



**UJI AKTIVITAS ANTIDIABETES EKSTRAK TEH HITAM DAN
TEH HIJAU SECARA *IN VITRO* MENGGUNAKAN METODE INHIBISI
ENZIM α -GLUKOSIDASE**

SKRIPSI

Oleh

Yasmin

NIM 122210101034

BAGIAN FARMASI KLINIK DAN KOMUNITAS

FAKULTAS FARMASI

UNIVERSITAS JEMBER

2016



**UJI AKTIVITAS ANTIDIABETES EKSTRAK TEH HITAM DAN
TEH HIJAU SECARA *IN VITRO* MENGGUNAKAN METODE INHIBISI
ENZIM α -GLUKOSIDASE**

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat untuk
menyelesaikan studi di Fakultas Farmasi (S1)
dan mencapai gelar Sarjana Farmasi

Oleh

Yasmin

NIM 122210101034

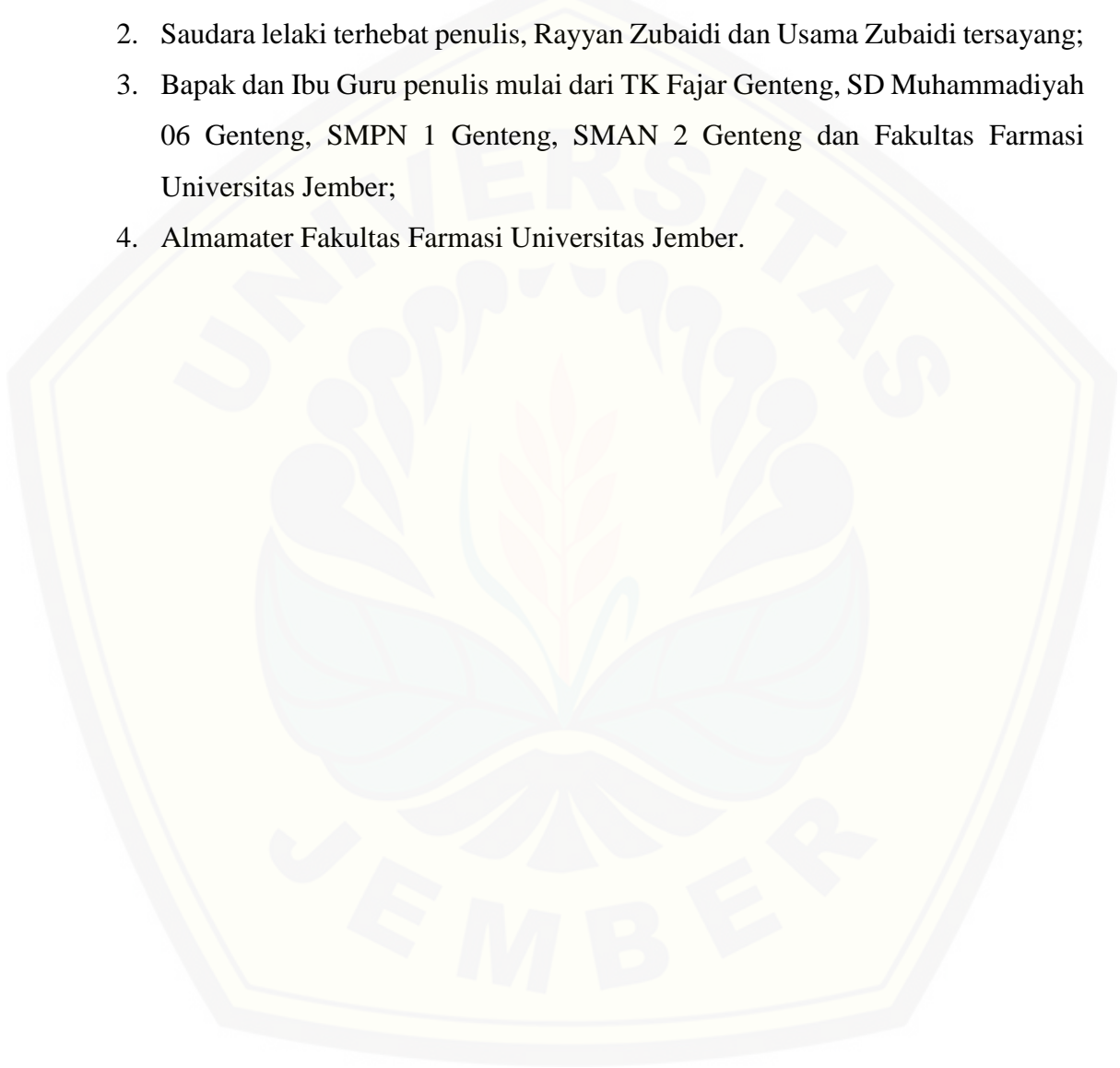
**BAGIAN FARMASI KLINIK DAN KOMUNITAS
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS JEMBER**

2016

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Abi Hasan Zubaidi dan Ummi Barirah Rajab tercinta;
2. Saudara lelaki terhebat penulis, Rayyan Zubaidi dan Usama Zubaidi tersayang;
3. Bapak dan Ibu Guru penulis mulai dari TK Fajar Genteng, SD Muhammadiyah 06 Genteng, SMPN 1 Genteng, SMAN 2 Genteng dan Fakultas Farmasi Universitas Jember;
4. Almamater Fakultas Farmasi Universitas Jember.

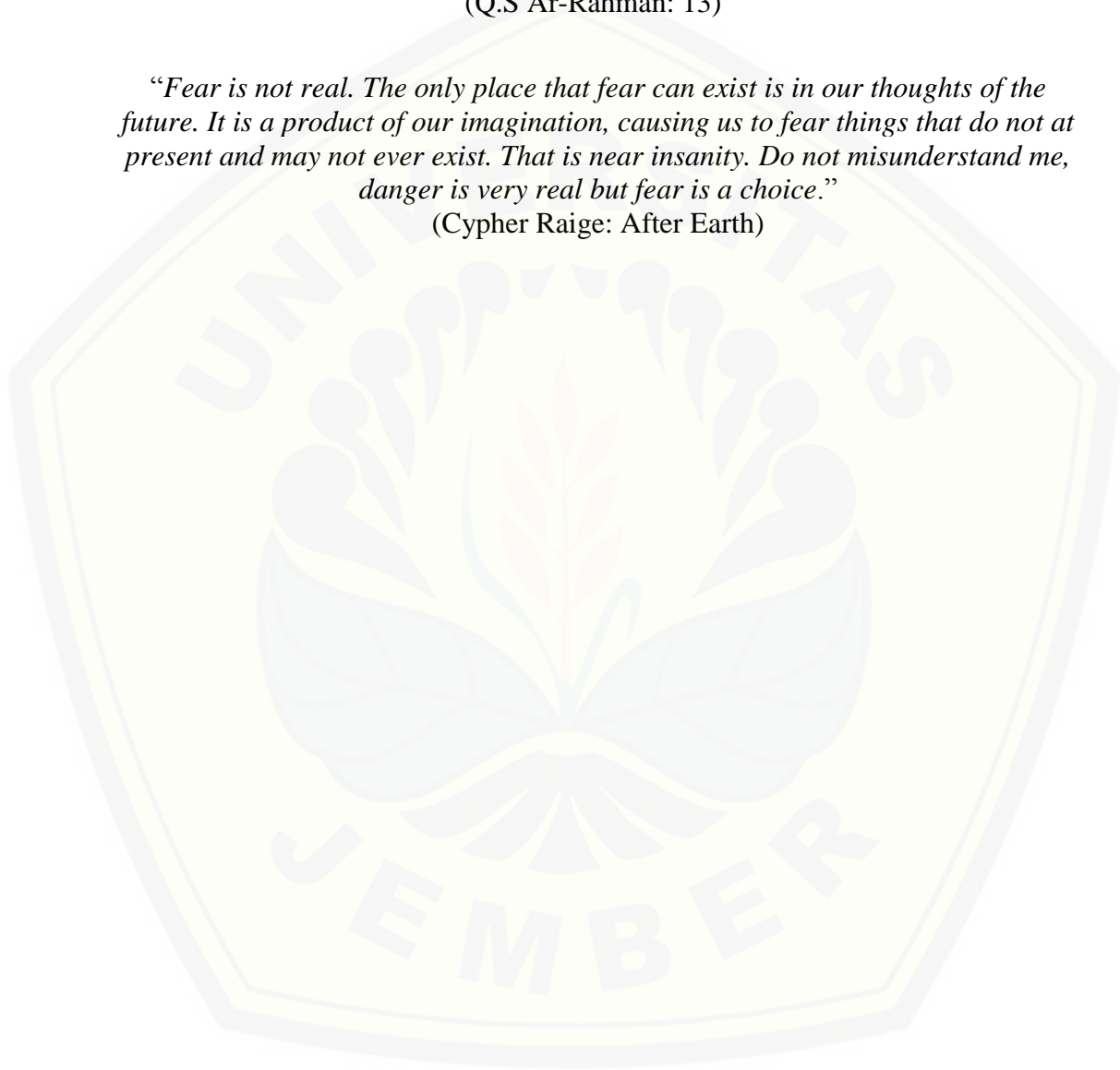


MOTO

“Fa-biayyi alaa'i Rabbi kuma tukadzdi ban”
(Q.S Ar-Rahman: 13)*

“Fear is not real. The only place that fear can exist is in our thoughts of the future. It is a product of our imagination, causing us to fear things that do not at present and may not ever exist. That is near insanity. Do not misunderstand me, danger is very real but fear is a choice.”

(Cypher Raige: After Earth)



*) Departemen Agama Republik Indonesia. 1998. Al-Qur'an dan Terjemahannya. Semarang: PT. Kumudasmoro Grafindo

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

nama : Yasmin

NIM : 122210101034

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “**Uji Aktivitas Antidiabetes Ekstrak Teh Hitam Dan Teh Hijau Secara *In Vitro* Menggunakan Metode Inhibisi Enzim α -Glukosidase**” 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 atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

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

Jember, 29 Juli 2016

Yang menyatakan,

Yasmin

NIM. 122210101034

SKRIPSI

**UJI AKTIVITAS ANTIDIABETES EKSTRAK TEH HITAM DAN
TEH HIJAU SECARA *IN VITRO* MENGGUNAKAN METODE INHIBISI
ENZIM α -GLUKOSIDASE**

**Oleh
Yasmin
NIM 122210101034**

Pembimbing:

Dosen Pembimbing Utama : Diana Holidah, S.F., M. Farm., Apt.
Dosen Pembimbing Anggota : Fransiska Maria C., S.Farm., M.Farm., Apt.

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Uji Aktivitas Antidiabetes Ekstrak Teh Hitam Dan Teh Hijau Secara *In Vitro* Menggunakan Metode Inhibisi Enzim α -Glukosidase” telah diuji dan disahkan pada:

hari, tanggal : Kamis, 18 Agustus 2016

tempat : Fakultas Farmasi Universitas Jember

Tim Pembimbing :

Dosen Pembimbing Utama,



Diana Holidah, S.F., M.Farm., Apt.
NIP 197812212005012002

Dosen Pembimbing Anggota,



Fransiska Maria C., S.Farm., M.Farm., Apt.
NIP 198404062009122008

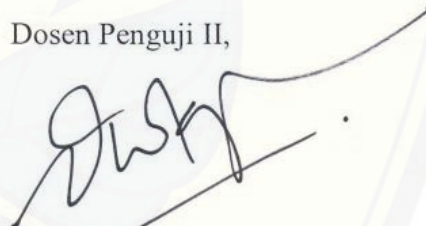
Tim Penguji :

Dosen Penguji I,



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

Dosen Penguji II,



Dwi Koko Pratoko, S.Farm., M.Sc., Apt.
NIP 198504282009121004

Mengesahkan

Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember,



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

NIP 197604142002122001

RINGKASAN

Uji Aktivitas Antidiabetes Ekstrak Teh Hitam Dan Teh Hijau Secara *In Vitro* Menggunakan Metode Inhibisi Enzim α -Glukosidase; Yasmin; 122210101034; 2016; 54 halaman; Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Diabetes melitus (DM) merupakan suatu penyakit yang ditandai adanya gangguan fungsional tubuh yang menyebabkan peningkatan kadar gula dalam darah melampaui batas normal. Data *International Diabetes Federation* menyebutkan bahwa pada tahun 2015 sebanyak 415 juta penduduk dunia yang menderita diabetes, hampir 10 juta penderitanya adalah penduduk dari Indonesia. Jumlah prevalensi diabetes ini diperkirakan akan terus meningkat tiap tahunnya sehingga membutuhkan penanganan yang cepat dan efektif. Salah satu strategi penting untuk mengobati DM adalah melalui penghambatan enzim α -glukosidase. Akarbose merupakan suatu oligosakarida yang secara reversibel dapat menghambat enzim α -glukosidase sehingga pembentukan glukosa menjadi terhambat. Penggunaan akarbose dalam jangka panjang dapat memberikan efek samping yang tidak diinginkan sehingga dilakukan pencarian alternatif terapi DM menggunakan herbal, khususnya melalui mekanisme penghambatan enzim α -glukosidase. Pemanfaatan ekstrak teh sebagai terapi pengobatan telah banyak berkembang dan semakin luas, salah satunya adalah sebagai terapi pengobatan diabetes melitus. Tujuan penelitian untuk menentukan aktivitas penghambatan enzim α -glukosidase ekstrak teh hitam dan teh hijau dan menentukan perbedaan aktivitas penghambatan enzim α -glukosidase antara ekstrak teh hitam dan teh hijau

Jenis penelitian ini adalah *experimental laboratories* yang dilakukukan di Laboratorium Biomedik dan Laboratorium Fitokimia Fakultas Farmasi Universitas Jember. Penelitian dilaksanakan melalui beberapa tahap, yaitu ekstraksi simplisia kering teh hitam dan teh hijau (dari PTPN XII Jember) dengan metode infusa, uji pendahuluan reaksi enzimatik dan uji aktivitas inhibisi α -glukosidase (dari *Saccharomyces cerevisiae*) menggunakan ELISA reader. Uji aktivitas ini

dilakukan sebanyak 3 kali replikasi. Parameter penghambatan enzim α -glukosidase ditetapkan dengan menggunakan nilai IC_{50} , yaitu konsentrasi yang dapat menghambat 50% aktivitas α -glukosidase dalam kondisi pengujian.

Hasil uji aktivitas inhibisi α -glukosidase oleh ekstrak teh hitam dan teh hijau memiliki nilai IC_{50} masing-masing adalah $54,86 \pm 1,19 \mu\text{g/mL}$ dan $44,79 \pm 1,64 \mu\text{g/mL}$. Sedangkan nilai IC_{50} akarbose sebagai kontrol positif adalah $7.111,11 \pm 82,28 \mu\text{g/mL}$. Semakin kecil nilai IC_{50} , maka aktivitas inhibisi α -glukosidase semakin besar. Berdasarkan uji statistik dengan menggunakan T-test menunjukkan adanya perbedaan signifikan dalam penghambatan enzim α -glukosidase antara teh hitam dengan teh hijau ($p = 0,002$). Jadi, dapat disimpulkan bahwa ekstrak teh hijau memiliki kemampuan penghambatan enzim α -glukosidase (dari *Saccharomyces cerevisiae*) yang lebih baik dibandingkan dengan teh hitam dan akarbose.

