



**UJI HAMBATAN ENZIM ALFA-GLUKOSIDASE DARI FRAKSI ETIL
ASETAT BEBERAPA VARIAN BUAH KENITU (*Chrysophyllum cainito* L.):
SAMPEL BUAH SEGAR**

SKRIPSI

Oleh

Tanjung Prabandari

NIM 132210101109

FAKULTAS FARMASI

UNIVERSITAS JEMBER

2017



**UJI HAMBATAN ENZIM ALFA-GLUKOSIDASE DARI FRAKSI ETIL
ASETAT BEBERAPA VARIAN BUAH KENITU (*Chrysophyllum cainito* L.):
SAMPEL BUAH SEGAR**

SKRIPSI

Diajukan untuk melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan di fakultas farmasi (S1) dan mencapai gelar Sarjana Farmasi

Oleh

Tanjung Prabandari

NIM 132210101109

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS JEMBER**

2017

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk :

1. Ibunda Yuli Ernawati dan Ayahanda Farizal Iswandi tercinta, yang selalu ada dan selalu memberi dukungan serta semangat kepada saya.
2. Bapak dan Ibu guru yang telah membimbing saya dan memberikan ilmunya sedari TK Dharma Indria II, SDN Sumbersari III, SMPN 3 Jember, SMAN 1 Jember dan Fakultas Farmasi Universitas Jember.
3. Almamater tercinta Fakultas Farmasi Universitas Jember

MOTTO

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

(QS. Al-Insyirah: 6-8)

“Jadikanlah sabar dan sholat sebagai penolongmu. Dan sesungguhnya yang demikian itu sungguh berat, kecuali bagi orang-orang yang khusyu”

(QS. Al-Baqarah: 45)

“Pengalaman adalah apa yang kita dapatkan ketika kita tidak mendapatkan apa yang kita inginkan.”

(Enio Carvalho)

“Ambillah kebaikan dari apa yang dikatakan, jangan melihat siapa yang mengatakannya.”

(Nabi Muhammad SAW)

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Tanjung Prabandari

NIM : 132210101109

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul: Uji Hambatan Enzim Alfa-Glukosidase dari Fraksi Etil Asetat beberapa Varian Buah Kenitu (*Chrysophyllum cainito L.*) : Sampel Buah Segar adalah benar – benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada instansi manapun, serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

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

Jember, 31 Juli 2017

Yang menyatakan,

(Tanjung Prabandari)

NIM 132210101109

SKRIPSI

**UJI HAMBATAN ENZIM ALFA-GLUKOSIDASE DARI FRAKSI ETIL
ASETAT BEBERAPA VARIAN BUAH KENITU (*Chrysophyllum cainito*L.) :
SAMPEL BUAH SEGAR**

Oleh:

Tanjung Prabandari

NIM 132210101109

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Indah Yulia Ningsih, S.Farm., M.Farm., Apt.

Dosen Pembimbing Anggota : Bawon Triatmoko, S.Farm., M.Sc., Apt.

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Uji Hambatan Enzim Alfa-Glukosidase dari Fraksi Etil Asetat Beberapa Varian Buah Kenitu (*Chryshophyllum cainito* L.) : Sampel Buah Segar” telah diuji dan disahkan pada:

hari, tanggal : Rabu, 26 Juli 2017

tempat : Fakultas Farmasi Universitas Jember

Tim Penguji

Ketua,

Anggota I

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

Bawon Triatmoko, S.Farm., M.Sc., Apt.
NIP 198201292009121003

Anggota II,

Anggota III,

Dewi Dianasari, S.Farm., M.Farm., Apt.
NIP 198712082014042002

Indah Purnama Sary, S.Si., M.Farm., Apt.
NIP 198304282008122004

Mengesahkan
Dekan,

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

RINGKASAN

Uji Hambatan Enzim Alfa-Glukosidase dari Fraksi Etil Asetat Beberapa Varian Buah Kenitu (*Chrysophyllum cainito* L.) : Sampel Buah Segar; Tanjung Prabandari; 132210101109; 2017; 114 halaman; Fakultas Farmasi Universitas Jember

Diabetes melitus merupakan penyakit gangguan metabolik menahun akibat rusaknya pankreas yang tidak mampu memproduksi insulin dalam jumlah yang mencukupi atau tubuh tidak mampu menggunakan insulin yang telah diproduksi dengan sebagaimana mestinya. Diabetes melitus merupakan suatu kelainan kadar glukosa dalam darah yang masuk dalam sepuluh besar penyakit di Indonesia dan jumlah penderitanya terus meningkat seiring berjalannya waktu. Hal ini menyebabkan perlunya pengembangan obat dalam mengatasi diabetes melitus. Pada penelitian ini penulis menguji aktivitas buah kenitu (*Chrysophyllum cainito* L.) yang berpotensi sebagai antidiabetes dengan mekanisme penghambatan enzim alfa-glukosidase karena adanya kandungan senyawa polifenol, flavonoid, steroid, dan triterpenoid yang memiliki aktivitas inhibisi alfa-glukosidase. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui kandungan senyawa kimia dan aktivitas penghambatan enzim alfa-glukosidase dari fraksi etil asetat buah kenitu varian bulat besar (BB), bulat kecil (BK), hijau lonjong (HL) dan ungu (U) yang diambil dari Jember dan Lumajang.

Penelitian ini merupakan penelitian *eksperimental laboratories* yang dilakukan di laboratorium Fitokimia bagian Biologi Farmasi. Masing-masing varian buah kenitu diekstraksi dengan metanol difraksinasi dengan n-heksana dan etil asetat, kemudian dipekatkan hingga diperoleh fraksi etil asetat kental. Identifikasi golongan senyawa kimia dilakukan berdasarkan KLT. Uji aktivitas penghambatan enzim alfa-glukosidase dilakukan berdasarkan prinsip spektrofotometri menggunakan *microplate reader*. Nilai IC_{50} diperoleh menggunakan analisis probit. Sedangkan analisis data dilakukan menggunakan uji one-way ANOVA dan LSD.

Berdasarkan identifikasi golongan senyawa kimia yang dilakukan, fraksi etil asetat buah kenitu varian BB, BK, HL dan U mengandung senyawa alkaloid, fenolik, flavonoid, steroid, dan triterpenoid. Nilai IC_{50} fraksi etil asetat daun kenitu varian BB, BK, HL dan U berturut-turut yaitu $3,767 \pm 0,1778 \mu\text{g/mL}$; $2,159 \pm 0,0345 \mu\text{g/mL}$; $2,745 \pm 0,1465 \mu\text{g/mL}$; dan $0,895 \pm 0,0132 \mu\text{g/mL}$.

Dalam penelitian ini diketahui bahwa semua varian daun kenitu memiliki aktivitas penghambatan enzim alfa-glukosidase yang berasal dari *Saccharomyces cerevisiae*. Senyawa yang terkandung dalam fraksi etil asetat buah kenitu diduga memberikan aktivitas inhibisi alfa-glukosidase. Namun, masih perlu pembuktian lebih lanjut dengan mengisolasi senyawa kimia dalam fraksi etil asetat buah kenitu yang disertai dengan pengujian aktivitas inhibisi alfa-glukosidase dari masing-masing senyawa isolat.

PRAKATA

Puji syukur kehadirat Allah SWT atas rahmat dan karunia-Nya kepada penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Uji Hambatan Enzim Alfa-Glukosidase Fraksi Etil Asetat dari Beberapa Varian Buah Kenitu (*Chrysophyllum cainito* L.): Sampel Buah Segar”. Sholawat serta salam semoga tetap tercurahkan kepada Nabi Muhammad SAW beserta keluarga dan sahabatnya. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) Fakultas Farmasi Universitas Jember.

