	4	1033
100	51,65	5	1033

Contoh perhitungan :

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

$$100 \text{ µg GAE/mL} \times V1 = 1 \times 1033 \text{ µL}$$

$$V1 = 1033 / 100$$

$$V1 = 10,33 \text{ µL}$$

## F.2 Preparasi Ekstrak Uji

Dibuat larutan stok ekstrak dengan konsentrasi fenolik terkecil sebesar 100  $\mu\text{g GAE/mL}$ , selanjutnya dilakukan uji peredaman radikal DPPH dengan 5 konsentrasi uji. Konsentrasi 0 berlaku sebagai blanko.

Ekstrak n-heksana jati belanda

M1 (konsentrasi larutan stok) ( $\mu\text{g GAE/mL}$ )	V1 (volume larutan uji) ( $\mu\text{L}$ )	M2 (konsentrasi uji) ( $\mu\text{g/mL}$ )	V2 (volume akhir uji) ( $\mu\text{L}$ )
100	10,3	1	1033
100	51,6	5	1033
100	103,3	10	1033
100	154,9	15	1033
100	206,6	20	1033

Ekstrak etil asetat jati belanda

M1 (konsentrasi larutan stok) ( $\mu\text{g GAE/mL}$ )	V1 (volume larutan uji) ( $\mu\text{L}$ )	M2 (konsentrasi uji) ( $\mu\text{g/mL}$ )	V2 (volume akhir uji) ( $\mu\text{L}$ )
100	10,3	1	1033
100	30,9	3	1033
100	61,9	6	1033
100	92,9	9	1033
100	123,9	12	1033

Ekstrak metanol jati belanda

M1 (konsentrasi larutan stok) ( $\mu\text{g GAE/mL}$ )	V1 (volume larutan uji) ( $\mu\text{L}$ )	M2 (konsentrasi uji) ( $\mu\text{g/mL}$ )	V2 (volume akhir uji) ( $\mu\text{L}$ )
100	10,3	1	1033
100	30,9	3	1033
100	46,4	4,5	1033
100	61,9	6	1033
100	82,6	8	1033

Contoh perhitungan:

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

$$100 \mu\text{g GAE/mL} \times V1 = 1 \times 1033$$

$$V1 = 1033 / 100$$

$$V1 = 10,3 \mu\text{L}$$

### F.3 Pengujian Peredaman Radikal DPPH

#### F.3.1 Kontrol Positif Asam Askorbat

Konsentrasi uji ( $\mu\text{g/mL}$ )	As. Askorbat ( $\mu\text{L}$ )	Metanol 50% ( $\mu\text{L}$ )	Etanol 80% ( $\mu\text{L}$ )	Larutan DPPH ( $\mu\text{L}$ )
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 jati belanda

Konsentrasi uji ( $\mu\text{g/mL}$ )	Ekstrak ( $\mu\text{L}$ )	Metanol 50% ( $\mu\text{L}$ )	Etanol 80% ( $\mu\text{L}$ )	Larutan DPPH ( $\mu\text{L}$ )
0	-	206,6	526,4	300
1	10,3	196,3	526,4	300
5	51,6	155	526,4	300
10	103,3	103,3	526,4	300
15	154,9	51,7	526,4	300
20	206,6	-	526,4	300

Ekstrak etil asetat jati belanda

Konsentrasi uji ( $\mu\text{g/mL}$ )	Ekstrak ( $\mu\text{L}$ )	Metanol 50% ( $\mu\text{L}$ )	Etanol 80% ( $\mu\text{L}$ )	Larutan DPPH ( $\mu\text{L}$ )
0	-	123,9	609,1	300
1	10,3	113,6	609,1	300
3	30,9	93	609,1	300
6	61,9	62	609,1	300
9	92,9	31	609,1	300
12	123,9	-	609,1	300

Ekstrak metanol jati belanda

Konsentrasi uji ( $\mu\text{g/mL}$ )	Ekstrak ( $\mu\text{L}$ )	Metanol 50% ( $\mu\text{L}$ )	Etanol 80% ( $\mu\text{L}$ )	Larutan DPPH ( $\mu\text{L}$ )
0	-	82,6	650,4	300
1	10,3	72,3	650,4	300
3	30,9	51,7	650,4	300
4,5	46,4	36,2	650,4	300
6	61,9	20,7	650,4	300
8	82,6	-	650,4	300