PRAKATA

Alhamdulillahirabbilalamin atas segala nikmat iman, Islam, serta kekuatan yang telah diberikan Allah SWT sehingga dengan izin-Nya pula penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul “Uji Aktivitas Antidiabetes Ekstrak Teh Hitam Dan Teh Hijau Secara *In Vitro* Menggunakan Metode Inhibisi Enzim α -Glukosidase”. Skripsi ini disusun guna memenuhi persyaratan untuk mendapatkan gelar Sarjana Farmasi di Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Penulis menyadari bahwa terselesaikannya skripsi ini berkat campur tangan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis ingin menyampaikan ucapan terimakasih yang tiada terhingga kepada:

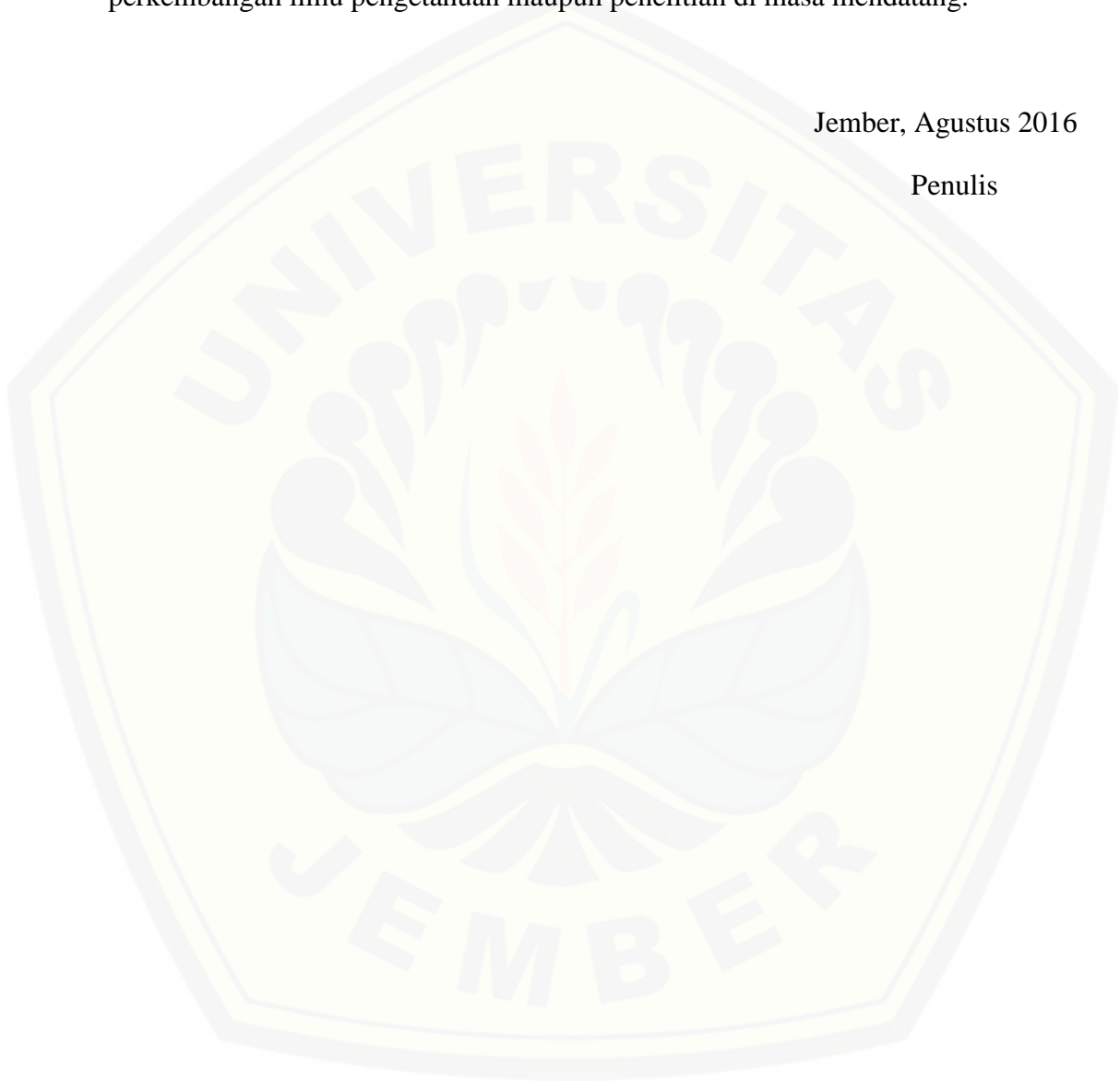
1. Allah SWT, atas izin-Nya penulis dapat menyelesaikan tugas akhir untuk mencapai gelar Sarjana Farmasi;
2. Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember, Ibu Lestyo Wulandari, S.Si., M.Farm., Apt., atas kesempatan yang diberikan kepada penulis untuk menyelesaikan skripsi ini;
3. Ibu Diana Holiday, S.F., M.Farm., Apt. selaku Dosen Pembimbing Utama dan Ibu Fransiska Maria Christianty, S.Farm., M.Farm., Apt. selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah meluangkan waktu, pikiran, tenaga dan perhatiannya dalam membimbing penulis hingga terselesaikannya skripsi ini;
4. Ibu Indah Yulia Ningsih, S.Farm., M.Farm., Apt. dan Bapak Dwi Koko Pratoko, S.Farm., M.Sc., Apt. selaku Dosen Penguji yang telah berkenan untuk menguji skripsi ini dan memberikan masukan serta saran untuk perkembangan diri penulis dan skripsi ini;
5. Ibu Diana Holiday, S.F., M.Farm., Apt. selaku Dosen Pembimbing Akademik atas perhatian, saran dan semangat yang diberikan kepada penulis;
6. Seluruh Dosen Fakultas Farmasi Universitas Jember yang telah mengajarkan ilmu pengetahuan yang berguna dalam menyelesaikan skripsi.

7. Abi Hasan Zubaidi dan Ummi Barirah Rajab tercinta yang telah mencurahkan segala perhatian dan kasih sayangnya kepada penulis sehingga percikan-percikan semangat semakin membara;
8. Dua lelaki terhebat sedarah dagingku, Rayyan Zubaidi dan Usama Zubaidi tersayang, yang telah memberikan “sentilan-sentilan” kecil pemercik api semangat kepada penulis;
9. Jidda Aminah Zubaidi tercinta yang selalu mendoakan penulis dan selalu setia menanti kedatangan penulis di kampung halaman tercinta, Genteng Wetan.
10. Mbak Indri dan Mbak Dini, selaku teknisi laboratorium Biomedik Fakultas Farmasi Universitas Jember yang telah bersedia dengan sabar memberikan banyak bantuan selama menempuh penelitian ini;
11. Rekan kerja dalam penelitian ini “Girls of Camellia”, Mbak Wilda, Adhe dan Nanda untuk semangat, kerja keras, dan kebersamaannya dalam senang maupun susah;
12. Rekan kerja sesama laboratorium, Afifah, Nidia, Gati, Mbak Siti, Aulia, Windha, Kinanti, Hawwin, Ayuk, Dita, Ika, Yodi, Hafidi dan Ozi untuk semangat dan kebersamaannya dalam senang maupun susah;
13. Sahabat “Friendship No Drama”, Ucusuwah (Uswah), Pipeh (Afifah), MakNor (Nora), Nobl (Novialda), dan Nandoo (Nanda) untuk semua dukungan, semangat, motivasi, pertemanan tanpa drama, canda tawa, dan kebersamaan selama empat tahun disaat bahagia ataupun susah.
14. Keluarga kecilku, UKM LINGKAR dan ASY-SYIFA atas semua pengertian, dukungan, semangat, doa, dan persaudaraan yang indah ini;
15. Keluarga besarku, Farmasi UJ angkatan 2012 (Petruk Rolas) atas kekeluargaan, persaudaraan, dan pengalaman yang indah ini;
16. Ahmed Saoud, atas lantunan indah murrotal Al-Qur’annya yang selalu mengisi ruang-ruang kosong hati penulis dikala gundah, gelisah dan sedih.
17. Serta untuk setiap nama yang tidak dapat tertulis satu persatu, dan untuk seluruh doa yang terucap tanpa sepengetahuan penulis. Terima kasih sedalam-dalamnya kepada semua pihak yang turut berbahagia atas keberhasilan penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.

Tentunya sebagai manusia biasa, penyusunan dan penulisan skripsi ini masih memiliki banyak kekurangan. Oleh karena itu, penulis mengharap kritik dan saran yang membangun dari semua pihak demi kesempurnaan karya tulis ilmiah ini. Semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat yang sebesar-besarnya baik bagi perkembangan ilmu pengetahuan maupun penelitian di masa mendatang.

Jember, Agustus 2016

Penulis



DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSEMBAHAN	ii
HALAMAN MOTO	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
HALAMAN PENGESAHAN	vi
RINGKASAN	vii
PRAKATA	ix
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	5
1.4 Manfaat Penelitian	5
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Teh	6
2.1.1 Klasifikasi	6
2.1.2 Morfologi	7
2.1.3 Jenis – Jenis Teh	8
2.1.4 Kandungan Kimia dan Manfaat	9
2.2 Diabetes Melitus	10
2.2.1 Definisi dan Klasifikasi.....	10
2.2.2 Gejala dan Diagnosis Diabetes Mellitus	12
2.2.3 Penatalaksanaan Terapi Diabetes Mellitus	12
2.3 Enzim α-Glukosidase	15

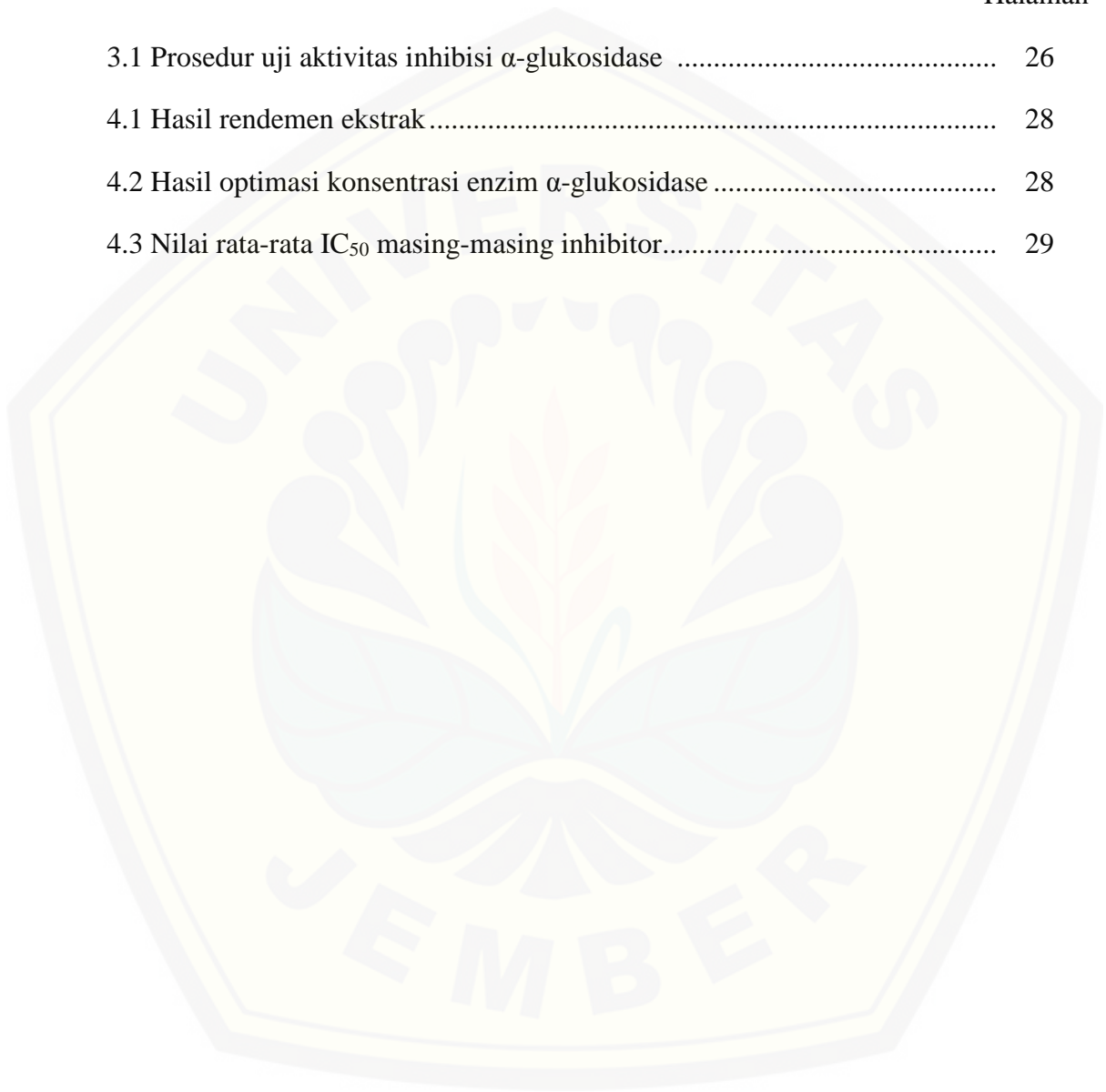
2.4 Penghambat α -Glukosidase	18
2.5 Uji Penghambatan α -Glukosidase	20
BAB 3. METODE PENELITIAN	22
3.1 Jenis Penelitian	22
3.2 Lokasi dan Waktu Penelitian	22
3.3 Variabel Penelitian	22
3.4 Definisi Operasional	22
3.5 Bahan dan Alat Penelitian	23
3.6 Prosedur Penelitian	23
3.6.1 Pembuatan Ekstrak	23
3.6.2 Uji Pendahuluan Reaksi Enzimatis	23
3.6.3 Uji Aktivitas Inhibisi α -Glukosidase	25
3.7 Analisis Data	27
3.8 Skema Rancangan Penelitian	28
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	29
4.1 Hasil	29
4.1.1 Ekstraksi Teh Hitam dan Teh Hijau	29
4.1.2 Uji Pendahuluan Reaksi Enzimatis.....	29
4.1.3 Uji Aktiviitas Inhibisi α -Glukosidase	30
4.2 Pembahasan	31
BAB 5. PENUTUP.....	34
5.1 Kesimpulan	34
5.2 Saran.....	34
DAFTAR PUSTAKA	35
LAMPIRAN.....	41

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 <i>Camellia sinensis</i> (L.) Kuntze	7
2.2 Struktur kimia katekin.....	10
2.3 Struktur kimia <i>theaflavin</i>	11
2.2 Proses pemecahan maltosa	16
2.3 Proses peningkatan kadar glukosa darah	17
2.4 Absorpsi glukosa dalam usus halus pada keadaan normal dan diabetes....	18
2.5 Struktur kimia akardose	19
2.6 Penghambatan enzim α -glukosidase	20
2.7 Reaksi enzimatis α -glukosidase dan PNPG	21
3.1 Skema rancangan penelitian.....	28
4.1 Struktur kimia <i>epigallocatechin gallate</i>	33
4.2 Struktur kimia <i>theaflavin digallate</i>	33
4.3 Ikatan hidrogen EGCG dengan sisi aktif enzim α -glukosidase	34

DAFTAR TABEL

	Halaman
3.1 Prosedur uji aktivitas inhibisi α -glukosidase	26
4.1 Hasil rendemen ekstrak.....	28
4.2 Hasil optimasi konsentrasi enzim α -glukosidase	28
4.3 Nilai rata-rata IC ₅₀ masing-masing inhibitor.....	29



DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A. Perhitungan Penyiapan Bahan-Bahan	40
A.1. Larutan Dapar	40
A.2. Larutan Substrat <i>p</i> -Nitrofenil- α -D-Glukopiranosida (PNPG)	40
A.3. Larutan Sampel	41
A.4. Pengenceran Larutan Enzim 0,5 U/mL	41
A.5. Larutan Akarbose	42
A.6. Massa Natrium Karbonat (Na_2CO_3) 0,2 M	42
A.7. Bobot Rendemen Ekstrak	42
B. Optimasi Konsentrasi Enzim	43
C. Hasil Uji Aktivitas	44
C.1 Hasil Uji Aktivitas Inhibisi Enzim α -glukosidase	44
C.2 Kurva Konsentrasi Sampel vs % inhibisi	47
D. Data Analisis Statistik T-Test	50
D.1 Kelompok Teh Hitam dan Teh Hijau	50

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Diabetes melitus (DM) merupakan suatu penyakit yang ditandai adanya gangguan atau kelainan fungsional tubuh yang menyebabkan peningkatan kadar gula dalam darah melampaui batas normal. Kelainan ini disebut dengan hiperglikemi. Terdapat 2 tipe DM, yakni DM tipe 1 dan DM tipe 2, namun, tipe yang paling sering dijumpai adalah DM tipe 2. Pada tipe ini, tubuh tidak dapat menggunakan insulin sebagaimana mestinya atau yang kita kenal dengan resistensi insulin. Resistensi insulin ini menyebabkan glukosa tidak dapat menuju sel sehingga terjadi peningkatan glukosa dalam darah (ADA, 2015).

Indonesia merupakan salah satu dari 23 negara yang termasuk dalam *International Diabetes Federation Western Pacific* (IDF WP). IDF merupakan sebuah organisasi yang terdiri dari 230 lebih asosiasi nasional diabetes di 170 negara dan wilayah. Organisasi ini memberikan informasi terkait peningkatan jumlah penderita diabetes dan faktor resiko diabetes. Dari 415 juta penduduk dunia yang menderita diabetes, hampir 153 juta penderitanya adalah penduduk dari Pasifik Barat (wilayah yang terletak di bagian barat Samudera Pasifik, Australia, Cambodia, China, Fiji, Hongkong, Korea, Korea Utara, Indonesia, Jepang, Macau, Malaysia, Mongolia, New Zealand, Papua New Guinea, Singapura, Taiwan, Thailand, Filipina, Tonga, Vanuatu, Vietnam). Pada tahun 2040, jumlah penderita diabetes di wilayah Pasifik Barat diprediksikan dapat mencapai 2 miliar penderita. Sementara itu, kasus penderita diabetes di Indonesia pada tahun 2015 telah mencapai 10 juta penduduk (IDF, 2015).