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

1. Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember, Ibu Lestyo Wulandari S.Farm., M.Farm., Apt. atas kesempatan yang diberikan kepada penulis untuk menyelesaikan skripsi ini.
2. Dosen pembimbing akademik penulis, Bapak Dwi Nurrahmanto, S.Farm., M.Sc., Apt. yang selalu membimbing penulis dalam menempuh pendidikan.
3. Ibu Indah Yulia Ningsih, S.Farm., M.Farm., Apt. selaku dosen pembimbing utama dan Bapak Bawon Triatmoko, S.Farm., M.Farm., Apt. selaku dosen pembimbing anggota yang telah meluangkan waktu, pikiran, tenaga, dan perhatiannya dalam membantu dan membimbing penulis hingga akhir penyusunan skripsi ini.

4. Bapak Moch. Amrun Hidayat, yang telah meluangkan waktu, materi, pikiran, tenaga, dan perhatiannya dalam membantu dan membimbing penulis hingga akhir penyusunan skripsi ini.
5. Ibu Dewi Dianasari S.Farm., M.Farm., Apt. dan Ibu Indah Purnama Sary, S.Farm., M.Farm., Apt. yang telah meluangkan waktu untuk menguji dan mengevaluasi skripsi ini.
6. Bapak dan Ibu dosen Fakultas Farmasi Universitas Jember yang tanpa lelah telah mengamalkan ilmunya dan memperluas ilmu pengetahuan serta wawasan penulis selama menempuh masa kuliah.
7. Pimpinan dan para karyawan Fakultas Farmasi Universitas Jember atas bantuannya selama penulis belajar di Fakultas Farmasi Universitas Jember.
8. Kedua orang tua penulis, Ibunda Yuli Ernawati dan Ayahanda Farizal Iswandi atas perhatian, kasih sayang, dan doa yang tiada henti.
9. Laboran biologi, Bu Widi dan Mbak Parka yang selalu membantu selama penulis melakukan penelitian.
10. *The one and only partner* kenitu, *my first friend in college*, Via Lachtheany yang selalu memberi semangat dan perhatian, selalu membantu serta selalu menghibur penulis selama melakukan penelitian hingga menyelesaikan skripsi ini.
11. Partner penulis, Ahcmad Subhan Zainuri, yang selalu bersedia membantu apapun, selalu menjadi tempat keluh kesah penulis, yang selalu memberi semangat serta dukungan kepada penulis sejak mahasiswa baru hingga menyelesaikan skripsi ini.
12. Sahabat stasiun TVRI, Via Lachtheany, Intan Nur Sa'adah, dan Kirana Rifrianasari atas perhatian dan kasih sayang yang tiada henti, yang selalu ada,

selalu memberi semangat dan menghibur, serta selalu menjadi tempat keluh kesah penulis sejak menjadi mahasiswa baru hingga sekarang.

13. Sahabat nyinyir Sebongkah Upil, Putri Khairunnisa, Dini Syarifah dan Firda Ratna Safitri atas perhatian yang lebih, atas kebersamaan dan kekompakannya, yang selalu ada, selalu menjadi tempat keluh kesah penulis selama kuliah hingga menyelesaikan tugas akhir ini.
14. Sahabat biologi farmasi, Via, Cak Oyum, Intan, Mbak Nadia, Mbak Lisa, Mbak Raghda, Mbak Siti, Riza, Wahyu, Zul, Wulan, Wilda, dan Mbak Terry yang selalu meramaikan laboratorium selama penulis melakukan penelitian.
15. Sahabat ulala dari jaman ingusan sampai sekarang, Intan, Rika, dan Nirmala yang selalu menghibur dan selalu memberikan keceriaan.
16. Teman seperjuangan Farmasetamol 2013 yang telah memberikan dukungan serta semangat.
17. Teman-teman KKN 049 (Jeni, Putri, Lutfi, Maknung, Och, Ruth, Bapakardhy, Dadang dan Masyud), Ds. Sumberjambe, Kec. Sumberjambe, Kabupaten Jember.
18. Serta semua pihak yang tidak bisa saya sebutkan satu persatu atas bantuan dan perhatiannya baik langsung maupun tidak langsung serta inspirasi bagi penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.

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

DAFTAR ISI

	halaman
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
HALAMAN MOTTO	iv
HALAMAN PERNYATAAN	v
HALAMAN PEMBIMBINGAN	vi
HALAMAN PENGESAHAN	vii
RINGKASAN	viii
PRAKATA	x
DAFTAR ISI	xiii
DAFTAR GAMBAR	xvi
DAFTAR TABEL	xvii
DAFTAR LAMPIRAN	xviii
BAB 1. PENDAHULUAN	
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	4
1.3. Tujuan	4
1.4. Manfaat	5
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Kenitu	6
2.1.1 Deskripsi dan klasifikasi kenitu	6
2.1.2 Morfologi kenitu	6
2.1.3 Manfaat dan kegunaan kenitu	9
2.1.4 Kandungan kimia kenitu	9

2.2 Ekstraksi dan Fraksinasi.....	11
2.2.1 Ekstraksi.....	11
2.2.2 Fraksinasi.....	12
2.3 Diabetes Melitus	13
2.3.1 Definisi	13
2.3.2 Klasifikasi Diabetes Melitus.....	13
2.3.3 Diagnosis Diabetes Melitus.....	14
2.3.4 Penataksanaan Diabetes Melitus.....	15
2.4 Enzim Alfa-Glukosidase	17
2.5 Inhibitor Enzim Alfa-Glukosidase.....	17
2.6 Uji Aktivitas Inhibitor Alfa-Glukosidase.....	19

BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian	20
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian	20
3.3 Variabel Penelitian	20
3.4 Definisi Operasional.....	20
3.5 Bahan dan Alat Penelitian.....	21
3.5.1 Bahan.....	21
3.5.2 Alat.....	22
3.6 Prosedur Penelitian	22
3.6.1 Penyiapan sampel tanaman.....	22
3.6.2 Penyiapan Sampel	22
3.6.3 Ekstraksi	23
3.6.4 Fraksinasi.....	23
3.6.5 Identifikasi golongan senyawa kimia.....	23
3.6.6 Uji Pendahuluan Reaksi Enzimatis	25
3.6.7 Uji Aktivitas Inhibitor Alfa-Glukosidase	28