#### F.4 Perhitungan Nilai IC<sub>50</sub> Peredaman Radikal DPPH

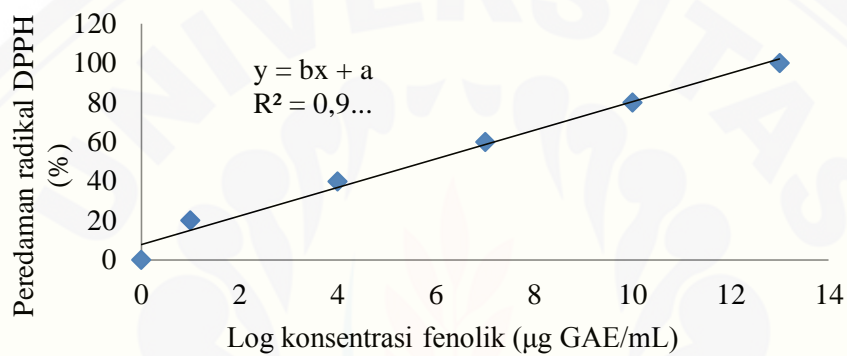
$$\text{Peredaman DPPH (\%)} = \left[ \frac{(A_0 - A_1)}{A_0} \right] \times 100\%$$

A<sub>0</sub> = absorbansi pengujian tanpa sampel      => [Fenolik] = 0

A<sub>1</sub> = absorbansi pengujian dengan sampel uji      => [Fenolik] = 1-20

µgGAE/mL

Kurva peredaman DPPH:



Perhitungan Nilai IC<sub>50</sub> =>  $x = \frac{y - a}{b}$  dimana  $y = 50$

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

Ekstrak	[Fenolik] ( $\mu\text{g}$ GAE/mL)	Log [Fenolik ]	Absorbansi uji			Peredaman DPPH (%)			y=bx+a	IC <sub>50</sub> ( $\mu\text{g}$ GAE/mL)	IC <sub>50</sub> ( $\mu\text{g}$ ekstrak/mL)		
			Rep 1	Rep 2	Rep 3	Rep1	Rep 2	Rep 3					
Blanko	0	0	0,771	0,772	0,774	-	-	-	$y_1 = 72,37x + 26,79$				
Asam	1	0	0,558	0,552	0,552	27,626	28,497	28,682	$R^2 = 0,994$				
Askorbat	2	0,301	0,421	0,414	0,411	45,395	46,373	46,889	$y_2 = 71,93x + 27,96$		2,082 $\pm$ 0,015		
	3	0,477	0,303	0,305	0,302	60,700	60,492	60,982	$R^2 = 0,993$				
	4	0,602	0,223	0,229	0,226	71,077	70,337	70,801	$y_3 = 72,10x + 27,26$				
	5	0,699	0,151	0,164	0,162	80,415	78,756	78,070	$R^2 = 0,994$				
EHJ	0	0	0,784	0,774	0,784	-	-	-	$y_1 = 46,73x + 6,06$				
	1	0	0,726	0,723	0,731	7,042	7,426	6,402	$R^2 = 0,996$				
	5	0,699	0,491	0,489	0,479	37,132	37,388	38,668	$y_2 = 46,50x + 6,45$	8,738 $\pm$ 0,108	293,694 $\pm$ 0,665		
	10	1	0,381	0,378	0,382	51,216	51,601	51,088	$R^2 = 0,996$				
	15	1,176	0,294	0,297	0,293	62,356	61,972	62,484	$y_3 = 46,83x + 6,05$				
	20	1,301	0,252	0,249	0,256	67,734	68,118	67,222	$R^2 = 0,997$				
EEJ	0	0	0,987	0,986	0,993	-	-	-	$y_1 = 55,7x + 6,215$				
1	0	0,919	0,921	0,926	7,078	6,876	6,370	$R^2 = 0,990$					
3	0,477	0,668	0,669	0,662	32,457	32,356	33,064	$y_2 = 56,187x + 5,894$	6,091 $\pm$ 0,018	133,018 $\pm$ 1,670			
6	0,512	0,512	0,516	0,512	48,231	47,826	48,231	$R^2 = 0,990$					
9	0,428	0,428	0,425	0,426	56,724	57,027	56,926	$y_3 = 56,43x + 5,816$					
12	0,299	0,299	0,295	0,296	69,767	70,172	70,071	$R^2 = 0,991$					
EMJ	0	0	0,923	0,948	0,952	-	-	-	$y_1 = 71,468x + 8,484$				
	1	0	0,847	0,842	0,848	9,989	10,521	9,883	$R^2 = 0,992$				
	3	0,477	0,557	0,554	0,551	40,808	41,126	41,445	$y_2 = 72,31x + 8,733$	3,767 $\pm$ 0,025	64,897 $\pm$ 0,080		
	4,5	0,653	0,445	0,44	0,446	52,710	53,241	52,604	$R^2 = 0,990$				
	6	0,778	0,337	0,332	0,335	64,187	64,718	64,400	$y_3 = 72,138x + 8,405$				
	8	0,903	0,229	0,213	0,221	75,664	77,365	76,514	$R^2 = 0,991$				