Prevalensi DM yang terus menunjukkan peningkatan tersebut membutuhkan penanganan yang cepat dan efektif. Secara umum, terapi DM yang diberikan bertujuan untuk menghilangkan gejala-gejala pemicu hiperglikemi dan menurunkan resiko terjadinya komplikasi mikrovaskular dan makrovaskular (Kasper *et al.*, 2015). Terapi DM dapat dibedakan menjadi 2 golongan, terapi secara

non farmakologi dan farmakologi. Secara non farmakologi dapat dilakukan pengaturan diet dan latihan jasmani (Dipiro *et al.*, 2008). Penelitian terkait yang dilakukan oleh Esposito *et al.* (2010) menunjukkan bahwa pengaturan pola makan sesuai *Mediterranean-style*, yakni pola makan yang terdiri dari menu rendah kalori, seperti buah, sayur, ikan dan kacang-kacangan yang merupakan pola tradisional dari masyarakat di sekitar laut Mediterania. Pola makan ini dapat menurunkan dan mengontrol kadar glukosa darah pada pasien diabetes dan dapat meningkatkan sensitivitas insulin.

Salah satu terapi farmakologi yang dapat diberikan pada penderita DM adalah dengan terapi insulin (BPOM, 2009). Insulin merupakan obat utama pada DM tipe 1 dan beberapa DM tipe 2 dengan kondisi tertentu, seperti penderita DM tipe 2 bila dengan pengaturan diet, olahraga dan pemberian obat hipoglikemik oral (OHO) yang tidak dapat mengontrol kenaikan gula darah (ASHP, 2008). Obat hipoglikemik oral dapat diberikan sebagai terapi diabetes tipe 2 sebelum diharuskan pemberian insulin. Terapi pemberian obat hipoglikemik oral ini dapat menyebabkan efek samping yang tidak diinginkan, antara lain perut kembung, mual muntah dan diare (Yale, 2008; Neal, 2012).

Salah satu strategi penting untuk mengobati DM tipe 2 adalah dengan mengontrol kadar glukosa *postprandial* (*postprandial hyperglycaemia*). Pentingnya *postprandial hyperglycaemia* tersebut memicu adanya suatu pendekatan terapeutik dengan pengembangan agen-agen baru dalam mengontrol *postprandial hyperglycaemia*. Penghambatan enzim α -glukosidase merupakan salah satu strategi untuk dapat mengontrol *postprandial hyperglycaemia* dengan menunda absorpsi glukosa dalam usus (Baron, 1998).

Enzim α -glukosidase dan α -amilase merupakan enzim yang berperan penting dalam metabolisme karbohidrat. Enzim α -amilase akan mendegradasi karbohidrat kompleks menjadi oligosakarida dan disakarida, yang akhirnya diubah menjadi monosakarida oleh enzim α -glukosidase. Monosakarida (glukosa) yang terbebas akan diabsorpsi dalam usus dan menimbulkan terjadinya *postprandial hyperglycaemia*. Penghambatan enzim α -glukosidase dapat membatasi kadar

glukosa darah dengan memperlambat atau menunda proses hidrolisis dan absorpsi karbohidrat. Penghambatan enzim ini sangat berguna untuk manajemen terapi diabetes tipe 2 (Lebovitz, 1997).

Akarbose merupakan suatu oligosakarida yang secara reversibel dapat menghambat enzim α -glukosidase sehingga pemecahan karbohidrat kompleks dan disakarida menjadi monosakarida terhambat. Penggunaan akarbose dalam jangka panjang dapat memberikan efek samping pada saluran pencernaan seperti perut kembung (*flatulence*), diare, distensi abdomen dan keroncongan (*borborygmus*) (Balfour & McTavish, 1993; Walker & Whittlesea, 2012). Adanya efek samping yang tidak diinginkan inilah yang mendasari munculnya berbagai penelitian dalam upaya mencari alternatif terapi DM tipe 2, khususnya dengan melalui mekanisme penghambatan enzim α -glukosidase.

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa tumbuhan dengan kandungan polifenol dapat berpotensi menghambat enzim α -glukosidase. Polifenol merupakan metabolit sekunder yang umumnya berfungsi sebagai proteksi diri tumbuhan terhadap sinar ultraviolet dan adanya serangan patogen (Pandey & Rizvi, 2009). Terkait dengan potensi senyawa polifenol tersebut, maka penelitian penghambatan enzim α -glukosidase dari berbagai tanaman mulai dilakukan dan dikembangkan oleh beberapa peneliti. Ekstrak daun *Quercus gilva* Bulme (Indrianingsih *et al.*, 2015) dengan kandungan senyawa aktif katekin dan epikatekin, ekstrak *blueberries* (Flores *et al.*, 2013) dengan kandungan senyawa aktif anthosianin, dan ekstrak *Polygonum hyrcanicum* (Moradi-Afrapoli *et al.*, 2012) dengan kandungan senyawa aktif mirisitin telah dilaporkan memiliki aktivitas penghambatan enzim α -glukosidase. Salah satu tanaman yang juga diketahui memiliki kandungan polifenol tinggi adalah tanaman teh. Menurut da Silva Pinto (2013), polifenol merupakan kandungan terbesar yang terdapat dalam tanaman teh, seperti flavanol, proantosianidin, flavonol, *theaflavins*, *thearubigins* dan asam galat. Senyawa polifenol yang terkandung dalam tanaman teh juga diperkirakan memiliki aktivitas penghambatan enzim α -glukosidase.

Tanaman teh (*Camellia sinensis*) merupakan tumbuhan tahunan yang banyak tersebar di Asia Tenggara, India, Cina Selatan, Laos Barat Laut, Muangthai, dan Burma (Effendi *et al.*, 2010). Seduhan dari tumbuhan ini telah dikonsumsi secara luas oleh berbagai penduduk dan menjadi salah satu minuman yang paling populer di dunia (Chen *et al.*, 2012). Salah satu studi meta analisis yang dilakukan oleh Huxley *et al.* (2009) menunjukkan bahwa dengan mengkonsumsi 3-4 cangkir teh per hari dapat menurunkan resiko terjadinya diabetes tipe 2.

Berdasarkan proses pengolahannya, teh dibagi menjadi beberapa varian, yakni teh hitam, teh hijau, teh oolong, dan teh putih. Teh hitam merupakan teh yang paling banyak diproduksi yaitu sekitar 78%, diikuti teh hijau 20% kemudian sisanya adalah teh oolong dan teh putih sekitar 2% (Rohdiana, 2015). Ditinjau dari harga pasaran, teh hitam dan teh hijau jauh lebih murah dan dapat dijangkau oleh masyarakat luas dibandingkan dengan teh oolong maupun teh putih. Penelitian lain terkait pemanfaatan ekstrak teh telah banyak berkembang dan semakin luas. Tang *et al.* (2013) menyatakan bahwa pemberian ekstrak teh hitam dan teh hijau dapat menurunkan kadar glukosa pada mencit yang diinduksi streptozotosin (STZ).

Yang & Kong (2016) telah melakukan penelitian secara *in vitro* terkait mekanisme aktivitas antidiabetes pada teh hitam, teh oolong dan teh hijau yang diperoleh dari perkebunan Fakultas Pertanian Universitas Huazhong, Wuhan, China. Berdasarkan latar belakang tersebut, dilakukanlah pengembangan penelitian secara *in vitro* untuk mengetahui aktivitas ekstrak teh hitam dan teh hijau yang diperoleh dari PTPN XII Jember dalam menghambat enzim α -glukosidase.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dari penelitian ini adalah :

1. Apakah ekstrak teh hitam dan teh hijau memiliki aktivitas penghambatan enzim α -glukosidase?
2. Apakah terdapat perbedaan aktivitas penghambatan enzim α -glukosidase antara ekstrak teh hitam dan teh hijau?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Menentukan aktivitas penghambatan enzim α -glukosidase ekstrak teh hitam dan teh hijau.
2. Menentukan perbedaan aktivitas penghambatan enzim α -glukosidase antara ekstrak teh hitam dan teh hijau.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah untuk membuktikan bahwa ekstrak teh hitam dan teh hijau memiliki aktivitas penghambatan terhadap enzim α -glukosidase, sehingga diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah kepada masyarakat bahwa ekstrak teh hitam dan teh hijau dapat dikembangkan lebih lanjut menjadi suatu obat herbal sebagai alternatif pengobatan diabetes.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Teh

2.1.1 Klasifikasi

Tanaman teh merupakan tanaman tahunan yang diberi nama seperti : *Camellia theifera*, *Thea sinensis*, *Camellia thea* dan *Camellia sinensis*. Tanaman teh terdiri dari banyak spesies yang tersebar di Asia Tenggara, India, Cina Selatan, Laos Barat Laut, Muangthai Utara, dan Burma (Effendi *et al.*, 2010). Ada dua kelompok varietas teh yang terkenal, yaitu varietas assamica yang berasal dari Assam dan varietas sinensis yang berasal dari Cina (LIPI, 2009).

Secara sistematika, tanaman teh diklasifikasikan sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Viridiplantae
Divisi	: Tracheophyta
Subdivisi	: Spermatophytina
Kelas	: Magnoliopsida
Subkelas	: Asteranae
Ordo	: Aricales
Famili	: Theaceae
Genus	: <i>Camellia</i> L.
Spesies	: <i>Camellia sinensis</i> (L.) (ITIS, 2016).
Nama Lokal	: Enteh (Sunda), Pu erh cha (China), theler (Perancis), teestrauch (Jerman), Te (Itali), cha da India (Portugis), tea (Inggris) (LIPI, 2009).



Gambar 2. 1 *Camellia sinensis* (L.) Kuntze (LIPI, 2009)

2.1.2 Morfologi

Camellia sinensis (teh) merupakan tanaman semak atau perdu (Ross, 2005) yang pertumbuhannya dapat dipengaruhi oleh lingkungan sekitar, seperti kecocokan iklim dan tanah. Di Indonesia, terdapat 3 daerah elevasi, yaitu daerah rendah (< 800 m di atas permukaan laut), daerah sedang (800 – 1.200 m di atas permukaan laut) dan daerah tinggi (>1.200 m di atas permukaan laut). Semakin rendah elevasi penanaman, suhu udara akan semakin meningkat pula. Suhu udara sangat berpengaruh pada mutu yang dihasilkan dari tanaman teh. Apabila suhu mencapai 30⁰C, pertumbuhan tanaman teh akan terhambat (Effendi *et al.*, 2010), sehingga diperlukan perlakuan khusus untuk penanamannya, seperti menyesuaikan lingkungan tumbuh supaya dapat tumbuh optimal. Tanaman teh umumnya ditanam di perkebunan dan dipanen secara manual (LIPI, 2009).

Tanaman teh dengan varietas assamica memiliki daun agak besar dengan ujung yang runcing, sedangkan varietas sinensis daunnya lebih kecil dan ujungnya agak tumpul (LIPI, 2009). Apabila tidak dipangkas, tingginya dapat mencapai 20 meter (Hidayat & Napitupulu, 2015) dengan bentuk tajuk seperti kerucut (LIPI, 2009). Pohon ini berkayu tegak dengan percabangan yang banyak dan pada ujung rantingnya terdapat rambut – rambut berwarna coklat kehijauan (Hidayat & Napitupulu, 2015).

Daun tunggal, bertangkai pendek, letaknya berseling dan helai daun kaku. Bentuk daunnya elips memanjang, ujung dan pangkal runcing, tepi bergerigi

halus dan memiliki pertulangan daun menyirip dengan panjang daun 6 – 18 cm dan lebar 2 – 6 cm. Daun ini berwarna hijau dengan permukaan yang mengkilap. Berbunga tunggal atau beberapa bunga bergabung menjadi satu (LIPI, 2009) dan terdapat pada ketiak daun dengan warna putih kekuningan dan memiliki aroma yang harum (Hidayat & Napitupulu, 2015). Buahnya berbentuk kotak, berdinding tebal dan pecah menurut ruang. Apabila masih muda, buah ini akan berwarna hijau dan ketika telah menua akan berwarna cokelat kehitaman (LIPI, 2009).

2.1.3 Jenis - Jenis Teh

Menurut Rohdiana (2015), tanaman teh dibedakan menjadi beberapa varian berdasarkan proses pengolahannya, yakni teh hitam, teh hijau, teh oolong, dan teh putih.

a. Teh Hitam

Teh hitam merupakan teh yang paling banyak diproduksi yaitu sekitar 78%, diikuti teh hijau 20% kemudian sisanya adalah teh oolong dan teh putih sekitar 2%. Proses pengolahan teh hitam ini terbilang cukup rumit. Berdasarkan prosesnya, teh hitam dibedakan menjadi teh hitam ortodoks dan *crushing-tearing-curling* (CTC). Pada proses pengolahan teh hitam ortodoks, daun teh dilayukan 14-18 jam. Setelah layu, daun teh digulung, digiling dan dioksimatis (oksidasi enzimatis) selama kurang lebih 1 jam. Sementara itu, proses pengolahan CTC, pelayuannya lebih singkat, yaitu 8-11 jam dan diikuti dengan proses penggilingan yang sangat kuat untuk mengeluarkan cairan sel semaksimal mungkin. Proses selanjutnya adalah pengeringan untuk menghentikan proses oksimatis dan menurunkan kadar air. Teh kering selanjutnya disortasi dan dikelompokkan untuk menghasilkan jenis mutu teh tertentu.

b. Teh Oolong

Proses pembuatan teh ini terbilang unik, dimana setelah bahan baku sampai di pabrik, daun teh segera mungkin dilayukan dengan memanfaatkan panas dari sinar matahari sambil digulung halus secara manual menggunakan mesin. Tujuan penggulungan halus ini adalah untuk mengoksidasi sebagian polifenol yang

terdapat dalam daun teh. Proses ini dikenal sebagai proses semi oksimatis. Setelah dipandang cukup semi oksimatisnya, daun teh kemudian dikeringkan.

c. Teh Hijau

Secara umum, teh hijau dibedakan menjadi teh hijau China (*Panning Type*) dan teh hijau Jepang (*Steaming Type*). Baik teh hijau China maupun Jepang, prinsip dasar proses pengolahannya adalah inaktivasi enzim polifenol oksidase untuk mencegah terjadinya oksimatis yang merubah polifenol menjadi senyawa oksidasinya berupa teaflavin dan tearubigin. Daun teh yang sudah dilayukan, kemudian digulung dan dikeringkan sampai kadar air tertentu.

d. Teh Putih

Diantara jenis teh yang ada, teh putih merupakan teh dengan proses pengolahan paling sederhana, yaitu pelayuan dan pengeringan. Bahan baku yang digunakan untuk proses pembuatan teh putih inipun hanya berasal dari pucuk dan dua daun dibawahnya.

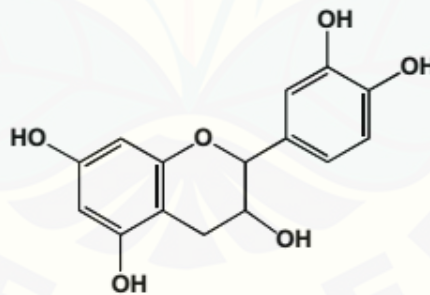
2.1.4 Kandungan Kimia dan Manfaat

Daun teh mengandung senyawa metabolit sekunder yang terdiri dari polifenol, alkaloid, polisakarida, asam amino, vitamin, senyawa anorganik, dan lain-lain (Sharangi, 2009). Menurut da Silva Pinto (2013), polifenol merupakan kandungan terbesar yang terdapat dalam daun teh, seperti flavonoid (flavanol proantosianidin, flavonol), *theaflavins*, *thearubigins* dan asam galat.

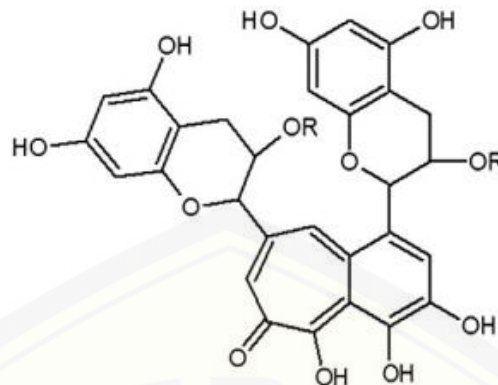
Flavonoid merupakan senyawa polifenol terbesar yang terdapat pada teh hijau, seperti katekin dan flavonol apabila dibandingkan dengan teh hitam dan teh oolong. Katekin terdiri dari *epicatechin* (EC), *epicatechin gallate* (EG), *epigallocatechin* (EGC) dan *epigallocatechin gallate* (EGCG). Senyawa flavonol pada teh hijau lebih kecil dibandingkan dengan senyawa katekin, namun senyawa ini lebih mudah diabsorpsi dibandingkan dengan katekin (da Silva Pinto, 2013). Pada teh hitam dan teh oolong, sebagian besar senyawa katekin teroksidasi selama proses fermentasi (Sharangi, 2009). Pada proses fermentasi kedua teh tersebut,

senyawa katekin yang teroksidasi akan menjadi senyawa polifenol baru yang disebut senyawa *theaflavins* dan *thearubigins*. Senyawa *theaflavins* terdiri dari *theaflavins gallate* (TFG) dan *theaflavins digallate* (TF2G). *Theaflavins* dilaporkan dapat memberikan warna dan aroma pada teh oolong dan teh hitam (da Silva Pinto, 2013).