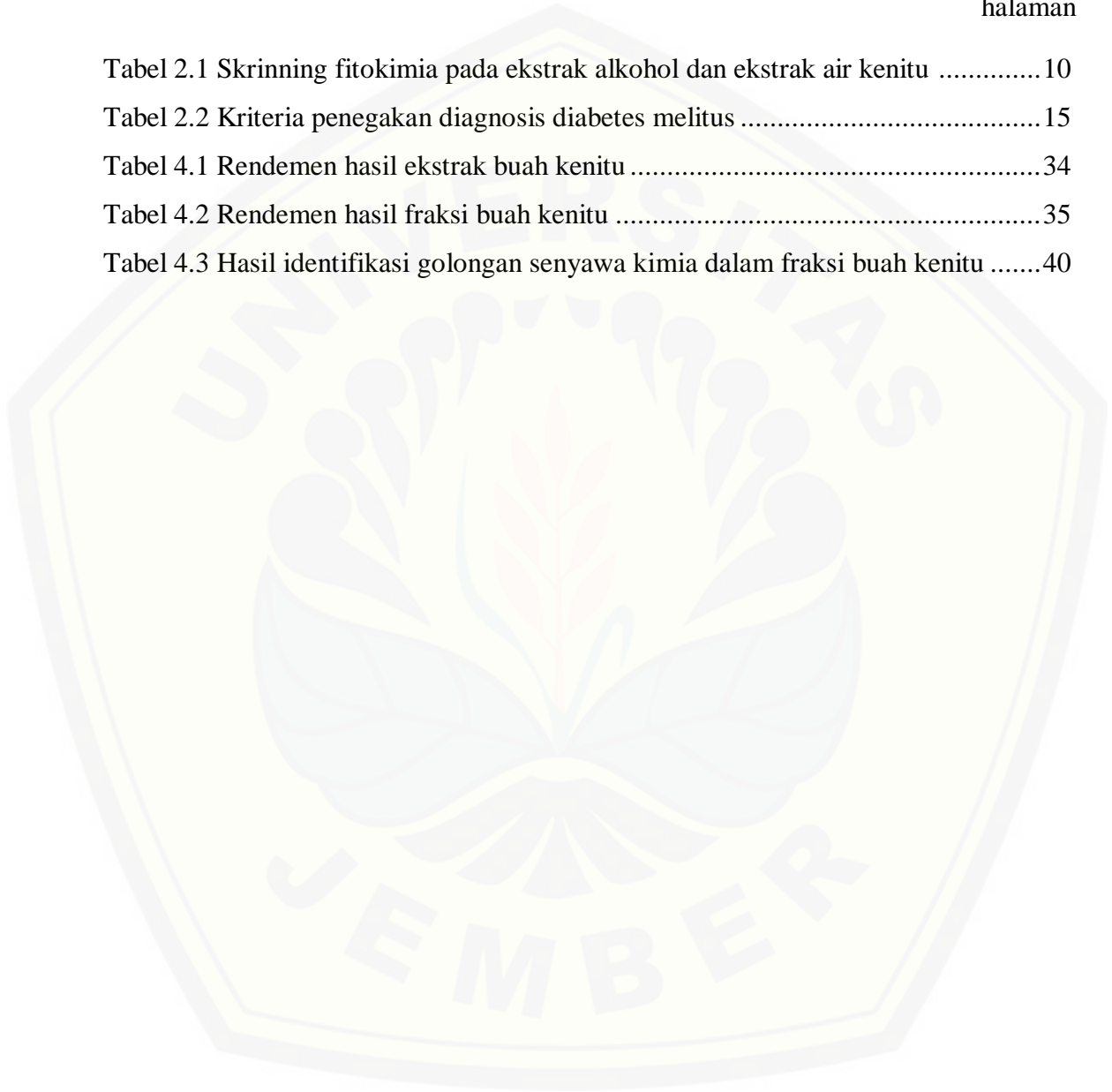
3.7 Analisis Data	31
3.8 Skema Penelitian	32
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1 Ekstraksi	34
4.2 Fraksinasi.....	35
4.3 Identifikasi Golongan Senyawa Kimia	35
4.4 Uji Pendahuluan Reaksi Enzimatis	41
4.5 Uji Aktivitas Hambatan Enzim Alfa-Glukosidase	44
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN	
5.1 Kesimpulan	50
5.2 Saran	50
DAFTAR PUSTAKA	51
LAMPIRAN	59

DAFTAR GAMBAR

	halaman
Gambar 2.1 Pohon kenitu (<i>Chrysophyllum cainito</i> L.).....	7
Gambar 2.2 Buah kenitu (<i>Chrysophyllum cainito</i> L.).....	8
Gambar 2.3 Mekanisme penghambatan enzim alfa-g;ukosidase	16
Gambar 2.4 Reaksi antara substrat pNPG dan enzim alfa-glukosidase	19
Gambar 3.2 Skema uji aktivitas inhibisi enzim alfa-glukosidase	32
Gambar 3.3 Skema fraksinasi ekstrak buah kenitu.....	33
Gambar 4.1 Hasil identifikasi golongan senyawa alkaloid	36
Gambar 4.2 Hasil identifikasi golongan senyawa flavonoid.....	37
Gambar 4.3 Hasil identifikasi golongan senyawa polifenol	38
Gambar 4.4 Hasil identifikasi golongan senyawa steroid bebas	38
Gambar 4.5 Hasil identifikasi golongan senyawa triterpenoid	39
Gambar 4.6 Kurva scanning panjang gelombang.....	41
Gambar 4.7 Kurva hasil optimasi waktu inkubasi.....	42
Gambar 4.8 Kurva hasil optimasi konsentrasi enzim	43
Gambar 4.9 Kurva hasil optimasi konsentrasi substrat.....	44
Gambar 4.10 Kurva % inhibisi alfa-glukosidase buah kenitu varian BB, BK, HL dan U	46
Gambar 4.11 Grafik IC50 aktivitas penghambatan enzim alfa-glukosidase empat varian buah kenitu	47
Gambar 4.12 Struktur senyawa flavonoid.....	49

DAFTAR TABEL

	halaman
Tabel 2.1 Skrinning fitokimia pada ekstrak alkohol dan ekstrak air kenitu	10
Tabel 2.2 Kriteria penegakan diagnosis diabetes melitus	15
Tabel 4.1 Rendemen hasil ekstrak buah kenitu	34
Tabel 4.2 Rendemen hasil fraksi buah kenitu	35
Tabel 4.3 Hasil identifikasi golongan senyawa kimia dalam fraksi buah kenitu	40



DAFTAR LAMPIRAN

halaman

LAMPIRAN A. PERHITUNGAN PENYIAPAN BAHAN-BAHAN

Lampiran A.1. Larutan Dapar	59
Lampiran A.2 Larutan Substrat pNPG.....	59
Lampiran A.3 Larutan Natrium Karbonat.....	60
Lampiran A.4 Pengenceran Larutan Enzim 0,5 U/mL	60
Lampiran A.5 Pengenceran Sampel Fraksi Etil Asetat Berbagai Varian	60
Lampiran A.6 Pengenceran Akarbose	61
Lampiran A.7 Bobot Rendemen Ekstrak Buah Kenitu.....	61
Lampiran A.8 Bobot Rendemen Fraksi Buah Kenitu.....	62

LAMPIRAN B. DATA HASIL UJI PENDAHULUAN REAKSI ENZIMATIS

Lampiran B.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum	63
Lampiran B.2 Optimasi Waktu Inkubasi	66
Lampiran B.3 Optimasi Konsentrasi Enzim.....	67
Lampiran B.4 Optimasi Konsentrasi Substrat.....	68