Contoh perhitungan:

ENJ:

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

$$\begin{aligned} \text{Penghambatan} &= \frac{0,781 - 0,726}{0,781} \times 100\% \\ &= 7,042\% \end{aligned}$$

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

$$\begin{aligned} \text{Penghambatan} &= \frac{0,781 - 0,491}{0,781} \times 100\% \\ &= 37,132\% \end{aligned}$$

$$[\text{Fenolik}] = 10 \mu\text{gGAE/mL} \quad \text{Log} [\text{Fenolik}] = 1$$

$$\begin{aligned} \text{Penghambatan} &= \frac{0,781 - 0,381}{0,781} \times 100\% \\ &= 51,216\% \end{aligned}$$

$$[\text{Fenolik}] = 15 \mu\text{gGAE/mL} \quad \text{Log} [\text{Fenolik}] = 1,176$$

$$\begin{aligned} \text{Penghambatan} &= \frac{0,781 - 0,294}{0,781} \times 100\% \\ &= 62,356\% \end{aligned}$$

$$[\text{Fenolik}] = 20 \mu\text{gGAE/mL} \quad \text{Log} [\text{Fenolik}] = 1,301$$

$$\begin{aligned} \text{Penghambatan} &= \frac{0,781 - 0,252}{0,781} \times 100\% \\ &= 67,734\% \end{aligned}$$

Data kemudian diplotkan antara log [Fenolik] dengan penghambatan (%), dan didapatkan persamaan  $y = 46,731x - 6,065$  dengan nilai  $R^2 = 0,996$ . Selanjutnya ditentukan nilai  $IC_{50}$  dengan  $y = 50$ .

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

$$x = \frac{50 + 6,065}{46,731}$$

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

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



**LAMPIRAN G. Hasil Uji Statistik Kandungan Total Fenolik, Flavonoid, Nilai IC<sub>50</sub> Penghambatan Enzim  $\alpha$ -Glukosidase, dan Nilai IC<sub>50</sub> Peredaman Radikal DPPH**

**G1. Kandungan Total Fenolik Ekstrak**

a. Uji Normalitas

**Tests of Normality**

	pelarut	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Kadar fenolik	n-heksana	,205	3	.	,993	3	,841
	etil asetat	,319	3	.	,885	3	,338
	metanol	,370	3	.	,787	3	,084

Lilliefors Significance Correction

Hasil uji normalitas menunjukkan bahwa data normal

b. Uji Homogenitas dan Anova Satu Arah

**Test of Homogeneity of Variances**

Kadar fenolik

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
,856	2	6	,471

Hasil uji homogenitas menunjukkan bahwa data homogen, sehingga dapat dilanjutkan dengan uji ANOVA

**ANOVA**

Kadar fenolik	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1224,460	2	612,230	1779,588	,000
Within Groups	2,064	6	,344		
Total	1226,525	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**

Dependent Variable: kadar fenolik

LSD

(I) pelarut	(J) pelarut	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
n-heksana	etil asetat	-16,040667*	,478908	,000	-17,21251	-14,86882
	metanol	-28,496000*	,478908	,000	-29,66785	-27,32415
etil asetat	n-heksana	16,040667*	,478908	,000	14,86882	17,21251
	metanol	-12,455333*	,478908	,000	-13,62718	-11,28349
metanol	n-heksana	28,496000*	,478908	,000	27,32415	29,66785
	etil asetat	12,455333*	,478908	,000	11,28349	13,62718

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

**G2. Kandungan Total Flavonoid Ekstrak**

## a. Uji Normalitas

**Tests of Normality**

	pelarut	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Kadar flavonoid	n-heksana	,337	3	.	,855	3	,254
	etil asetat	,211	3	.	,991	3	,817
	metanol	,204	3	.	,993	3	,843