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa dengan membiasakan diri mengkonsumsi teh akan memberikan manfaat tersendiri bagi tubuh kita, seperti melawan pembentukan kanker (Kris-Etherton *et al.*, 2002), mencegah aterosklerosis (Miura *et al.*, 2001), melancarkan saluran pernafasan (Huerta *et al.*, 2005), *anti-aging* (Hsu *et al.*, 2003) dan antidiabetes (Hara & Honda, 1990). Penelitian lain menyatakan bahwa ekstrak teh memiliki aktivitas sebagai agen hipoglikemi. Kandungan katekin dan *theaflavins* dapat mencegah terjadinya hiperglikemi dengan meningkatkan aktivitas insulin dan mencegah terjadinya kerusakan pada sel β pankreas (Anderson & Polansky, 2002). Menurut Tang *et al.* (2013) pemberian ekstrak teh hitam dan teh hijau dapat menurunkan kadar glukosa pada mencit yang diinduksi streptozotosin (STZ).



Gambar 2. 2 Struktur kimia katekin (Sumber: Kamiyama *et al.*, 2010)



Gambar 2. 3 Struktur kimia *theaflavins* (Sumber: da Silva Pinto., 2013)

2.2 Diabetes Melitus

2.2.1 Definisi dan Klasifikasi

Diabetes melitus (DM) didefinisikan sebagai suatu penyakit atau gangguan metabolisme ditandai terjadinya hiperglikemi yang berhubungan dengan abnormalitas metabolisme karbohidrat, lemak, dan protein yang disebabkan oleh penurunan sekresi insulin dan atau penurunan sensitivitas insulin dan menyebabkan komplikasi kronis mikrovaskular, makrovaskular, dan neuropati (Sukandar *et al.*, 2013).

DM diklasifikasikan berdasarkan kondisi patologi yang memicu terjadinya hiperglikemi, seperti usia atau terapi yang dilakukan. DM dikelompokkan menjadi dua kategori besar, yakni DM tipe 1 dan DM tipe 2 (Kasper *et al.*, 2015). DM dibagi menjadi 4 tipe, diantaranya ialah sebagai berikut: (Dipiro *et al.*, 2008)

a. Diabetes Melitus Tipe 1

DM tipe 1 atau biasa disebut dengan *Insulin Dependent Diabetes Mellitus* (IDDM) merupakan penyakit hiperglikemi yang disebabkan oleh kerusakan sel β pankreas akibat autoimun, sehingga terjadi defisiensi insulin absolut (Dipiro *et al.*, 2008). Reaksi autoimun umumnya terjadi setelah waktu yang panjang (9-13 tahun) yang ditandai dengan adanya parameter-parameter sistem imun ketika terjadi kerusakan sel β . Hiperglikemi terjadi apabila kerusakan dari sel β mencapai 80-90% (Sukandar *et al.*, 2013).

b. Diabetes Melitus Tipe 2

DM Tipe 2 atau *Non Insulin Dependent Diabetes Mellitus* (NIDDM) merupakan penyakit yang ditandai adanya resistensi insulin dan defisiensi insulin (Dipiro *et al.*, 2008). DM tipe 2 lebih disebabkan karena gaya hidup penderita diabetes (kelebihan kalori, kurangnya olahraga, dan obesitas) (AACE, 2015).

Resistensi insulin ditandai dengan peningkatan lipolisis dan produksi asam lemak bebas, peningkatan produksi glukosa hepatic, dan penurunan pengambilan glukosa pada otot skelet (Sukandar *et al.*, 2013). Defisiensi insulin disebabkan akibat peningkatan konsentrasi glukosa darah yang bersifat progresif. Ketika konsentrasi glukosa darah meningkat melebihi batasan normalnya, sel β pankreas tidak dapat menyeimbangkan jumlah sekresi insulin (Dipiro *et al.*, 2008).

c. Diabetes Melitus Gestasional

Diabetes Melitus Gestasional (GDM= *Gestational Diabetes Mellitus*) adalah keadaan diabetes atau intoleransi glukosa yang timbul selama masa kehamilan, dan biasanya berlangsung hanya sementara atau temporer. Prevalensi wanita hamil yang menderita GDM pada tahun 2014 menunjukkan angka yang terbilang cukup tinggi, yakni 9,2% (ADA, 2014).

d. Diabetes Tipe Lain

Diabetes tipe lain ini terjadi disebabkan oleh antagonisme hormonal insulin (sindrom Cushing, akromegali, feokromositoma, hipertiroidisme, dan yang lebih jarang, glukogonoma, somastatinoma, aldosteronoma), penghancuran pankreas (kanker pankreas, pankreatitis, pankreatektomi, fibrosis kistik), obat-obatan (diuretik tiazid, interferon- α , takrolimus, diazoksid) dan infeksi (Rubela kongenital dan sitomegalovirus) (Rubenstein *et al.*, 2007).

2.2.2 Gejala dan Diagnosis Diabetes Melitus

Diabetes melitus ditandai oleh tiga P, yaitu: (Kee *et al.*, 1996)

- a. Poliuri (meningkatnya keluaran urin)
- b. Polidipsi (meningkatnya rasa haus)
- c. Polifagia (meningkatnya rasa lapar)

Menurut kriteria American Diabetes Association (ADA) apabila gula darah pada saat puasa diatas 126 mg/dL dan 2 jam sesudah makan diatas 200mg/dL, diagnosis diabetes bisa dipastikan.

2.2.3 Penatalaksanaan Terapi Diabetes Melitus

Secara umum, terapi DM yang diberikan bertujuan untuk menghilangkan gejala – gejala pemicu hiperglikemi dan menurunkan resiko terjadinya komplikasi mikrovaskular dan makrovaskular (Kasper *et al.*, 2015). Penatalaksanaan terapi DM dapat dibedakan menjadi 2 golongan, yakni terapi secara non farmakologi dan farmakologi (Dipiro *et al.*, 2008).

a. Terapi Non-Farmakologi

1) Rencana Diet

Rencana diet pada pasien diabetes dimaksudkan untuk mengatur jumlah kalori dan karbohidrat yang dikonsumsi setiap hari. Jumlah kalori yang disarankan bervariasi, bergantung pada kebutuhan apakah untuk mempertahankan, menurunkan atau meningkatkan berat badan. Pasien diabetes tidak dianjurkan untuk mengkonsumsi karbohidrat dalam jumlah berlebih karena dapat memicu terjadinya hiperglikemi *postprandial* dan glikosuria (Price & Wilson, 2005). Pengaturan pola makan yang baik secara langsung dapat mencegah kelebihan berat badan (obesitas) yang menjadi faktor resiko terjadinya diabetes (Kasper *et al.*, 2015).

2) Latihan Fisik

Berolahraga secara teratur dapat menurunkan dan menjaga kadar gula darah agar tetap normal. Olahraga aerobik yang dilakukan dengan tepat dapat memperbaiki kerja insulin, menurunkan resiko terjadinya penyakit kardiovaskular, menurunkan dan mempertahankan berat badan ideal. Pasien penderita diabetes disarankan memilih olahraga yang disukai sehingga dapat dilakukan secara teratur guna memberikan pengaruh positif bagi kesehatannya (Dipiro *et al.*, 2008). Penurunan berat badan (diet dan olahraga) dapat menurunkan resistensi insulin dan mengendalikan kadar glukosa darah pada sepertiga pasien DM tipe 2. Dua pertiga

pasien diabetes tipe 2 lainnya dikendalikan oleh diet bersama dengan obat antidiabetes oral (Neal, 2006).

b. Terapi Farmakologi

1) Terapi insulin

Sel β pankreas pada DM tipe 1 yang mengalami kerusakan menyebabkan terjadinya defisiensi insulin. Sebagai penggantinya, insulin eksogen digunakan untuk meniru pola normal fisiologis tubuh sehingga dapat memetabolisme karbohidrat (Dipiro *et al.*, 2008). Walaupun sebagian besar penderita DM tipe 2 tidak memerlukan terapi insulin, namun beberapa DM tipe 2 dengan kondisi tertentu juga memerlukan terapi insulin (ASHP, 2008).

2) Obat Antidiabetes Oral

Berdasarkan mekanisme kerjanya, obat-obat hipoglikemik oral dapat dibagi menjadi 3 golongan, yaitu: (Katzung, 2002)

a. Insulin Sekretagog

1. Sulfonilurea

Sulfonilurea dibagi menjadi dua generasi, yakni pertama (*Tolbutamide*, *Chlorpropamide* dan *Tolazamide*) dan kedua (*Gliburide*, *Glipizide*, dan *Glimepiride*) Kerja utama sulfonilurea adalah meningkatkan sekresi insulin dari pankreas (Katzung, 2002) dan hanya efektif bila sel-sel β pankreas masih dapat memproduksi (BPOM RI, 2009).

2. Meglitinid (*short acting insulin secretagogues*)

Meglitinid merupakan suatu golongan insulin sekretagog yang baru. Repaglinid, anggota kelompok pertama, disetujui FDA untuk penggunaan klinis pada tahun 1998. Obat tersebut memodulasi sekresi insulin sel β dengan mengatur aliran keluar kalium melalui penutupan kanal K^+ (Katzung, 2002). Penutupan kanal K^+ ini menyebabkan depolarisasi sel β dan meningkatkan pelepasan insulin (Neal, 2006).

3. Biguanid

Contoh golongan biguanid yang telah banyak beredar di pasaran adalah metformin. Metformin dapat diberikan sebagai terapi tunggal pertama dengan dosis 500-1700 mg/hari (Price & Wilson, 2005). Mekanisme kerja dari metformin ialah dengan menghambat glukoneogenesis dan meningkatkan penggunaan glukosa di jaringan. Obat ini hanya efektif jika terdapat insulin endogen (BPOM RI, 2009).

b. Golongan Penghambat enzim α -glukosidase

Contoh dari golongan ini adalah akarbose, miglitol dan voglibose (Hanefeld *et al.*, 2007). Obat-obat golongan ini bekerja secara kompetitif menghambat kerja enzim α -glukosidase dalam saluran cerna (usus halus), sehingga menurunkan penyerapan glukosa. Selain itu obat ini juga menghambat kenaikan glukosa plasma *postprandial*, sehingga baik diberikan pada penderita dengan hiperglikemi dominan *postprandial* (BPOM RI, 2009).

c. Tiazolidinemedion (*Insulin Sensitizing agent*)

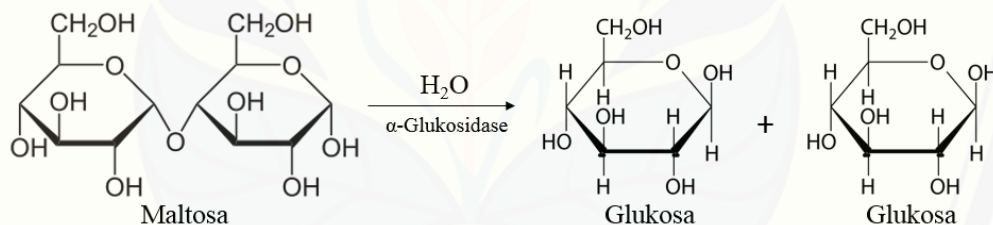
Contoh dari golongan ini adalah rosiglitazone, pioglitazon dan troglitazon. Troglitazon telah ditarik dari pasaran. Golongan tiazolidinemedion ini memiliki efek farmakologi meningkatkan sensitivitas insulin sehingga bisa mengatasi masalah resistensi insulin tanpa menyebabkan hipoglikemi (BPOM RI, 2009). Obat-obatan ini dapat menyebabkan retensi air dan tidak dianjurkan untuk diberikan pada pasien dengan gagal jantung kongestif (Price & Wilson, 2005).

2.3 Enzim α -Glukosidase

Enzim merupakan polimer biologis sebagai pengkatalis reaksi kimia yang memungkinkan berlangsungnya suatu kehidupan. Enzim ini bersifat spesifik bagi tipe reaksi yang dikatalisis maupun substrat-substrat yang saling berhubungan. Enzim merupakan katalis yang efektif. Enzim dapat meningkatkan laju reaksi hingga lebih dari 10^6 kali (Murray *et al.*, 2003).

Enzim α -glukosidase memiliki nomor *Enzyme Commission* (EC) 3.2.1.20. Angka 3 pada digit pertama menunjukkan bahwa enzim α -glukosidase merupakan kelompok enzim hidrolase. Jenis ikatan yang dihidrolisis ditunjukkan oleh digit

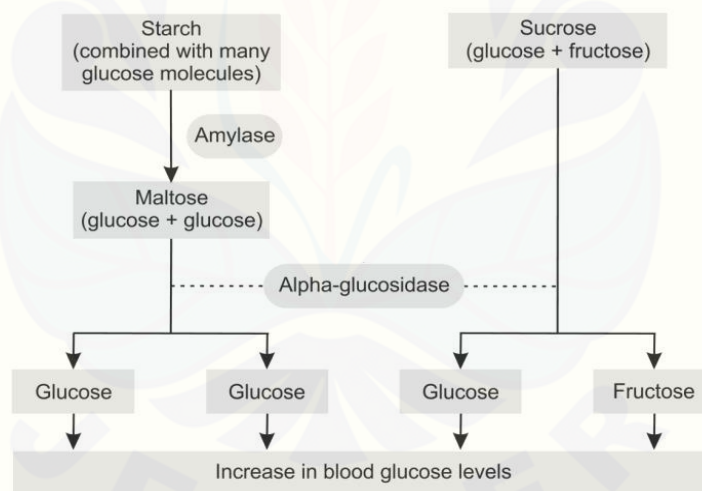
kedua, 2, yang berarti enzim ini akan menghidrolisis ikatan glikosida dengan pemutusan ikatan O- dan S- (ditunjukkan pada digit ketiga, 1). Digit terakhir (20) menunjukkan nama dari enzim tersebut, α -D-glukosida glukohidrolase (IUBMB, 1961). Enzim ini berada di sepanjang dinding usus halus pada *brush border* (mikrovili) yang bertanggung jawab terhadap penguraian karbohidrat menjadi glukosa (Chisholm-Burns *et al.*, 2008). Enzim α -glukosidase akan mengkatalis reaksi hidrolisis oligosakarida dan disakarida menjadi monosakarida dengan pemutusan ikatan glikosida. Monosakarida inilah yang kemudian akan diserap dalam tubuh dan meningkatkan kadar gula darah (Lebovitz, 1997). Hanya monosakarida, seperti glukosa dan fruktosa, dapat ditranspor ke luar dari lumen usus ke dalam aliran darah. Zat tepung kompleks, oligosakarida dan disakarida harus dipecah menjadi molekul monosakarida sebelum diabsorpsi dalam usus (Katzung, 2002). Proses pemecahan maltosa (disakarida) dapat dilihat pada gambar 2.2.



Gambar 2. 4 Proses pemecahan maltosa (Sumber: Timberlake, 2011).

Pati merupakan suatu polisakarida yang mengandung sedikitnya 10 hingga ribuan unit monosakarida yang dihubungkan oleh ikatan glikosida. Pati merupakan campuran dari dua macam polisakarida, yakni amilosa (sekitar 20%) dan amilopektin (sekitar 80%). Amilosa terdiri dari unit rantai D-glukosa yang dihubungkan oleh ikatan α -1,4-glikosida. Seperti amilosa, amilopektin juga terdiri dari unit rantai D-glukosa yang dihubungkan dengan ikatan α -1,4-glikosida, namun pada amilopektin juga terdapat ikatan α -1,6-glikosida. Adanya ikatan tersebut akan membentuk percabangan pada polisakarida (Bruice, 2007).