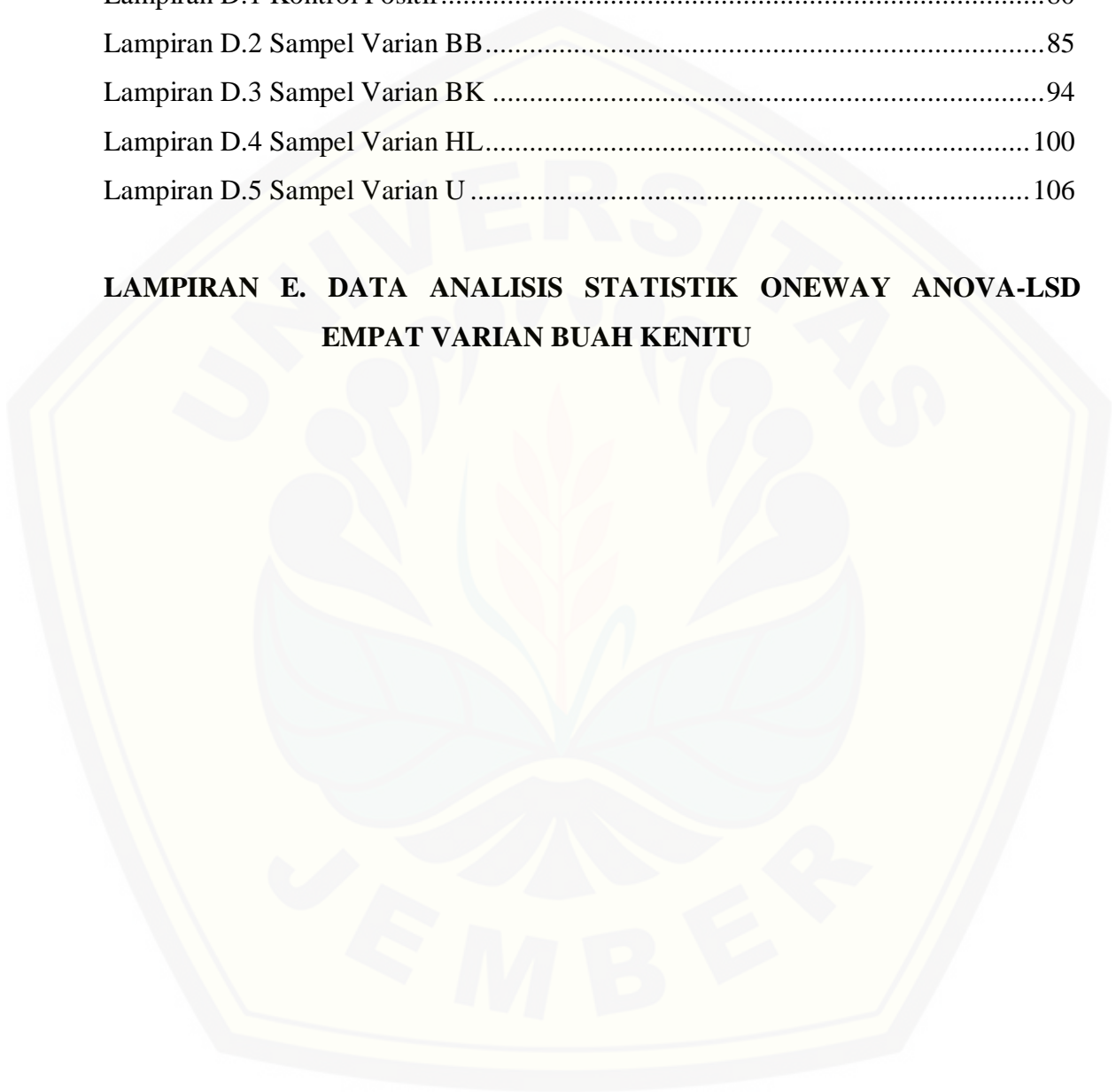
**LAMPIRAN C. DATA HASIL UJI AKTIVITAS HAMBATAN ENZIM ALFA-
GLUKOSIDASE**

Lampiran C.1 Kontrol Negatif	69
Lampiran C.2 Kontrol Positif.....	69
Lampiran C.3 Sampel Varian BB	71
Lampiran C.4 Sampel Varian BK.....	73
Lampiran C.5 Sampel Varian HL.....	75
Lampiran C.6 Sampel Varian U	77
Lampiran C.7 Nilai IC ₅₀ Fraksi Etil Asetat Buah Kenitu	79

**LAMPIRAN D. DATA ANALISIS PROBIT Uji AKTIVITAS HAMBATAN
ENZIM ALFA-GLUKOSIDASE**

Lampiran D.1 Kontrol Positif.....	80
Lampiran D.2 Sampel Varian BB.....	85
Lampiran D.3 Sampel Varian BK	94
Lampiran D.4 Sampel Varian HL.....	100
Lampiran D.5 Sampel Varian U	106

**LAMPIRAN E. DATA ANALISIS STATISTIK ONEWAY ANOVA-LSD
EMPAT VARIAN BUAH KENITU**



BAB 1.PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Seiring berkembangnya zaman, pola penyakit masyarakat telah bergeser dari penyakit infeksi dan kekurangan gizi ke arah penyakit degeneratif, salah satunya adalah diabetes melitus. Diabetes melitus merupakan penyakit gangguan metabolik menahun akibat rusaknya pankreas yang tidak mampu memproduksi insulin dalam jumlah yang mencukupi atau tubuh tidak mampu menggunakan insulin yang telah diproduksi dengan sebagaimana mestinya. Berbagai penelitian menunjukkan bahwa di dunia maupun di Indonesia terjadi kecenderungan peningkatan prevalensi diabetes melitus (Rottie, 2016).

Berdasarkan laporan *World Health Organization* (WHO), prevalensi penderita diabetes selalu meningkat. Pada tahun 2000, terdapat 171 juta penderita diabetes di dunia dan diperkirakan meningkat hingga 366 juta pada tahun 2030. Di Indonesia, kasus diabetes melitus ini masih menjadi persoalan kesehatan yang serius. Indonesia merupakan negara ke-4 dengan prevalensi penderita diabetes tertinggi setelah Cina, Amerika dan India. Data WHO memperkirakan jumlah penderita diabetes melitus tipe 2 di Indonesia akan meningkat signifikan hingga 21,3 juta jiwa pada 2030 mendatang (WHO, 2007). Menurut IDF (*Internasional Diabetes Federation*) ada 382 juta penderita diabetes melitus pada tahun 2013 di Indonesia. Jumlah ini diperkirakan mencapai 592 juta penderita pada tahun 2035. Diperkirakan sekitar 172 dari 382 penderita tidak terdiagnosis sehingga resiko komplikasinya lebih tinggi (Kemenkes RI, 2015).

Diabetes melitus merupakan penyakit yang memiliki komplikasi atau menyebabkan terjadinya penyakit lain. Komplikasi diabetes melitus yang sering terjadi antara lain penyebab utama gagal ginjal, diabetes retinopati, neuropati (kerusakan syaraf) di kaki yang meningkatkan kejadian ulkus kaki, infeksi dan bahkan keharusan untuk amputasi kaki. Prevalensi kematian penderita diabetes

melitus dengan stroke dan tekanan darah tinggi adalah dua kali lipat lebih tinggi dibanding penderita diabetes melitus saja (Eliana, 2015).

Pengobatan diabetes melitus merupakan pengobatan yang terus-menerus dan menahun. Pengobatan diabetes melitus yang sering digunakan adalah dengan menggunakan obat oral. Salah satu mekanisme kerja obat antidiabetes adalah sebagai inhibitor katabolisme karbohidrat, yaitu enzim alfa-glukosidase. Inhibitor alfa-glukosidase bekerja menghambat enzim alfa-glukosidase yang terdapat pada dinding usus halus. Inhibisi kerja enzim ini secara efektif dapat mengurangi pencernaan karbohidrat kompleks, sehingga memperlambat absorpsi glukosa ke dalam darah dan mengurangi peningkatan kadar glukosa setelah makan pada penderita diabetes melitus. Kerja enzim ini tidak menyebabkan efek samping hipoglikemik (Muchid dkk., 2005).

Banyak obat-obat antidiabetik yang fungsinya sebagai penghambat enzim alfa-glukosidase, salah satu contohnya adalah akarbose. Akarbose ini memiliki efek samping utama seperti diare, perut kembung, dan terasa tidak nyaman (Lebovitz, 1997). Banyak penelitian yang membuktikan bahwa berbagai senyawa dalam tumbuhan berpotensi sebagai penghambat enzim alfa-glukosidase. Salah satu golongan senyawa dalam tumbuhan yang dapat berfungsi sebagai penghambat enzim alfa-glukosidase adalah senyawa polifenol (Patel dkk., 2012).