Lilliefors Significance Correction

Hasil uji normalitas menunjukkan bahwa data normal

## b. Uji Homogenitas dan ANOVA Satu Arah

**Test of Homogeneity of Variances**

Kadar flavonoid

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
,375	2	6	,702

Hasil uji homogenitas menunjukkan bahwa data homogen, sehingga dapat dilanjutkan dengan uji ANOVA

**ANOVA**

Kadar flavonoid	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	5555,283	2	2777,641	1934,052	,000
Within Groups	8,617	6	1,436		
Total	5563,900	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**

Dependent Variable: kadar flavonoid

LSD

(I) pelarut	(J) pelarut	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
n-heksana	etil asetat	-59,358333*	,978494	,000	-61,75262	-56,96404
	metanol	-18,056667*	,978494	,000	-20,45096	-15,66238
etil asetat	n-heksana	59,358333*	,978494	,000	56,96404	61,75262
	metanol	41,301667*	,978494	,000	38,90738	43,69596
metanol	n-heksana	18,056667*	,978494	,000	15,66238	20,45096
	etil asetat	-41,301667*	,978494	,000	-43,69596	-38,90738

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

### G3. Nilai IC<sub>50</sub> Penghambatan Enzim $\alpha$ -Glukosidase

#### a. Uji Normalitas

#### Tests of Normality

pelarut		Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
ic <sub>50</sub> enzim	n-heksana	,257	3	.	,961	3	,620
	etil asetat	,362	3	.	,804	3	,124
	metanol	,204	3	.	,993	3	,846

Lilliefors Significance Correction

Hasil uji normalitas menunjukkan bahwa data normal

#### b. Uji Homogenitas dan ANOVA Satu Arah

#### Test of Homogeneity of Variances

IC<sub>50</sub> enzim

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3,672	2	6	,091

Hasil uji homogenitas menunjukkan bahwa data homogen, sehingga dapat dilanjutkan dengan uji ANOVA

#### ANOVA

ic50 enzim	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	682,535	2	341,268	8145,047	,000
Within Groups	,251	6	,042		
Total	682,786	8			

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

## c. Hasil Uji LSD

**Multiple Comparisons**Dependent Variable:  $Ic_{50}$  enzim

LSD

(I) pelarut	(J) pelarut	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
n-heksana	etil asetat	15,651333*	,167130	,000	15,24238	16,06029
	metanol	20,377333*	,167130	,000	19,96838	20,78629
etil asetat	n-heksana	-15,651333*	,167130	,000	16,06029	-15,24238
	metanol	4,726000*	,167130	,000	4,31705	5,13495
metanol	n-heksana	-20,377333*	,167130	,000	20,78629	-19,96838
	etil asetat	-4,726000*	,167130	,000	-5,13495	-4,31705

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

**G4. Nilai  $IC_{50}$  Peredaman Radikal DPPH Ekstrak Jati belanda**

## a. Uji Normalitas

**Tests of Normality**

pelarut		Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
$Ic_{50}$ DPPH	n-heksana	,252	3	.	,965	3	,643
	etil asetat	,238	3	.	,976	3	,702
	metanol	,205	3	.	,993	3	,839

Lilliefors Significance Correction

Hasil uji normalitas menunjukkan bahwa data normal

## b. Uji Homogenitas dan ANOVA Satu Arah

**Test of Homogeneity of Variances**Ic<sub>50</sub> DPPH

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3,412	2	6	,102

Hasil uji homogenitas menunjukkan bahwa data homogen, sehingga dapat dilanjutkan dengan uji ANOVA

**ANOVA**

Ic <sub>50</sub> DPPH	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	37,114	2	18,557	3388,836	,000
Within Groups	,033	6	,005		
Total	37,147	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**Dependent Variable: Ic<sub>50</sub> DPPH

LSD

(I) pelarut	(J) pelarut	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
n-heksana	etil asetat	2,647333*	,060420	,000	2,49949	2,79518
	metanol	4,970667*	,060420	,000	4,82282	5,11851
etil asetat	n-heksana	-2,647333*	,060420	,000	-2,79518	-2,49949
	metanol	2,323333*	,060420	,000	2,17549	2,47118
metanol	n-heksana	-4,970667*	,060420	,000	-5,11851	-4,82282
	etil asetat	-2,323333*	,060420	,000	-2,47118	-2,17549

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