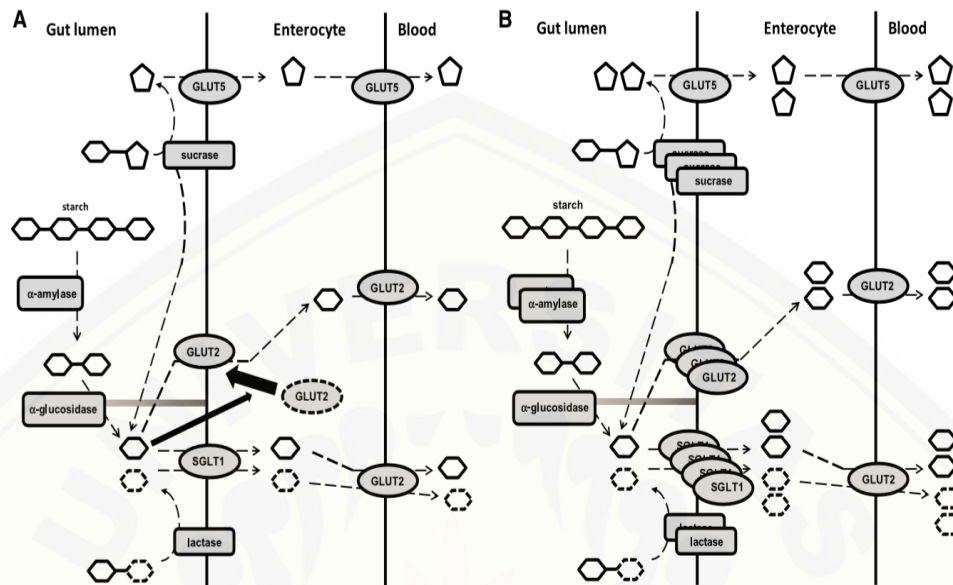
Pada proses pencernaan makanan, polisakarida ini akan dipecah oleh enzim α -amilase menjadi oligosakarida dan disakarida melalui hidrolisis ikatan α -1,4-glikosida. (Lebovitz, 1997). Enzim α -amilase mampu memecah ikatan α -1,4-glikosida pada polisakarida tetapi tidak mampu memecah ikatan α -1,6-glikosida seperti pada enzim α -glukosidase yang mampu memecah kedua ikatan glikosida tersebut (Guzmán-Maldonado *et al.*, 1995). Oligosakarida dan disakarida yang terbentuk akan dipecah lagi oleh enzim α -glukosidase dengan menghidrolisis ikatan α -1,4-glikosida dan α -1,6-glikosida menjadi unit – unit monosakarida yang dapat diabsorpsi menuju pembuluh darah (Lebovitz, 1997). Menurut Boyce *et al.* (2000), kelompok enzim hidrolase akan mengkatalis terjadinya hidrolisis yang menyebabkan pemecahan ikatan pada C-O, C-N, dan C-C. Proses peningkatan kadar glukosa darah dapat dilihat pada gambar 2.3.



Gambar 2. 5 Proses peningkatan kadar glukosa darah (Sumber: Mohan *et al.*, 2014)

Pada keadaan DM, enzim hidrolase (α -glukosidase, α -amilase, laktase dan sukrase) dan *transporter* (SGLT1 dan GLUT2) yang bertanggung jawab dalam metabolisme karbohidrat mengalami peningkatan. Akibatnya, glukosa yang terbentuk akan semakin cepat dan terjadi peningkatan kecepatan absorpsi glukosa dalam sirkulasi darah (Dyer *et al.*, 2002). Penghambatan enzim α -glukosidase merupakan salah satu strategi untuk dapat mengontrol kadar glukosa darah dengan

menunda absorpsi glukosa dalam usus (Baron, 1998). Absorpsi glukosa dalam usus pada keadaan normal dan keadaan diabetes dapat dilihat pada gambar 2.4.



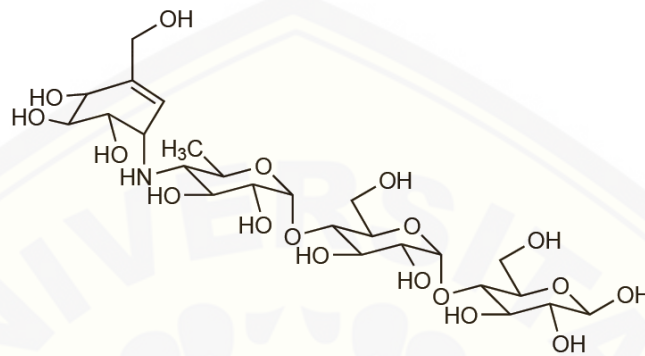
Gambar 2. 6 Absorpsi glukosa dalam usus halus pada keadaan normal (A) dan diabetes (B) (Williamson, 2013)

2.4 Akarbose Sebagai Penghambat Enzim α -Glukosidase

Penghambat α -glukosidase (AGI – *Alpha Glucosidase Inhibitor*) pertama kalinya dikembangkan oleh Puls *et al.* (1977) untuk mengontrol kadar gula darah. AGI merupakan penghambat kompetitif enzim α -glukosidase dan meminimalkan proses pencernaan dan menunda absorpsi pati dan disakarida yang masuk dalam usus (Katzung, 2002). Akarbose merupakan salah satu agen AGI yang dikenalkan pertama kali oleh Schmidt pada tahun 1977 dan mulai dipasarkan pada tahun 1990. Terdapat 3 jenis AGI yang sampai saat ini masih digunakan secara global terutama di daerah Asia dan Eropa, yakni akarbose, miglitol, dan voglibose (Hanefeld *et al.*, 2007).

Akarbose ($C_{25}H_{43}NO_{18}$, BM = 645,6) merupakan suatu senyawa pseudo-tetrasakarida dengan adanya ikatan nitrogen yang terletak diantara unit pertama dan kedua glukosa. Struktur yang unik dari akarbose ini memiliki peran penting pada afinitasnya untuk menuju sisi aktif dari enzim α -glukosidase. Miglitol berbeda dengan akarbose karena molekulnya lebih kecil dibandingkan dengan akarbose.

Voglibose merupakan turunan dari senyawa valiolamin (Hanefeld *et al.*, 2007). Dari berbagai AGI tersebut, akarbose lebih banyak digunakan sebagai *first line therapy* DM tipe 2 dan pengembangan penelitian-penelitian lainnya (Bischoff, 1994).

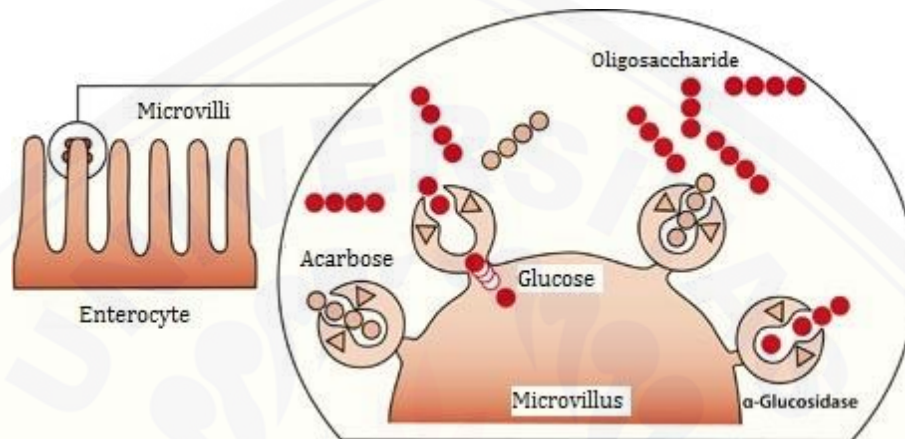


Gambar 2. 7 Struktur kimia akarbose (Sumber: Sweetman, 2000).

Akarbose merupakan AGI yang paling efektif dalam menghambat enzim α -glukosidase (Puls, 1996). Akarbose memiliki struktur yang hampir sama dengan oligosakarida dan dihasilkan dari proses fermentasi bakteri *Actinoplanes utahensis* (Tripathy *et al.*, 2012). Dengan adanya intramolekul nitrogen, akarbose dapat menempati sisi aktif dari enzim α -glukosidase dengan kekuatan afinitas melebihi dari substrat normal (Truscheit *et al.*, 1988). Reaksi enzimatik ini akan terhenti akibat adanya ikatan C-N pada *acarviosine* akarbose yang tidak dapat dipecah. Selama akarbose tetap terikat pada enzim α -glukosidase, maka pencernaan karbohidrat tidak dapat dilakukan dan pembentukan glukosa akan terhambat. Terlepas dari tingginya kekuatan afinitas yang dimiliki, akarbose memiliki ikatan yang *reversible* dan kinetika penghambatannya bersifat kompetitif (Puls *et al.*, 1983).

Akarbose dapat digunakan sebagai monoterapi atau kombinasi dengan obat diabetes lainnya. Dosis akarbose yang dapat diberikan yaitu, 25 mg/ hari - 100 mg/ hari. Penggunaan akarbose sebagai monoterapi diketahui dapat menurunkan kadar glukosa darah puasa antara 40 – 50 mg/dL (Chisholm-Burns *et al.*, 2008). Efek samping yang sering terjadi dari penggunaan akarbose ini adalah distensi

abdomen, perut kembung (*flatulence*), diare dan keroncongan (*borborygmus*) (Balfour & McTavish 1993; Walker & Whittlesea, 2012). Efek samping ini dapat ditekan dengan menurunkan dosis awal menjadi lebih kecil dan diberikan interval waktu penggunaannya (Chisholm-Burns *et al.*, 2008).



Gambar 2. 8 Penghambatan enzim α -glukosidase (Sumber: Bischoff, 1994)

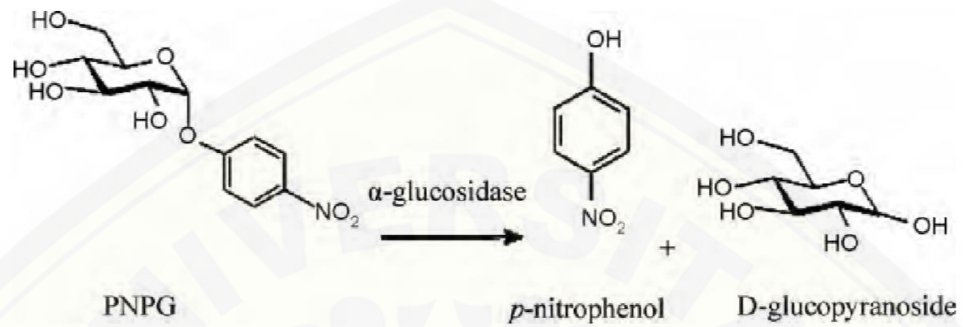
2.5 Uji Penghambatan Enzim α -Glukosidase

Pengujian penghambatan enzim α -glukosidase secara *in vitro* dilakukan berdasarkan prinsip dasar reaksi enzimatik. Reaksi enzimatik yang terjadi yaitu hidrolisis substrat *p*-nitrofenil- α -D-glukopiranosida (PNPG) oleh enzim α -glukosidase menjadi *p*-nitrofenol (warna kuning) dan glukosa.

Uji penghambatan aktivitas enzim α -glukosidase dilakukan dengan metode *Spectrofotometric Stop Rate Determination* (Anonim, 1996). Aktivitas dari penghambatan enzim ini diukur berdasarkan serapan yang diberikan oleh warna kuning *p*-nitrofenol dan diukur pada panjang gelombang 400 nm menggunakan *microplate reader* (Anonim, 2001). Apabila suatu ekstrak tanaman memiliki aktivitas penghambatan enzim α -glukosidase, maka intensitas warna yang diberikan akan semakin menurun. Pada pengujian penghambatan α -glukosidase biasa digunakan akarbose (Chen *et al.*, 2004) sebagai standar/ kontrol positif.

Parameter penghambatan enzim α -glukosidase ditetapkan dengan menggunakan nilai IC_{50} (*Inhibitory Concentration*), yaitu konsentrasi yang dapat

menghambat 50 % aktivitas α -glukosidase dalam kondisi pengujian. Konsentrasi penghambat (agonis) yang semakin tinggi menyebabkan nilai antagonis kompetitif dari IC_{50} meningkat secara setimbang (Neubig *et al.*, 2003).



Gambar 2. 9 Reaksi enzimatik α -glukosidase dan PNP (Sumber: Guo *et al.*, 2010)

BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan adalah penelitian *experimental laboratories* untuk mengetahui perbedaan aktivitas antidiabetes melalui mekanisme inhibisi enzim α -glukosidase dari ekstrak teh hitam dan teh hijau.

3.2 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Biomedik dan Laboratorium Fitokimia Fakultas Farmasi Universitas Jember pada bulan Juli 2015 sampai Agustus 2016.

3.3 Variabel Penelitian

Variabel yang digunakan dalam penelitian ini adalah:

- a. Variabel bebas pada penelitian ini adalah ekstrak teh hitam dan teh hijau.
- b. Variabel terikat pada penelitian ini adalah aktivitas antidiabetes melalui inhibisi α -glukosidase dengan parameter IC_{50} .
- c. Variabel terkontrol pada penelitian ini adalah metode ekstraksi, pelarut dan prosedur pengujian aktivitas antidiabetes melalui inhibisi α -glukosidase.

3.4 Definisi Operasional

Definisi operasional pada penelitian ini adalah:

- a. Enzim α -glukosidase merupakan kelompok enzim hidrolase pada mikrovili usus halus yang mengkatalis terjadinya reaksi hidrolisis oligosakarida/disakarida menjadi glukosa.
- b. Aktivitas antidiabetes ditunjukkan dengan parameter IC_{50} yang merupakan konsentrasi efektif ekstrak teh untuk menghambat 50% enzim α -glukosidase.

3.5 Bahan dan Alat Penelitian

3.5.1 Bahan-Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah simplisia kering teh hitam dan teh hijau (PT Perkebunan Nusantara XII) dari Kabupaten Jember, akuades, akarbose (Sigma-Aldrich), enzim α -glukosidase (dari *Saccharomyces cerevisiae*, Sigma-Aldrich), *p*-nitrofenil- α -D-glukopiranosida (PNPG) (Sigma-Aldrich), natrium karbonat (Na_2CO_3) (Merck), sodium dihidrogen fosfat (NaH_2PO_4), sodium hidrogen fosfat (Na_2HPO_4).

3.5.2 Alat-alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah mikropipet (Socorex), tip mikropipet (*yellow tip* dan *blue tip*), *microwell* 96, alat-alat gelas, *freeze drier* (Zirbus VaCo 5-II-D), neraca analitik (Ohaus), *microplate reader* (Elx800), pH meter (Denver Instrument), inkubator (Clifton).

3.6 Prosedur Penelitian

3.6.1 Pembuatan Ekstrak

Ekstrak teh dibuat dengan metode infusa, yakni dengan merendam sebanyak 100 gram teh dalam 1000 mL air suhu 90°C. Setelah 15 menit, filtrat disaring menggunakan corong *Buchner* dan dibuat ekstrak kering dengan menggunakan *freeze drier* dengan suhu -80°C (Holidah & Christianty, 2015).

3.6.2 Uji Pendahuluan Reaksi Enzimatis

Optimasi kondisi enzim dilakukan terlebih dahulu sebelum melaksanakan uji inhibisi enzim α -glukosidase untuk mendapatkan kondisi yang optimal dari kerja enzim α -glukosidase. Optimasi yang dilakukan adalah optimasi konsentrasi enzim. Panjang gelombang maksimal, konsentrasi substrat dan waktu inkubasi merujuk pada penelitian yang telah dilakukan oleh Zuhro (2015). Panjang gelombang maksimal, konsentrasi substrat dan waktu inkubasi terpilih adalah 415 nm; 10 mM; dan 60 menit.

a. Penyiapan Larutan Pereaksi

1) Larutan dapar fosfat pH 6,8

Dibuat dengan mencampurkan 255 ml NaH_2PO_4 0,1 M (6,90 gram dalam 500 ml) dengan 245 ml Na_2HPO_4 0,1 M (15,84 gram dalam 600 ml) dan ditambahkan akuades hingga 1000 mL (Mohan, 2003).

2) Larutan enzim α -glukosidase

Larutan enzim dibuat dengan melarutkan 100 U enzim α -glukosidase dalam 2 ml dapar fosfat pH 6,8 kemudian membagi larutan tersebut dalam dua vial sehingga didapatkan larutan enzim α -glukosidase 50 U/ml dalam masing-masing vial. Satu vial disimpan dalam freezer (-20°C) sebagai larutan stok, sedangkan satu vial yang lain diencerkan dengan menambahkan 9 ml dapar fosfat pH 6,8 sehingga didapatkan enzim α -glukosidase 5 U/ml. Larutan enzim tersebut kemudian dibagi dalam sepuluh vial dimana, masing-masing vial ditambahkan 9 ml dapar fosfat pH 6,8 untuk mendapatkan larutan enzim α -glukosidase 0,5 U/ml. Larutan enzim α -glukosidase 0,5 U/ml diencerkan menggunakan dapar fosfat pH 6,8 hingga diperoleh konsentrasi larutan enzim 0,1; 0,2; 0,3 dan 0,4 U/ml. Larutan enzim disimpan dalam freezer suhu -20°C . Proses pengenceran enzim ini harus dilakukan dalam *ice box* untuk menjaga stabilitas dari enzim tersebut.