Senyawa polifenol adalah senyawa yang penting bagi manusia karena memiliki berbagai aktivitas biologi seperti antibakteri, antikanker, dan antioksidan. Polifenol bersifat antioksidan yang mampu melindungi sel beta-pankreas dari reaksi peroksidase berantai yang disebabkan oleh ROS (Patel dkk., 2012). Selain bersifat sebagai antioksidan, polifenol memiliki kemampuan mengikat protein sehingga dapat menghambat enzim pengurai karbohidrat seperti alfa-glukosidase yang berkontribusi terhadap hiperglikemia *post-prandial* (Griffiths dan Moseley, 1980). Polifenol dalam berbagai tumbuhan seperti teh hijau, buah beri dan ketela rambat diketahui menghambat enzim pengurai karbohidrat seperti sukrase, alfa-amilase dan alfa-

glukosidase (Hara dan Honda, 1992; Matsui dkk., 1996; McDougall dan Stewart, 2005).

Banyak tanaman yang memiliki aktivitas sebagai inhibitor enzim alfa-glukosidase, salah satunya adalah tanaman kenitu (*Chrysophyllum cainito*). Kenitu banyak tumbuh di Pulau Jawa bagian hilir dan daerah pegunungan rendah (Heyne, 1987). Koffi dkk. (2009) menyatakan bahwa tanaman kenitu dapat digunakan sebagai antidiabetes oleh masyarakat Ivory Coast, Afrika. Buah kenitu mengandung senyawa polifenol antioksidan seperti katekin, epikatekin, galokatekin, epigalokatekin, kuersetin, kuersitrin, isokuersitrin, mirisitrin, dan asam galat. Pada fraksi etil asetat buah kenitu mengandung berbagai polifenol antioksidan (Luo dkk., 2002). Buah kenitu juga mengandung senyawa flavonoid seperti rutin, mirisetin, luteolin, kuersetin, apigenin, dan kamferol (Pino dkk., 2002). Berdasarkan skrining fitokimia yang dilakukan oleh Mao dkk. (2015) pada ekstrak alkohol dan ekstrak air, buah kenitu positif mengandung glikosida, alkaloid, flavonoid, saponin dan karbohidrat.

Penelitian terkini tentang kenitu telah dilakukan oleh Zuhro (2015), Hikmah (2015) dan Putri (2015). Penelitian Zuhro (2015) menyatakan bahwa ekstrak etanol daun kenitu varian merah (M), hijau lonjong (HL), bulat besar (BB), dan bulat kecil (BK) memiliki aktivitas hambatan alfa-glukosidase dengan nilai IC_{50} secara berturut-turut sebesar 11,86 $\mu\text{g/ml}$; 9,465 $\mu\text{g/ml}$; 4,869 $\mu\text{g/ml}$ dan 5,476 $\mu\text{g/ml}$. Penelitian Hikmah (2015) menyatakan bahwa fraksi etanol daun kenitu yang sama juga memiliki aktivitas hambatan alfa-glukosidase dengan nilai IC_{50} secara berturut-turut sebesar 0,932 $\mu\text{g/ml}$; 0,280 $\mu\text{g/ml}$; 0,287 $\mu\text{g/ml}$ dan 0,285 $\mu\text{g/ml}$. Adapun penelitian Putri (2015) menyatakan bahwa fraksi etil asetat daun kenitu memiliki aktivitas hambatan alfa-glukosidase dengan nilai IC_{50} secara berturut-turut sebesar 0,185 $\mu\text{g/ml}$; 0,327 $\mu\text{g/ml}$; 0,352 $\mu\text{g/ml}$ dan 0,372 $\mu\text{g/ml}$. Berdasarkan ketiga penelitian tersebut, dapat diketahui bahwa pada fraksi etil asetat varian M memiliki aktivitas yang paling besar dengan nilai IC_{50} sebesar 0,185 $\mu\text{g/ml}$ dibandingkan dengan varian lainnya dari fraksi etanol dan ekstrak etanol.

Penelitian tentang buah kenitu sebagai penghambat enzim alfa-glukosidase masih sedikit. Ningsih dkk. (2015) menyatakan bahwa ekstrak etanol buah kenitu varian BB, BK, dan HL memiliki aktivitas hambatan enzim alfa-glukosidase dengan nilai IC_{50} secara berturut-turut sebesar 6,1328 $\mu\text{g/ml}$; 9,110 $\mu\text{g/ml}$ dan 4,7346 $\mu\text{g/ml}$. Akan tetapi belum ada penelitian lebih lanjut mengenai fraksi etil asetat buah kenitu. Menurut Putri (2015), fraksi etil asetat daun kenitu telah diketahui memiliki aktivitas penghambatan lebih besar. Berdasarkan hal tersebut, peneliti ingin mengetahui aktivitas hambatan enzim alfa-glukosidase dari fraksi etil asetat beberapa varian buah kenitu segar. Sampel tersebut diambil dari daerah Jember dan Lumajang, yaitu varian bulat besar (BB), varian bulat kecil (BK), varian hijau lonjong (HL) dan varian ungu (U).

1.2 Rumusan Masalah

Uraian pada latar belakang tersebut memberikan dasar untuk merumuskan masalah sebagai berikut:

1. Golongan senyawa apakah yang terkandung dalam fraksi etil asetat buah kenitu varian BB, BK, HL dan U?
2. Apakah fraksi etil asetat buah kenitu BB, BK, HL dan U mempunyai aktivitas penghambatan enzim alfa-glukosidase?
3. Bagaimanakah perbedaan aktivitas penghambatan enzim alfa-glukosidase pada fraksi etil asetat pada keempat varian buah kenitu tersebut?

1.3 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk:

1. Mengetahui golongan senyawa yang terkandung dalam fraksi etil asetat buah kenitu varian BB, BK, HL dan U.
2. Mengetahui aktivitas penghambatan enzim alfa-glukosidase dari fraksi etil asetat buah kenitu varian BB, BK, HL dan U.

3. Mengetahui perbedaan aktivitas penghambatan enzim alfa-glukosidase pada fraksi etil asetat pada keempat varian buah kenitu tersebut.

1.4 Manfaat Penelitian

Beberapa manfaat yang dapat diperoleh dari penelitian ini, antara lain:

1. Meningkatkan nilai ekonomis buah kenitu yang masih dianggap kurang oleh masyarakat.
2. Melengkapi informasi tentang aktivitas buah kenitu sebagai agen pengobatan antidiabetes baru.

Memberikan landasan untuk mengembangkan penelitian lebih lanjut tentang tanaman kenitu yang digunakan sebagai pengobatan antidiabetes

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kenitu

2.1.1 Deskripsi dan Klasifikasi Kenitu

Chrysophyllum cainito L. atau biasa dikenal dengan sebutan *Star Apple* merupakan tumbuhan asli Amerika Tengah. Di Indonesia sendiri, tumbuhan *Chrysophyllum cainito* L. lebih dikenal dengan sebutan sawo hijau atau kenitu. Tumbuhan kenitu merupakan tumbuhan yang hanya dapat tumbuh baik di daerah tropis (Morton, 1987). Tanaman kenitu banyak terdapat di Pulau Jawa bagian hilir dan daerah pegunungan rendah (Hidayat dkk., 2016).