3) Larutan natrium karbonat 0,2 M

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

b. Penentuan konsentrasi optimal dari enzim

Prosedur optimasi ini dilakukan berdasarkan uji penghambatan enzim α -glukosidase yang dilakukan oleh Moradi-Afrapoli *et al.* (2012) dengan beberapa modifikasi. Campuran reaksi ini terdiri dari 120 μL dapar fosfat pH 6,8 dan 20 μL larutan enzim α -glukosidase dengan konsentrasi masing-masing 0,1; 0,2; 0,3; 0,4 dan 0,5 U/ml dalam *microwell*. Selanjutnya diinkubasi selama 15 menit suhu 37°C . Setelah itu, ditambahkan 20 μL substrat PNPG konsentrasi 10mM, lalu diinkubasi selama 60 menit suhu 37°C . Reaksi dihentikan dengan penambahan 80 μL natrium karbonat 0,2 M. *p*-Nitrofenol yang dihasilkan dibaca absorbansinya pada 415 nm.

Pada blanko, dilakukan tanpa penambahan enzim. Semua pengujian dilakukan tiga kali replikasi.

3.6.3 Uji Aktivitas Inhibisi α -Glukosidase

Uji aktivitas inhibisi α -glukosidase yang dilakukan ini merujuk pada penelitian Moradi-Afrapoli (2012) dengan beberapa modifikasi. Uji aktivitas inhibisi α -glukosidase dilakukan terhadap larutan kontrol negatif (larutan tanpa sampel/standar), larutan kontrol positif (larutan akarbose) dan larutan sampel (ekstrak). Setiap larutan uji dibuat larutan blanko masing-masing sebagai faktor koreksi.

a. Penyiapan larutan akarbose

Larutan akarbose 1000, 2000, 5000, 10000 dan 20000 ppm dibuat dengan menimbang masing-masing 25 mg, 50 mg, 125 mg, 50 mg dan 100 mg serbuk akarbose dan dilarutkan dengan akuades masing-masing hingga 25 ml, 25 ml, 25 mL, 5 ml dan 5 ml.

b. Penyiapan larutan sampel

Sebanyak 36 mg dan 32 mg sampel (ekstrak) masing-masing dilarutkan dengan dapar fosfat pH 6,8 hingga 100 ml dalam labu ukur untuk mendapatkan konsentrasi larutan sampel masing-masing 360 ppm dan 320 ppm. Selanjutnya dilakukan pengenceran dari larutan sampel tersebut hingga dipeoleh beberapa konsentrasi dengan rentang 1 – 100 ppm.

c. Pengujian kontrol negatif

Sebanyak 130 μ L 0,1 M dapar fosfat pH 6,8 dan 20 μ L larutan enzim dimasukkan dalam *microwell* 96. Selanjutnya diinkubasi selama 15 menit suhu 37°C. Setelah itu, ditambahkan 20 μ L substrat PNPG konsentrasi 10mM, lalu diinkubasi selama 60 menit suhu 37°C. Reaksi dihentikan dengan penambahan 80 μ L natrium karbonat 0,2 M. *p*-Nitrofenol yang dihasilkan dibaca absorbansinya pada 415 nm. Pada uji larutan blanko kontrol negatif, dilakukan tanpa penambahan enzim. Semua pengujian dilakukan tiga kali replikasi.

d. Pengujian kontrol positif

Sebanyak 10 μL larutan akarbose ditambah 120 μL 0,1 M dapar fosfat pH 6,8 dan 20 μL larutan enzim dimasukkan dalam *microwell* 96. Selanjutnya diinkubasi selama 15 menit suhu 37°C. Setelah itu, ditambahkan 20 μL substrat PNPG konsentrasi 10mM, lalu diinkubasi selama 60 menit suhu 37°C. Reaksi dihentikan dengan penambahan 80 μL natrium karbonat 0,2 M. *p*-Nitrofenol yang dihasilkan dibaca absorbansinya pada 415 nm. Pada uji larutan blanko kontrol positif, dilakukan tanpa penambahan enzim. Semua pengujian dilakukan tiga kali replikasi.

e. Pengujian sampel

Sebanyak 10 μL larutan sampel (ekstrak teh) ditambah 120 μL 0,1 M dapar fosfat pH 6,8 dan 20 μL larutan enzim dimasukkan dalam *microwell* 96. Selanjutnya diinkubasi selama 15 menit suhu 37°C. Setelah itu, ditambahkan 20 μL substrat PNPG konsentrasi 10mM, lalu diinkubasi selama 60 menit suhu 37°C. Reaksi dihentikan dengan penambahan 80 μL natrium karbonat 0,2 M. *p*-Nitrofenol yang dihasilkan dibaca absorbansinya pada 415 nm. Pada uji larutan blanko sampel, dilakukan tanpa penambahan enzim. Semua pengujian dilakukan tiga kali replikasi.

Tabel 3. 1 Prosedur uji aktivitas inhibisi α -glukosidase

Reagen	Volume (μ L)			
	K ₁	K ₀	S ₁	S ₀
Sampel / inhibitor	-	-	10	10
Dapar fosfat pH 6,8	130	150	120	140
Enzim	20	-	20	-
Inkubasi 37°C, 15 menit				
Substrat	20	20	20	20
Inkubasi 37°C, 60 menit				
Natrium karbonat 0,2 M	80	80	80	80
Mengukur absorbansi pada 415 nm				

K₁= Kontrol negatif, K₀= Blanko kontrol negatif, S₁= Sampel (ekstrak / inhibitor). S₀= Blanko sampel (ekstrak / inhibitor)

Aktivitas inhibitor enzim α -glukosidase dari sampel dapat dihitung dengan rumus:

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

Keterangan: K= Absorbansi kontrol negatif (K₁-K₀)

S= Absorbansi sampel / inhibitor (S₁-S₀)

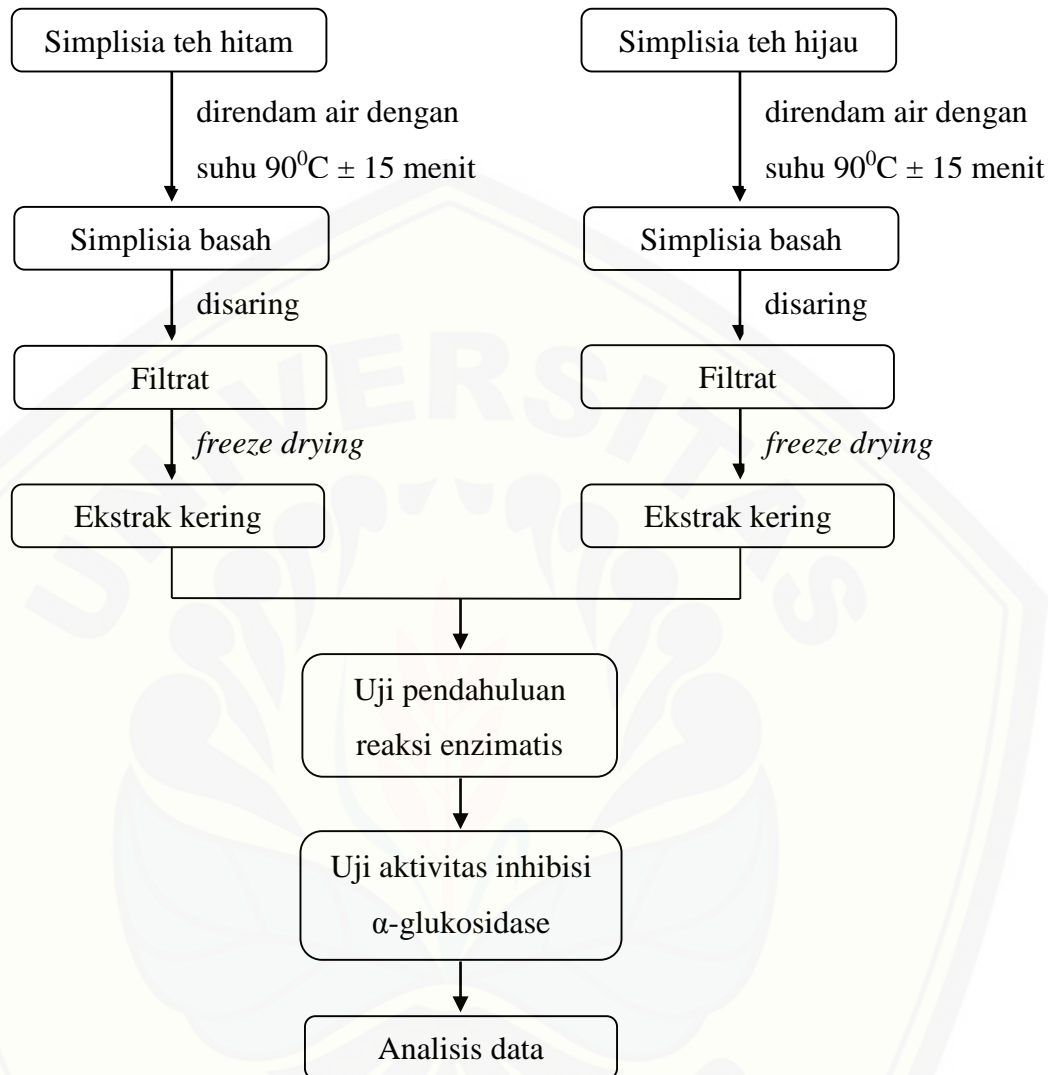
IC₅₀ dihitung dengan menggunakan persamaan regresi linier, konsentrasi sampel sebagai sumbu x dan % inhibisi sebagai sumbu y. Persamaan regresi $y = bx + a$ yang diperoleh, digunakan untuk menentukan IC₅₀ dengan rumus:

$$\text{IC}_{50} = \frac{50-a}{b}$$

3.7 Analisis Data

Data yang diperoleh kemudian diolah dan dilakukan uji normalitas (Shapiro-Wilk) sebagai syarat uji analisis T-test untuk melihat perbedaan IC₅₀. (Dahlan, 2004).

3.8 Skema Rancangan Penelitian



Gambar 3.1 Skema Rancangan Penelitian

BAB 5. PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian tersebut, dapat disimpulkan bahwa:

1. Ekstrak teh hitam dan teh hijau memiliki aktivitas penghambatan enzim α -glukosidase.
2. Ekstrak teh hijau memiliki kemampuan penghambatan yang lebih baik dibandingkan dengan teh hitam karena memiliki nilai IC_{50} yang lebih kecil.

5.2 Saran

Penelitian ini dapat dikembangkan lagi untuk menyempurnakan penggunaan obat herbal sebagai alternatif pengobatan diabetes. Hal yang dapat dikembangkan yaitu dengan pembuatan sediaan herbal ekstrak teh hitam dan teh hijau sehingga dapat memudahkan penggunaannya.

DAFTAR PUSTAKA

- AACE (American Association of Clinical Endocrinologists). 2015. Clinical Practice Guidelines For Developing a Diabetes Mellitus Comprehensive Care Plan – 2015. *Endocrine Practice*. Vol. 21: 6-7.
- ADA (American Diabetes Association). 2014. *What is Gestational Diabetes?* [on line]. <http://www.diabetes.org/diabetes-basics/gestational/what-is-gestational-diabetes.html>. [diakses tanggal 8 Februari 2016].
- ADA (American Diabetes Association). 2015. *Diabetes Basics* [on line]. http://www.diabetes.org/diabetes-basics/type-2/?loc=util-header_type2. [diakses tanggal 28 Desember 2015].
- Ahmed, Kumar, Sharma, & Verma, A. 2014. Target Guided Isolation, *In-Vitro* Antidiabetic, Antioxidant Activity and Molecular Docking Studies of Some Flavonoids From *Albizia lebbeck Benth.* Bark. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. Vol. 14(1): 1.
- Anderson, R. A., & Polansky, M. M. 2002. Tea Enhances Insulin Activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Vol. 50(24): 7182-7186.
- Anonim. 1996. *Enzymatic Assay of α -Glucosidase* [on line]. http://www.sigmaaldrich.com/etc/medialib/docs/Sigma/General_info. [diakses tanggal 20 November 2015].
- Anonim. 2001. *α -Glucosidase (α GLS-SE) from Recombinant *E. coli** [on line]. <http://202.239.155.79/bio/j/rinsyou/images/pdf/27alphaglsse.pdf>. [diakses tanggal 21 Oktober 2015].
- ASHP (American Society of Health System Pharmacists). 2008. *AHFS Drug Information Handbook*. Washington DC: ASHS.
- Bait, Y. 2010. Efektivitas Pemberian Seduhan Teh Hitam, Teh Hijau (*Camelia sinensis* var. *assamica*), Teh Daun Murbei (*Morus kanva*) dan Campurannya dalam Aktivitas Hiploglikemik pada Tikus (*Rattus norvegicus*) Diabetes. *Institut Pertanian Bogor*
- Balfour, J. A., & McTavish, D. 1993. Acarbose. *Drugs*. Vol. 46(6): 1025-1054.
- Baron, A. D. 1998. Postprandial Hyperglycaemia and α -Glucosidase Inhibitors. *Diabetes Research and Clinical Practice*. Vol. 40: 51-55.
- Bischoff, H. 1994. Pharmacology of α -Glucosidase Inhibition. *European Journal of Clinical Investigation*. Vol 24(S3): 3-10.
- BPOM RI (Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia). 2009. Diabetes Mellitus. *Informasi Produk Terapeutik*. Vol. 19(1): 1-12.
- Bruice, P. Y. 2007. *Organic Chemistry Fifth Edition*. New York: John Willey & Sons.

- Chen, Yan, Lin, Zheng, & Zhang. 2004. A New Method for Screening α -Glucosidase Inhibitors and Application to Marine Microorganisms. *Pharmaceutical Biology*. Vol. 42(6): 416-421.
- Chen, L., Apostolides, Z. & Chen, Z.M. 2012. *Global Tea Breeding: Achievements, Challenges and Perspectives*. Beijing: Zhejiang University Press.
- Chisholm-Burns, Wells, Schwinghammer, Malone, Kolesar, Rotschafer & Dipiro. 2008. *Pharmacotherapy: Principles & Practice*. New York: McGraw-Hill Companies. Inc.
- Creutzfeldt, W. 1988. *Acarbose For The Treatment of Diabetes Mellitus*. Berlin: Springer-Verlag.
- da Silva Pinto, M. 2013. Tea: A New Perspective on Health Benefits. *Food Research International*. Vol. 53(2): 558-567.
- de Melo, E. B., da Silveira Gomes, A., & Carvalho, I. 2006. α -and β -Glucosidase Inhibitors: Chemical Structure and Biological Activity. *Tetrahedron*. Vol. 62(44): 10277-10302.
- Dahlan, M. S. 2004. *Statistika untuk Kedokteran dan Kesehatan: Uji Hipotesis dengan menggunakan SPSS Seri 1: Evidence Based Medicine*. Jakarta: Arkans Entertainment and Education in Harmony.
- Dipiro., Talbert, Yee, Matzke, Wells, & Posey. 2008. *Pharmacotherapy: A Pathophysiologic Approach Seventh Edition*. New York: McGraw-Hill Companies. Inc.
- Dyer, Wood, Palejwala, Ellis & Shirazi-Beechey. 2002. Expression of Monosaccharide Transporters in Intestine of Diabetic Humans. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*. Vol. 282(2): G241-G248.
- Effendi, Syakir, Yusron & Wiratno. 2010. *Budidaya dan Pasca Panen Teh*. Bogor: Pusat Penelitian dan Pengembangan Perkebunan.
- Esposito, Ceriello & Giugliano. 2010. Prevention and Control of Type 2 Diabetes by Mediterranean Diet: A Systematic Review. *Diabetes Research and Clinical Practice*. Vol. 89(2): 97-102.
- Flores, Singh, Kerr, Pegg & Kong. 2013. Antioxidant and Enzyme Inhibitory Activities of Blueberry Anthocyanins Prepared Using Different Solvents. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Vol. 61(18): 4441-4447.
- Guo, Jiang, Lv & Wang. 2010. Screening α -Glucosidase Inhibitors From Traditional Chinese Drugs by Capillary Electrophoresis with Electrophoretically Mediated Microanalysis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. Vol. 53(5): 1250-1253.
- Guzmán-Maldonado, H., Paredes-López, O., & Biliaderis, C. G. 1995. Amylolytic Enzymes and Products Derived From Starch: A Review. *Critical Reviews in Food Science & Nutrition*. Vol. 35(5): 373-403.