Berikut merupakan klasifikasi dari tumbuhan kenitu :

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Viridiplantae
Divisi	: Tracheophyta
Subdivisi	: Spermatophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Ordo	: Ebenales
Famili	: Sapotaceae
Genus	: <i>Chrysophyllum</i>
Spesies	: <i>Chrysophyllum cainito</i> L.
Sinonim	: <i>Chrysophyllum bicolor</i> Poir. <i>Chrysophyllum monopyrenum</i> Spreng. <i>Chrysophyllum maliforme</i> L.

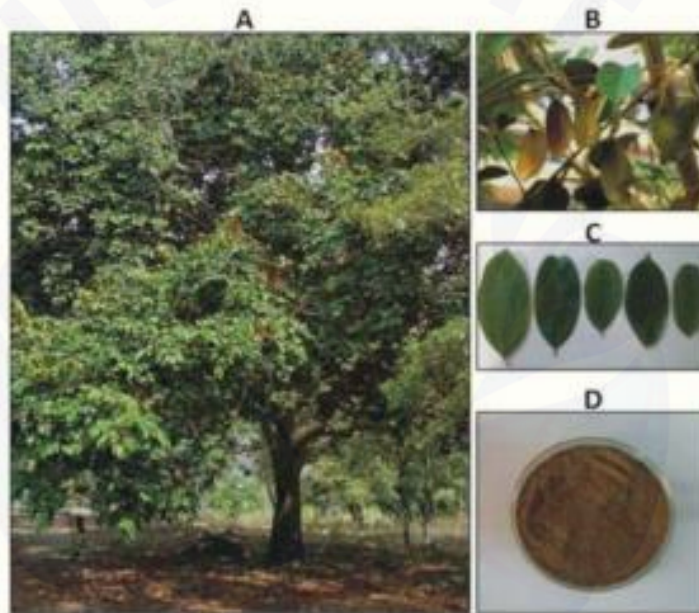
(ITIS, 2016; Catalogue of Life, 2016)

2.1.2 Morfologi Kenitu

Tumbuhan kenitu memiliki pohon yang tegak dan tinggi antara 8-30 m dengan batang pendek yang tebal, padat, cabang berbulu coklat dan bergetah

(Morton, 1987). Batang kenitu biasanya berbentuk lurus, silinder dan bergalur. Kulit permukaannya kasar, bergetah, berwarna coklat, dan tidak teratur. Bagian dalam batang berserat, berwarna jingga dan terdapat bintik-bintik kuning serta bergetah. Ranting muda berbulu dan berwarna merah kecoklatan (Orwa, 2009).

Daun kenitu berbentuk bulat lonjong berdiameter 5-10 cm. Permukaan atas daun berwarna hijau mengkilat dan sedikit kasar. Permukaan bawah daun berwarna coklat keemasan saat sudah tua dan berwarna silver saat masih muda (Morton, 1987).

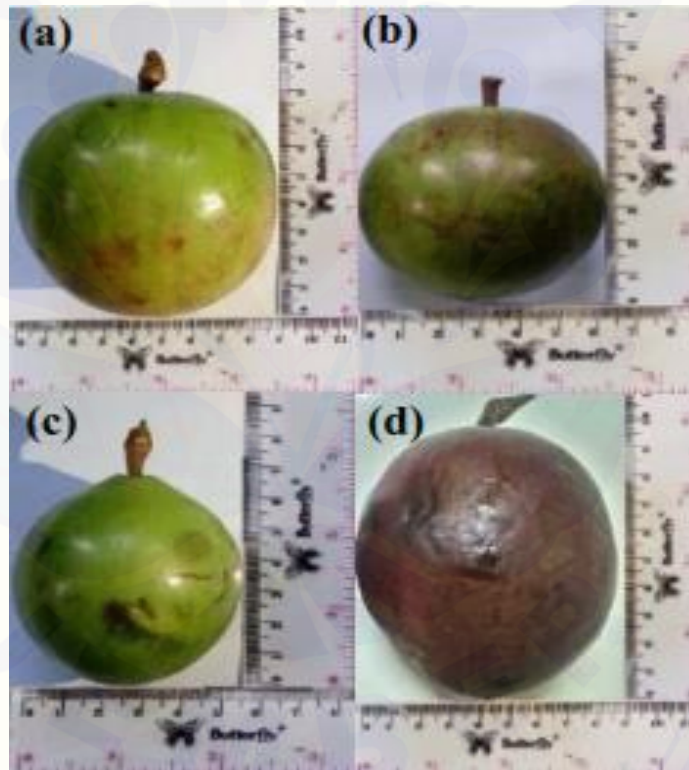


Gambar 2.1 a) Pohon kenitu, b) Tangkai dan Daun Kenitu bagian belakang, c) Daun bagian Depan, dan d) Serbuk Daun Kenitu (Sumber : Shailajan, 2014)

Buah kenitu memiliki bentuk yang bulat dan ada yang berbentuk lonjong seperti buah pir. Warna buah kenitu tergantung jenisnya, ada yang berwarna hijau pucat dan merah sampai ungu. Buah kenitu memiliki diameter 5-10 cm. Kulit buahkenitu memiliki ketebalan 3-5 mm untuk jenis kenitu hijau dan untuk jenis ungu memiliki ketebalan kulit 6-12,5 mm. Buah kenitu memiliki tekstur bagian luarnya yang halus, mengkilat, dan tipis, sedangkan untuk kulit dalamnya kasar (Morton,

1987). Daging buah kenitu berwarna putih, berserat kasar, manis dan bergetah. Bila daging buah kenitu dipotong melintang maka akan terlihat potongan seperti bentuk bintang, sehingga kenitu disebut juga *Star Apple* (Lim, 2013). Berdasarkan observasi buah kenitu di daerah Jember dan Lumajang yang dilakukan oleh Hidayat dkk. (2016), terdapat dua macam buah kenitu yaitu kenitu hijau (bentuk buah bulat dan lonjong) dan kenitu merah (bentuk buah bulat) (Tabel 2.2).

Biji dari buah kenitu berbentuk bulat telur dan pipih. Dalam satu buah kenitu biasanya terdapat 3-8 butir biji dengan ciri-ciri memiliki panjang sekitar 2 cm, berwarna coklat kehitaman, keras dan mengkilap (Luo dkk., 2002)



Gambar 2.2 a) Gambar buah kenitu varian BB, b) Gambar buah kenitu varian BK c) Gambar buah kenitu HL, d) Gambar buah kenitu U (Sumber: Damayanti, 2016)

2.1.3 Manfaat Kenitu

Buah kenitu memiliki banyak manfaat dan kegunaan. Mayoritas buah kenitu ini dikonsumsi secara langsung untuk makanan maupun untuk pengobatan. Di daerah Venezuela, buah kenitu yang belum begitu masak digunakan untuk mengobati gangguan pencernaan, akan tetapi jika terlalu banyak terdapat efek samping yaitu konstipasi. Masyarakat di daerah Amerika dan Karibia memanfaatkan kenitu sebagai obat antiinflamasi pada laringitis, pneumonia, dan pendarahan dengan cara memakan buah kenitu secara langsung. Selain itu, buah yang telah dikukus dapat dimanfaatkan sebagai obat antipiretik dan diabetes melitus (Morton, 2004)

Dekok dari daun kenitu dapat digunakan secara oral untuk hipoglikemia. Dekok dari batang kenitu yang kaya akan tanin digunakan untuk menghentikan diare, disentri, dan pendarahan. Serbuk biji kenitu dapat digunakan sebagai tonik, diuretik dan obat penurun panas dengan cara diseduh dengan air. Getah dari pohon kenitu dapat digunakan untuk menyembuhkan luka yang bernanah dengan cara dioleskan langsung. Getah dari pohon kenitu yang telah dikeringkan dan dibuat serbuk dapat digunakan untuk obat caceng (Lim, 2013).

2.1.4 Kandungan Kimia Kenitu

Hampir semua bagian dari tumbuhan kenitu memiliki kandungan kimia yang bermanfaat untuk pengobatan. Kulit batang kenitu mengandung tanin (Orwa, 2009). Buah kenitu banyak mengandung asam fenolik seperti asam galat, asam korogenat, asam sirigat, dan asam kamferol. Buah kenitu juga mengandung senyawa flavonoid seperti rutin, mirisetin, luteolin, kuersetin, apigenin dan kamferol. Selain mengandung asam fenolik dan flavonoid, buah kenitu juga mengandung gula seperti maltosa, glukosa, galaktosa, dan fruktosa (Pino dkk., 2002).

Pada penelitian yang dilakukan oleh Sofyan (2016) dilaporkan bahwa ekstrak etanol 70% buah kenitu varian BB, BK, HL, dan U mengandung total polifenol sebanyak 26,016; 21,406; 22,283; dan 23,247 mg GAE/g, sedangkan kandungan

total flavonoid sebanyak 15,968; 14,897; 15,182; dan 15,811 mg QE/g. Pada penelitian yang dilakukan oleh Zulaikhah (2015) dilaporkan bahwa ekstrak etanol 70% daun kenitu varian BB, BK, HL, dan U mengandung total polifenol sebanyak 150,073; 152,339; 190,132; dan 47,533 mg GAE/g, sedangkan total flavonoid sebanyak 14,039; 10,643; 11,116; dan 8,623 mg QE/g.

Fraksi etil asetat buah kenitu mengandung banyak senyawa antioksidan polifenol antara lain katekin, galokatekin, kuersetin, kuersitrin, isokuersetin, mirikristin, dan asam galat (Luo dkk., 2002). Fraksi buah kenitu juga mengandung sianidin-3-*O*- β -glukopiranosida sebagai senyawa antioksidan antosianidin (Einbond dkk., 2004).

Pada penelitian yang dilakukan oleh Mao dkk. (2015) berdasarkan analisis fitokimia secara kualitatif pada ekstrak alkohol dan ekstrak air buah kenitu dapat diketahui bahwa pada ekstrak alkohol terkandung senyawa fitosterol, glikosida, tanin, alkaloid, flavonoid, saponin, lemak dan karbohidrat, sedangkan ekstrak air terkandung senyawa glikosida, alkaloid, flavonoid, saponin, karbohidrat, protein dan asam amino (Tabel 2.1).

Tabel 2.1 Skrining Fitokimia pada Ekstrak Alkohol dan Ekstrak Air Daun Kenitu (*Chrysophyllum cainito*)

Kandungan Senyawa	Tes Uji	ALE	AQE
Fitosterol	a) Reaksi Salkowaski	+	-
	b) Reaksi Liberman'sburchard	+	-
	c) Reaksi Liberman's	+	-
Glikosida	a) Tes Keller killani	+	+
	b) Tes Bortrager	+	+
	c) Tes Legal	+	+
Alkaloid	a) Tes Mayer's	+	+
	b) Tes Wagner's	+	+

Tannin	a) 5% FeCl ₃	+	-
	b) Cairan HNO ₃	+	-
Flavonoid	a) Timah asetat	+	+
	b) Natrium hidrokisda	+	+
Saponin	Tes Froth	+	+
Protein	a) Tes Millon's	-	+
	b) Tes Xanthoprotein	-	+
Asam amino	a) Tes Ninhydrin	-	+
	b) Tes reagen Million	-	+
Karbohidrat	a) Tes Fehling's	+	+
	b) Tes Benedict's	+	+
Diterpen	Tes Tembaga-asetat	+	+
		+	+
Lemak dan minyak	Tes Stain	-	-
		+	-
Resin	Tes Aseton-air	-	-

Keterangan : ALE = Ekstrak Alkohol dan AQE = Ekstrak Air

2.2 Ekstraksi dan Fraksinasi

2.2.1 Ekstraksi

Ekstraksi merupakan suatu proses penarikan kandungan kimia yang dapat larut, sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut dengan pelarut cair (Dirjen POM Depkes RI, 2000). Metode ekstraksi yang biasa digunakan dalam bidang farmasi adalah pemisahan senyawa aktif tanaman berkhasiat obat dari komponen yang tidak aktif menggunakan pelarut selektif dalam standar prosedur ekstraksi. Apabila bahan padat kontak dengan pelarut, maka komponen yang dapat larut akan

berpindah menuju pelarut. Hal tersebut dapat menyebabkan pelarut bahan tumbuhan obat menghasilkan perpindahan masa senyawa aktif yang larut menuju pelarut sesuai dengan gradien konsentrasi (Handa dkk., 2008).

Metode ekstraksi yang banyak digunakan adalah metode ekstraksi ultrasonikasi dengan getaran ultrasonik (>20.000 Hz). Prinsip metode ini adalah dengan meningkatkan kontak permukaan antara pelarut, sampel dan permeabilitas dinding sel. Hal ini menimbulkan gelembung spontan (kavitasi) sebagai stress dinamik serta menimbulkan fraksi interfase. Hasil ekstraksi tergantung pada frekuensi getaran, kapasitas alat dan lama proses ultrasonikasi. Keuntungan menggunakan prosedur ini antara lain; sederhana, biayanya relatif rendah dan dapat digunakan pada skala kecil maupun besar (Depkes RI, 2000).

2.2.2 Fraksinasi

Ekstrak kasar bahan alam umumnya mengandung banyak campuran senyawa kimia yang memiliki sifat fisika dan kimia beragam. Pemisahan senyawa tersebut dapat dilakukan berdasarkan sifat fisika kimianya dalam beberapa kelompok senyawa kimia (Sarker dkk., 2006). Ada beberapa jenis metode pemisahan, salah satunya menggunakan ekstraksi pelarut atau ekstraksi cair-cair (fraksinasi). Fraksinasi merupakan metode pemisahan campuran menjadi beberapa fraksi yang berbeda susunannya. Fraksinasi diperlukan untuk memisahkan golongan senyawa utama dari golongan senyawa lainnya. Prosedur pemisahan senyawa dilakukan berdasarkan perbedaan kepolarannya (Harborne, 1997).

Metode fraksinasi merupakan metode yang paling baik dan populer. Hal ini karena pemisahan ini dapat dilakukan dengan baik dalam skala mikro maupun makro, selain itu alat yang digunakan tergolong sederhana. Prinsip metode fraksinasi didasarkan pada distribusi zat terlarut dengan perbandingan tertentu antara dua pelarut yang tidak saling campur. Senyawa kimia akan terdistribusi dalam dua pelarut

tergantung pada perbedaan koefisien partisinya. Teknik ini sangat efektif pada langkah awal pemisahan senyawa dari ekstrak bahan awal (Sarker dkk., 2006).

2.3 Diabetes Melitus

2.3.1 Definisi Diabetes Melitus

Diabetes melitus adalah gangguan metabolisme yang dapat disebabkan berbagai macam etiologi, disertai dengan adanya hiperglikemia kronis akibat gangguan metabolisme karbohidrat, protein dan lemak yang menyebabkan gangguan sekresi insulin, gangguan fungsi insulin atau keduanya. Efek dari diabetes melitus meliputi kerusakan jangka panjang, disfungsi dan kegagalan sistem organ. Diabetes melitus dapat dikenali dengan gejala seperti mudah haus, mudah lapar, poliuria, dan penurunan berat badan (Alberti dan Zimmet, 1998).