- Hanefeld, M., & Schaper, F. 2007. The Role of Alpha-Glucosidase Inhibitors (Acarbose). Dalam *Pharmacotherapy of Diabetes: New Developments*. Berlin: Springer.
- Harbowy, Balentine, Davies & Cai. 1997. Tea Chemistry. *Critical Reviews in Plant Sciences*. Vol. 16(5): 415-480.
- Hara, Y., & Honda, M. 1990. The Inhibition of α -Amylase by Tea Polyphenols. *Agricultural and Biological Chemistry*. Vol. 54(8): 1939-1945.
- Haslam, E. 2003. Thoughts on Thearubigins. *Phytochemistry*. Vol. 64(1): 61-73.
- Heong, Bhupinder, Huda, Karim & Fazilan. 2011. Effect of Fermentation on The Composition of Centella asiatica Teas. *American Journal of Food Technology*. Vol. 6(7): 581-593.
- Hidayat, R.S.& Napitupulu, R.M. 2015. *Kitab Tumbuhan Obat*. Jakarta: AgriFlo.
- Holidah, D. & Christianty, F. M. 2015. Uji Aktivitas Antidiabetes Ekstrak Teh Hitam, Teh Oolong dan Teh Hijau Secara *In Vivo*. *Prosiding Seminar Nasional Current Challenges in Drug Use and Development: Tantangan Terkini Perkembangan Obat dan Aplikasi Klinis*.
- Honda, M., & Hara, Y. 1993. Inhibition of Rat Small Intestinal Sucrase and α -Glucosidase Activities by Tea Polyphenols. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*. Vol. 57(1): 123-124.
- Hsu, Bollag, Lewis, Huang, Singh, Sharawy, Yamamoto & Schuster. 2003. Green Tea Polyphenols Induce Differentiation and Proliferation in Epidermal Keratinocytes. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. Vol. 306(1): 29-34.
- Huerta, C., Lanes, S. F., & Rodríguez, L. A. G. 2005. Respiratory Medications and The Risk of Cardiac Arrhythmias. *Epidemiology*. Vol. 16(3): 360-366.
- Huxley, R., Lee, C. M. Y., Barzi, F., Timmermeister, L., Czernichow, S., Perkovic, Grobbee, D. E, Batty, D. & Woodward, M. 2009. Coffee, Decaffeinated Coffee, and Tea Consumption in Relation to Incident Type 2 Diabetes Mellitus: A Systematic Review With Meta-Analysis. *Archives of Internal Medicine*. Vol. 169(22): 2053-2063.
- IDF (International Diabetes Federation). 2015. *IDF Membership, Indonesia* [on line]. <http://www.idf.org/membership/wp/indonesia>. [diakses tanggal 28 Desember 2015].
- Indrianingsih, Tachibana, Dewi & Itoh. 2015. Antioxidant And α -Glucosidase Inhibitor Activities of Natural Compounds Isolated From Quercus Gilva Blume Leaves. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. Vol. 5(9): 748-755.
- ITIS (Integrated Taxonomic Information System). 2016. *Camellia sinensis (L.) Kuntze* [on line]. http://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=506801. [diakses tanggal 09 Januari 2016].

- IUBMB (*International Union of Biochemistry and Molecular Biology*). 1961. EC 3.2.1.20 [on line]. <http://www.chem.qmul.ac.uk/iubmb/enzyme/EC3/2/1/20.html>. [diakses tanggal 11 Februari 2016].
- Kamiyama, Sanae, Ikeda, Higashi, Minami, Asano, Adachi & Kato. 2010. *In Vitro* Inhibition of α -Glucosidases and Glycogen Phosphorylase by Catechin Gallates in Green Tea. *Food Chemistry*. Vol. 122(4): 1061-1066.
- Kaplan. 2016. *MCAT Organic Chemistry Review: Online+Book Third Edition*. New York: Kaplan Publishing.
- Kasper, Hauser, Jameson, Longo & Loscalzo. 2015. *Harrison's: Principles of Internal Medicine*. New York: McGraw-Hill.
- Katzung, B.G. 2002. *Farmakologi: Dasar dan Klinik* Edisi Kedelapan Buku 2. Alih bahasa oleh Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. Jakarta: Salemba Medika.
- Kee, J.L. & Hayes, E.R. 1996. *Farmakologi: Pendekatan Proses Keperawatan*. Alih bahasa oleh Peter Anugerah. Jakarta: EGC.
- Kim, Y. M., Wang, M. H., & Rhee, H. I. 2004. A Novel α -Glucosidase Inhibitor From Pine Bark. *Carbohydrate Research*. Vol. 339(3): 715-717.
- Kimura, A. 2000. Molecular Anatomy of Alpha-Glucosidase. *Trends in Glycoscience and Glycotechnology*. Vol. 12(68): 373-380.
- Kris-Etherton, Hecker, Bonanome, Coval, Binkoski, Hilpert, Griel & Etherton. 2002. Bioactive Compounds in Foods: Their Role in The Prevention of Cardiovascular Disease and Cancer. *The American Journal of Medicine*. Vol. 113(9): 71-88.
- Kwon, Y. I., Apostolidis, E., & Shetty, K. 2008. Inhibitory Potential of Wine and Tea Against α -Amylase and α -Glucosidase for Management of Hyperglycemia Linked to Type 2 Diabetes. *Journal of Food Biochemistry*. Vol. 32(1): 15-31.
- Lebovitz, H. E. 1997. Alpha-Glucosidase Inhibitors. *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America*. Vol. 26(3): 539-551.
- Li, K. B., & Chan, K. Y. 1983. Production and Properties of Alpha-Glucosidase from *Lactobacillus acidophilus*. *Applied and Environmental Microbiology*. Vol. 46(6): 1380-1387.
- LIPI (Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia). 2009. *Pangan dan Kesehatan*. Bogor: UPT – Balai Informasi Teknologi LIPI.
- Matsui, Tanaka, Tamura, Toshima, Tamaya, Miyata, Tanaka & Matsumoto. 2007. α -Glucosidase Inhibitory Profile of Catechins and Theaflavins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Vol. 55(1): 99-105.
- Miura, Chiba, Tomita, Koizumi, Miura, Umegaki, Hara, & Ikeda. 2001. Tea Catechins Prevent The Development of Atherosclerosis in Apoprotein E-Deficient Mice. *The Journal of Nutrition*. Vol. 131(1): 27-32.
- Mohan, C. 2003. *Buffers: A Guide for The Preparation and Use of Buffers in Biological Systems*. Berlin: Merck.

- Mohan, V. & Unnikrishnan, R. 2014. *World Clinics: Diabetology – Type 2 Diabetes Mellitus*. New Delhi: Jaypee Brothers Medical Publisher (P) Ltd.
- Moradi-Afrapoli, Asghari, Saeidnia, Ajani, Mirjani, Malmir, Bazaz, Hadjiakhoondi, Salehi, Hamburger & Yassa. 2012. In Vitro α -Glucosidase Inhibitory Activity of Phenolic Constituent from Aerial Parts of *Polygonum hyrcanicum*. *DARU Journal of Pharmaceutical Sciences*. Vol. 20 (37): 1-6.
- Murray, Granner, Mayes & Rodwell. *Harper's illustrated Biochemistry Twenty-Sixth Edition*. New York: The McGraw-Hill Companies, Inc.
- Neal, M. J. 2006. *At a Glance: Farmakologi Medis*. Alih bahasa oleh Juwalita Surapsari. Jakarta: Gelora Aksara Pratama.
- Neal, M. J. 2012. *Medical Pharmacology: at a Glance Seventh Edition*. London: John Wiley & Sons.
- Neubig, Spedding, Kenakin & Christopoulos. 2003. International Union of Pharmacology Committee on Receptor Nomenclature and Drug Classification. XXXVIII. Update on Terms and Symbols in Quantitative Pharmacology. *Pharmacological Reviews*. Vol. 55: 597-606.
- Nguyen, Lee, Ryu, Kang, Moon, Kimura & Kim, D. 2012. Inhibitory Effects of Epigallocatechin Gallate and Its Glucoside on The Human Intestinal Maltase Inhibition. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*. Vol. 17(5): 966-971.
- Oki, T., Matsui, T. & Osajima, Y. 1999. Inhibitory Effect Of α -Glucosidase Inhibitors Varies According to Its Origin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Vol. 47(2): 550-553.
- Pandey, K. B., & Rizvi, S. I. 2009. Plant Polyphenols as Dietary Antioxidants in Human Health and Disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. Vol. 2(5): 270-278.
- Price, S.A. & Wilson, L.M. 2005. *Patofisiologi: Konsep Klinis Proses-Proses Penyakit Edisi Keenam*. Alih bahasa oleh Brahm U. Pedit, Huriawati Hartanto, Pita Wulansari dan Dewi Asih Mahanani. Jakarta: EGC.
- Puls, Keup, Krause, Thomas, & Hoffmeister. 1977. Glucosidase Inhibition. *Naturwissenschaften*. Vol. 64(10): 536-537.
- Puls, W., Bischoff, H., & Schutt, H. 1983. Pharmacology of Amylase and Glucosidase Inhibitors. In *Delaying Absorption as a Therapeutic Principle in Metabolic Diseases*. Stuttgart: Thieme Medical Publisher.
- Puls, W. 1996. Pharmacology of Glucosidase Inhibitors. Dalam *Oral Antidiabetics*. Berlin: Springer.
- Rohdiana, D. 2015. Teh: Proses, Karakteristik & Komponen Fungsionalnya. *FoodReview Indonesia*. Vol 10(8).
- Ross, I.A. 2005. *Medicinal Plants of the World Volume 3*. New Jersey: Humana Press
- Rubenstein, D., Wayne, D. & Bradley, J. 2007. *Lecture Notes: Kedokteran Klinis Edisi Keenam*. Alih bahasa oleh Annisa Rahmalia. Jakarta: Erlangga

- Satyanayarana, U & Chakrapani, U. *Biochemistry Fourth Edition*. New Delhi: Elsevier.
- Schmidt, Frommer, Junge, Müller, Wingender, Truscheit & Schäfer. 1977. α -Glucosidase Inhibitors. *Naturwissenschaften*. Vol. 64(10): 535-536.
- Setyamidjaja, D. 2000. *Teh: Budidaya dan Pengolahan Pascapanen*. Yogyakarta: Kanisius.
- Sharangi, A. B. 2009. Medicinal and Therapeutic Potentialities of Tea (*Camellia sinensis* L.): A Review. *Food Research International*. Vol. 42(5): 529-535.
- Shinde, Taldone, Barletta, Kunaparaju, Hu, Kumar, Placido & Zito, S. W. 2008. α -Glucosidase Inhibitory Activity of *Syzygium cumini* (Linn.) Skeels Seed Kernel *In Vitro* and In Goto-Kakizaki (GK) Rats. *Carbohydrate Research*. Vol. 343(7): 1278-1281.
- Sukandar, Andrajati, Adnyana, Sigit, Setiadi & Kusnandar. 2013. *ISO Farmakoterapi Buku 1*. Jakarta: PT. ISFI penerbitan.
- Sweetman, S. C., 2000. *Martindale: The Complete Drug Reference Thirty-sixth Edition*. London: Pharmaceutical Press.
- Tadera, Minami, Takamatsu & Matsuoka. 2006. Inhibition of Alpha-Glucosidase and Alpha-Amylase by Flavonoids. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*. Vol. 52(2): 149-153.
- Tang, Li, Liu, Huang & Ho. 2013. Anti-Diabetic Activity of Chemically Profiled Green Tea and Black Tea Extracts In a Type 2 Diabetes Mice Model Via Different Mechanisms. *Journal of Functional Foods*. Vol. 5(4): 1784-1793.
- Timberlake, K. C. 2011. *Chemistry: An Introduction to General, Organic, and Biological Chemistry Eleventh Edition*. New Jersey: Prentice Hall.
- Tripathy, Chandalia, Das, Rao, Madhu & Mohan . 2012. *RSSDI: Textbook of Diabetes Mellitus*. India: Jaypee Brothers Medical Publisher (P) Ltd.
- Truscheit, Hillebrand, Junge, Müller, Puls & Schmidt. 1988. Microbial α -Glucosidase Inhibitors: Chemistry, Biochemistry, and Therapeutic Potential. Dalam *Drug Concentration Monitoring Microbial Alpha-Glucosidase Inhibitors Plasminogen Activators*. Berlin: Springer.
- Walker, R. & Whittlesea, C. 2012. *Clinical Pharmacy and Therapeutics*. Edinburgh: Elsevier.
- Williamson, G. 2013. Possible Effects of Dietary Polyphenols on Sugar Absorbtion and Digestion: A Review. *Molecular Nutrition and Food Research*. Vol. 57: 48-57.
- Woodward, F. I. 1987. *Climate and Plant Distribution*. Melbourne: Cambridge University Press.
- Xu, H. 2010. Inhibition Kinetics of Flavonoids on Yeast α -Glucosidase Merged with Docking Simulations. *Protein and Peptide Letters*. Vol. 17(10): 1270-1279.

- Yale, J. F. 2000. Pharmacologic Management of Type 2 Diabetes. *Canadian Journal of Diabetes*. Vol. 32: 53.
- Yang, X. & Kong, F. 2016. Evaluation of The *In Vitro* A-Glucosidase Inhibitory Activity of Green Tea Polyphenols and Different Tea Types. *Journal of The Science of Food and Agriculture*. Vol. 96(3): 777-782.
- Yilmazer-Musa, Griffith, Michels, Schneider & Frei. 2012. Grape Seed and Tea Extracts and Catechin 3-Gallates are Potent Inhibitors of α -Amylase and α -Glucosidase Activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Vol. 60(36): 8924-8929.
- Zuhro, F. 2015. Uji Aktivitas Inhibitor α -Glukosidase Ekstrak Etanol 70% Daun Kenitu (*Chrysophyllum cainito* L.). *Fakultas Farmasi Universitas Jember*.



LAMPIRAN

A. Perhitungan Penyiapan Bahan-Bahan

A.1 Larutan Dapar

a. Massa natrium dihidrogenfosfat (NaH_2PO_4) 0,1 M

$$\text{Rumus : } M = \frac{g}{\text{BM}} \times \frac{1000}{\text{mL}}$$

$$g = \frac{M \times \text{BM} \times \text{mL}}{1000}$$

$$g = \frac{0,1 \times 119,98 \times 500}{1000} = 6,90 \text{ gram dalam 500 mL akuades}$$

b. Massa natrium hidrogenfosfat (Na_2HPO_4) 0,1 M

$$\text{Rumus : } M = \frac{g}{\text{BM}} \times \frac{1000}{\text{mL}}$$

$$g = \frac{M \times \text{BM} \times \text{mL}}{1000}$$

$$g = \frac{0,1 \times 141,96 \times 600}{1000} = 15,84 \text{ gram dalam 600 mL akuades}$$

A.2 Larutan Substrat *p*-Nitrofenil- α -D-Glukopiranosida (PNPG)

a. Massa PNPG untuk larutan induk 20 mM, 10 mL

$$\text{Rumus: } \text{mM} = \frac{\text{mg}}{\text{BM}} \times \frac{1000}{\text{mL}}$$

$$\text{mg} = \frac{\text{mM} \times \text{BM} \times \text{mL}}{1000}$$

$$\text{mg} = \frac{20 \text{ mM} \times 301,25 \times 10\text{mL}}{1000} = 60,25 \text{ mg}$$

b. Pengenceran larutan induk PNPG 20 mM

$$\frac{5 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 20 \text{ mM} = 10 \text{ mM}$$

A.3 Larutan Sampel

a. Sampel ekstrak teh hitam dan teh hijau

1. $\frac{36 \text{ mg}}{100 \text{ mL}} \times 1000 = 360 \text{ } \mu\text{g/mL}$ ► ditimbang 36 mg ekstrak, dilarutkan dalam 100 mL dapar menggunakan labu ukur.
2. $\frac{32 \text{ mg}}{100 \text{ mL}} \times 1000 = 320 \text{ } \mu\text{g/mL}$ ► ditimbang 32 mg ekstrak, dilarutkan dalam 100 mL dapar menggunakan labu ukur.
3. $\frac{2 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 360 \text{ } \mu\text{g/mL} = 72 \text{ } \mu\text{g/mL}$ ► dipipet 2 mL dari larutan sampel 360 $\mu\text{g/mL}$, dimasukkan dalam labu ukur 10 mL, ditambahkan dapar hingga tepat tanda.
4. $\frac{5 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 320 \text{ } \mu\text{g/mL} = 160 \text{ } \mu\text{g/mL}$
5. $\frac{5 \text{ mL}}{25 \text{ mL}} \times 320 \text{ } \mu\text{g/mL} = 64 \text{ } \mu\text{g/mL}$
6. $\frac{5 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 160 \text{ } \mu\text{g/mL} = 80 \text{ } \mu\text{g/mL}$
7. $\frac{3 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 160 \text{ } \mu\text{g/mL} = 48 \text{ } \mu\text{g/mL}$
8. $\frac{5 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 64 \text{ } \mu\text{g/mL} = 32 \text{ } \mu\text{g/mL}$
9. $\frac{2 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 80 \text{ } \mu\text{g/mL} = 16 \text{ } \mu\text{g/mL}$
10. $\frac{1 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 80 \text{ } \mu\text{g/mL} = 8 \text{ } \mu\text{g/mL}$

A.4 Pengenceran larutan enzim 0,5 U/mL

- a. $\frac{4 \text{ mL}}{5 \text{ mL}} \times 0,5 \text{ U/mL} = 0,4 \text{ U/mL}$ ► dipipet 4 mL dari larutan enzim 0,5 U/mL, dimasukkan dalam labu ukur 5 mL, ditambahkan dapar hingga tepat tanda.
- b. $\frac{3 \text{ mL}}{5 \text{ mL}} \times 0,5 \text{ U/mL} = 0,3 \text{ U/mL}$
- c. $\frac{2 \text{ mL}}{5 \text{ mL}} \times 0,5 \text{ U/mL} = 0,2 \text{ U/mL}$
- d. $\frac{1 \text{ mL}}{5 \text{ mL}} \times 0,5 \text{ U/mL} = 0,1 \text{ U/mL}$

A.5 Larutan Akarbose

- a. $\frac{100 \text{ mg}}{5 \text{ mL}} \times 1000 = 20000 \text{ } \mu\text{g/mL}$
- b. $\frac{50 \text{ mg}}{5 \text{ mL}} \times 1000 = 10000 \text{ } \mu\text{g/mL}$
- c. $\frac{125 \text{ mg}}{25 \text{ mL}} \times 1000 = 5000 \text{ } \mu\text{g/mL}$
- d. $\frac{50 \text{ mg}}{25 \text{ mL}} \times 1000 = 2000 \text{ } \mu\text{g/mL}$
- e. $\frac{25 \text{ mg}}{5 \text{ mL}} \times 1000 = 1000 \text{ } \mu\text{g/mL}$

A.6 Massa Natrium Karbonat (Na_2CO_3) 0,2 M

$$\text{Rumus : } M = \frac{\text{g}}{\text{BM}} \times \frac{1000}{\text{mL}}$$

$$\text{g} = \frac{M \times \text{BM} \times \text{mL}}{1000}$$

$$\text{g} = \frac{0,2 \times 106 \times 50}{1000} = 1,06 \text{ gram dalam } 50 \text{ mL akuades.}$$

A.7 Bobot Rendemen Ekstrak Teh

- a. Teh Hitam = $\frac{22,1 \text{ g}}{100 \text{ g}} \times 100\% = 22,1 \%$
- b. Teh Hijau = $\frac{18,25 \text{ g}}{100 \text{ g}} \times 100\% = 18,25 \%$

B. Optimasi Konsentrasi Enzim

Konsentrasi Enzim (U/mL)	Replikasi	Abs	Blanko	Abs-Blanko	Rata-rata
0,1	1	0,057	0,052	0,005	0,0063
	2	0,06	0,055	0,005	
	3	0,061	0,052	0,009	
0,2	1	0,059	0,044	0,015	0,0163
	2	0,06	0,044	0,016	
	3	0,06	0,042	0,018	
0,3	1	0,075	0,055	0,02	0,024
	2	0,08	0,055	0,025	
	3	0,067	0,04	0,027	
0,4	1	0,455	0,044	0,411	0,4347
	2	0,505	0,064	0,441	
	3	0,466	0,044	0,422	
0,5	1	0,596	0,04	0,556	0,647
	2	0,729	0,052	0,677	
	3	0,783	0,075	0,708	

C. Hasil Uji Aktivitas

C.1 Hasil Uji Aktivitas Inhibisi Enzim α -Glukosidase

$$\text{Inhibisi (\%)} = \frac{\text{Absorbansi kontrol negatif} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol negatif}} \times 100\%$$

$$\text{IC}_{50} \triangleright y=bx+a \triangleright \frac{50-a}{b}$$

a. Akarbose

Konsentrasi	S ₁			S ₀			S=S ₁ -S ₀			%Inhibisi			Rata2 inhibisi		IC ₅₀ (µg/mL)			
	R ₁	R ₂	R ₃	R ₁	R ₂	R ₃	R ₁	R ₂	R ₃	R ₁	R ₂	R ₃	%	SD	R ₁	R ₂	R ₃	
KN	0,445	0,513	0,513	0,180	0,203	0,208	0,265	0,31	0,305									
1000	0,413	0,452	0,412	0,226	0,205	0,205	0,187	0,247	0,207	29,43	20,32	32,13	27,30	6,19				
2000	0,367	0,477	0,388	0,218	0,233	0,215	0,149	0,244	0,173	43,77	21,29	43,28	36,11	12,84	7180,00	7133,33	7020,00	
5000	0,358	0,321	0,362	0,235	0,221	0,22	0,123	0,1	0,142	53,58	67,74	53,44	58,26	8,21				
10000	0,344	0,318	0,342	0,230	0,228	0,221	0,114	0,09	0,121	56,98	70,97	60,33	62,76	7,30				
20000	0,292	0,292	0,270	0,236	0,236	0,221	0,056	0,056	0,049	78,87	81,94	83,93	81,58	2,55				
															Rata-rata IC₅₀ (µg/mL)			
															µg/mL	SD	CV	
															7111,11	82,28	1,16%	

Keterangan : S₁= absorbansi larutan uji; S₀= absorbansi blanko larutan uji; R= replikasi; KN= kontrol negatif

b. Teh Hitam

Konsentrasi	S ₁			S ₀			S=S ₁ -S ₀			%Inhibisi			Rata2 inhibisi		IC ₅₀ (µg/mL)			
	R ₁	R ₂	R ₃	R ₁	R ₂	R ₃	R ₁	R ₂	R ₃	R ₁	R ₂	R ₃	%	SD	R ₁	R ₂	R ₃	
KN	0,257	0,388	0,369	0,062	0,164	0,164	0,195	0,224	0,205									
16	0,239	0,44	0,399	0,066	0,225	0,197	0,173	0,215	0,202	11,28	4,02	1,46	5,59	5,09				
32	0,187	0,4	0,362	0,066	0,238	0,172	0,121	0,162	0,19	37,95	27,68	7,32	24,31	15,59	54,94	56,00	53,63	
48	0,174	0,333	0,32	0,066	0,2	0,202	0,108	0,133	0,118	44,62	40,63	42,44	42,56	2,00				
64	0,155	0,321	0,222	0,07	0,189	0,174	0,085	0,132	0,048	56,41	41,07	76,59	58,02	17,81				
72	0,141	0,208	0,231	0,068	0,168	0,168	0,073	0,04	0,063	62,56	82,14	69,27	71,33	9,95				
															Rata-rata IC₅₀ (µg/mL)			
															µg/mL	SD	CV	
															54,86	1,19	2,17%	

Keterangan : S₁= absorbansi larutan uji; S₀= absorbansi blanko larutan uji; R= replikasi; KN= kontrol negatif

c. Teh Hijau

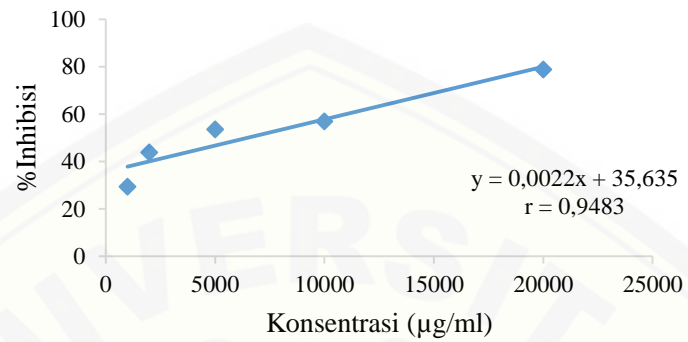
Konsentrasi	S ₁			S ₀			S=S ₁ -S ₀			%Inhibisi			Rata2 inhibisi		IC ₅₀ (µg/mL)			
	R ₁	R ₂	R ₃	R ₁	R ₂	R ₃	R ₁	R ₂	R ₃	R ₁	R ₂	R ₃	%	SD	R ₁	R ₂	R ₃	
KN	0,252	0,257	0,388	0,062	0,062	0,164	0,19	0,195	0,224									
16	0,232	0,232	0,36	0,068	0,064	0,199	0,164	0,168	0,161	13,68	13,85	28,13	18,55	8,29	43,03	46,27	45,08	
32	0,164	0,191	0,341	0,058	0,063	0,206	0,106	0,128	0,135	44,21	34,36	39,73	39,43	4,93				
48	0,138	0,177	0,316	0,064	0,064	0,187	0,074	0,113	0,129	61,05	42,05	42,41	48,50	10,87				
64	0,137	0,122	0,248	0,066	0,066	0,173	0,071	0,056	0,075	62,63	71,28	66,52	66,81	4,33				
72	0,097	0,092	0,219	0,076	0,073	0,171	0,021	0,019	0,048	88,95	90,26	78,57	85,93	6,40				
																		Rata-rata IC₅₀ (µg/mL)
															µg/mL	SD	CV	
															44,79	1,64	3,67%	

Keterangan : S₁= absorbansi larutan uji; S₀= absorbansi blanko larutan uji; R= replikasi; KN= kontrol negatif

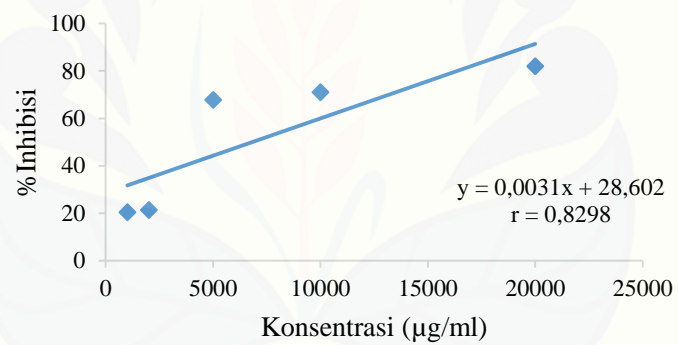
C.2 Kurva Konsentrasi Sampel Vs % Inhibisi

a. Akarbose

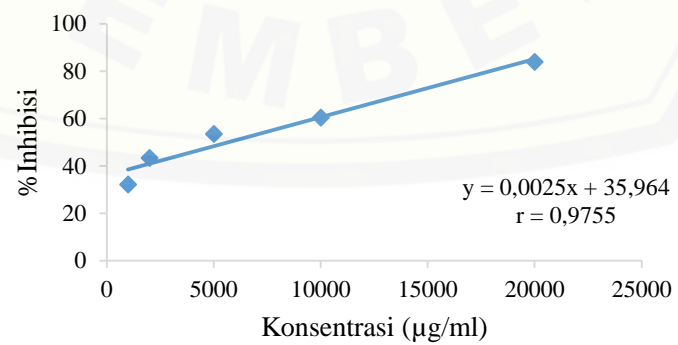
Replikasi 1



Replikasi 2

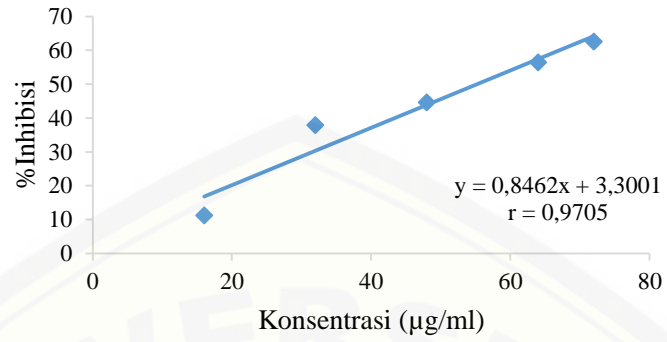


Replikasi 3

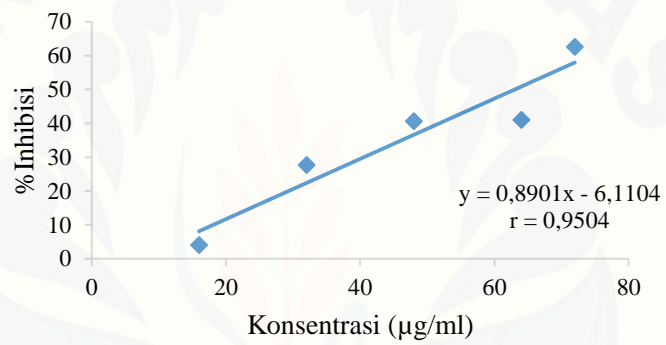


b. Teh Hitam

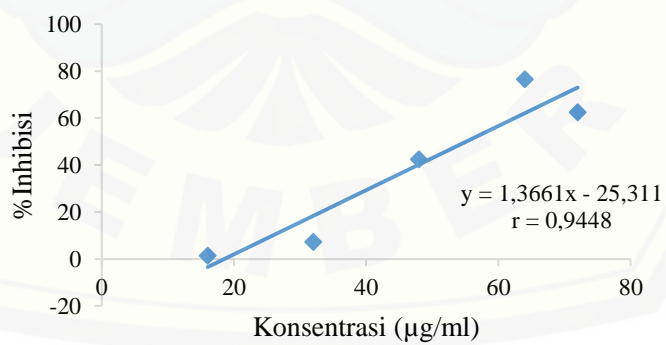
Replikasi 1



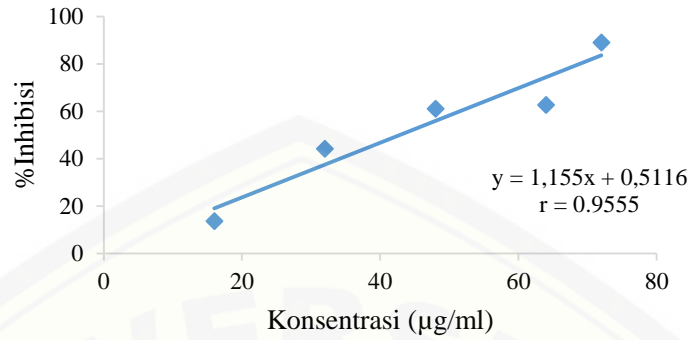
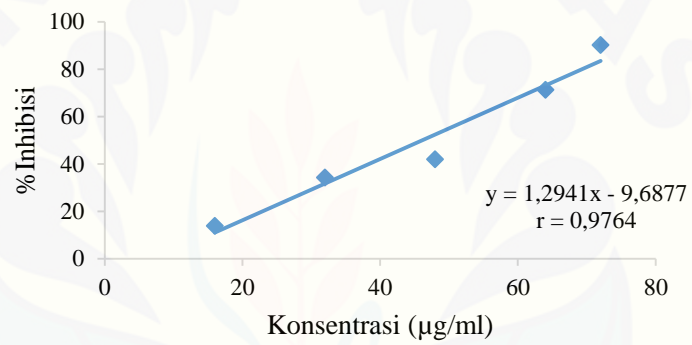
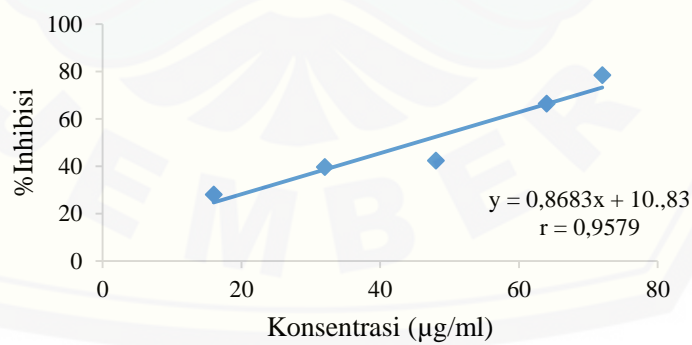
Replikasi 2



Replikasi 3



c. Teh Hijau

Replikasi 1**Replikasi 2****Replikasi 3**

D. Data Analisis Statistik T-Test**D.1 Kelompok Teh Hitam Dan Teh Hijau****Kelompok****Tests of Normality**

Kelompok	Kolmogorov -Smirnov ^a	Shapiro-Wilk				
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df
IC50 Hitam	.195	3	.	.996	3	.882
IC50 Hijau	.236	3	.	.977	3	.709

a. Lilliefors Significance Correction

T-Test**Independent Samples Test**

	Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
	F	Sig.	t	df	Sig. (2- tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
								Lower	Upper
Equal variances assumed	.378	.572	8.602	4	.001	10.064000	1.169978	6.815621	13.312379
Equal variances not assumed			8.602	3.644	.002	10.064000	1.169978	6.686751	13.441249