2.3.2 Klasifikasi Diabetes Melitus

Ada beberapa klasifikasi diabetes melitus yang dibedakan berdasarkan penyebab, perjalanan klinik dan terapinya. Menurut ADA (*American Diabetes Association*) tahun 2014 dilihat dari etiologisnya diabetes melitus dibagi menjadi empat jenis. Klasifikasi ini telah disahkan oleh WHO, yaitu: DM tipe 1, DM tipe 2, DM gestasional (diabetes kehamilan), dan DM tipe lainnya.

a. Diabetes Melitus Tipe 1

Diabetes Melitus tipe 1 terjadi pada 5-10% dari keseluruhan penderita diabetes melitus. Diabetes melitus tipe 1 ini biasa disebut dengan *insulin dependent diabetes* yang merupakan diabetes yang disebabkan reaksi autoimun berupa destruksi sel beta-pankreas (ADA, 2014)

b. Diabetes Melitus Tipe 2

Diabetes Melitus tipe 2 terjadi pada 90-95% dari seluruh penderita diabetes melitus. Diabetes melitus tipe 2 ini biasa disebut dengan *non insulin dependent diabetes*. Diabetes melitus tipe 2 ini biasanya diawali dengan resistensi insulin pada

pada organ tubuh seperti otot, hati, dan jaringan lemak. Adanya resistensi tersebut mengakibatkan tubuh menghasilkan insulin dalam jumlah yang lebih besar sehingga sel beta-pankreas bekerja lebih keras hingga kemampuan sel beta-pankreas dalam menghasilkan insulin menurun (CDC, 2014).

c. Diabetes Melitus Gestasional

Diabetes melitus gestasional terjadi pada wanita yang tidak menderita diabetes sebelum kehamilannya. Diabetes gestasional ini biasanya didiagnosis pada trimester kedua atau ketiga. Setelah melahirkan bayi, kadar glukosa darah pada wanita penderita diabetes gestasional akan kembali normal. Namun banyak wanita yang mengalami diabetes melitus gestasional di kemudian hari akan menderita DM tipe 2 (CDC, 2014).

d. Diabetes Melitus Tipe Lainnya

Diabetes melitus tipe lain merupakan diabetes melitus yang berhubungan dengan keadaan atau sindrom tertentu. Hiperglikemia terjadi karena penyakit lain, misalnya pada defek genetik fungsi sel beta, defek genetik kerja insulin, penyakit eksokrin pankreas, penyakit metabolik endokrin lain, iatrogenik, infeksi virus, penyakit autoimun dan kelainan genetik lain (Riyadi dan Sukarmin, 2008).

2.3.3 Diagnosis Diabetes Melitus

Menurut ADA tahun 2014, diagnosis klinis umumnya dilakukan apabila terjadi keluhan khas diabetes melitus, seperti poliuria, polidipsi, polifagia dan penurunan berat badan yang tidak dapat dijelaskan penyebabnya. Diagnosis diabetes melitus dapat ditegakkan apabila memenuhi salah satu kriteria berikut (Tabel 2.2).

Tabel 2.2 Kriteria Penegakan Diagnosis

	Glukosa Plasma Puasa	Glukosa Plasma 2 jam setelah makan
Normal	<100 mg/dl	<140 mg/dl
Pra-diabetes	100-125 mg/dl	-
IFG atau IGT	-	140-199 mg/dl
Diabetes	>126 mg/dL	>200 mg/dL

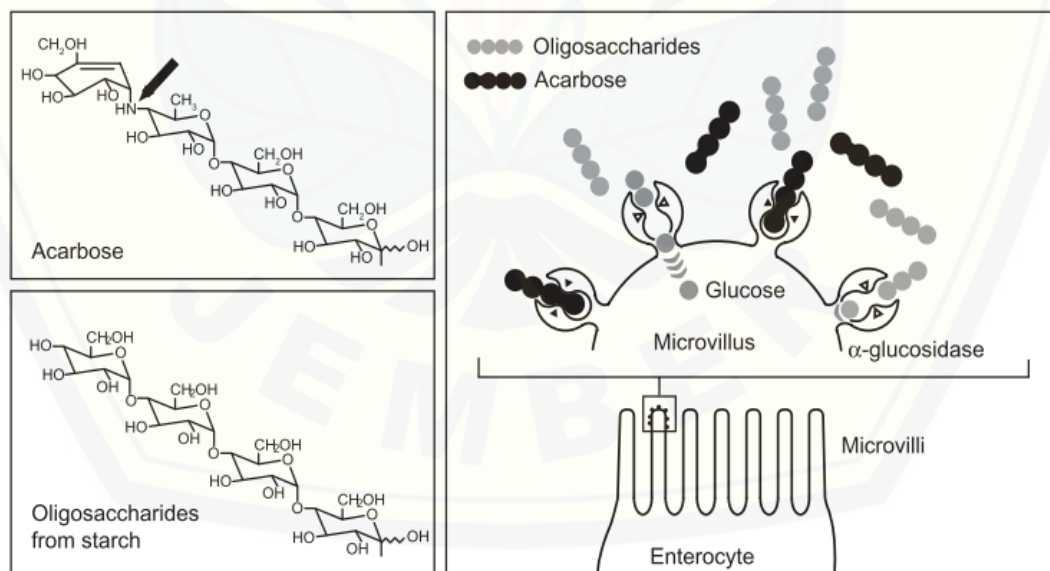
2.3.4 Terapi Diabetes Melitus

Penatalaksanaan diabetes memiliki tujuan akhir untuk menurunkan morbiditas dan mortalitas diabetes melitus, yang secara spesifik ditujukan untuk mencapai 2 target yaitu menjaga agar glukosa plasma berada dalam kisaran normal dan mencegah atau meminimalkan kemungkinan terjadinya komplikasi diabetes (Dipiro, 2008).

Pada dasarnya ada dua pendekatan dalam penatalaksanaan diabetes, yang pertama pendekatan tanpa obat dan yang kedua adalah pendekatan dengan obat. Dalam penatalaksanaan DM, langkah pertama yang harus dilakukan adalah penatalaksanaan tanpa obat berupa pengaturan diet dan olahraga. Apabila dengan langkah pertama ini tujuan penatalaksanaan belum tercapai, dapat dikombinasikan dengan langkah farmakologis berupa terapi insulin atau terapi obat hipoglikemik oral atau kombinasi keduanya (Depkes RI, 2005).

Terapi obat digunakan ketika terapi tanpa obat seperti diet dan olahraga tidak efektif atau tidak memberikan hasil. Oleh sebab itu, terapi tersebut perlu ditindaklanjuti yaitu dengan terapi obat. Terapi obat yang sudah banyak digunakan untuk mencegah dan menyembuhkan komplikasi akibat diabetes melitus, salah satunya adalah terapi obat hipoglikemik oral. Ada beberapa jenis obat hipoglikemik oral berdasarkan mekanisme kerja, salah satunya adalah inhibitor katabolisme karbohidrat seperti akarbose (Depkes RI, 2005).

Akarbose merupakan inhibitor alfa-glukosidase yang bekerja menghambat absorpsi glukosa dan umum digunakan untuk mengendalikan hiperglikemia postprandial. Akarbose tidak hanya berperan penting dalam penyerapan karbohidrat dari makanan ke dalam darah, tetapi secara tidak langsung juga berperan dalam optimalisasi metabolisme glukosa sepanjang hari. Agar karbohidrat dapat diserap oleh tubuh sehingga menjadi sumber energi, perlu adanya pemecahan pati atau oligosakarida menjadi monosakarida, karena hanya monosakarida yang dapat diserap ke dalam darah. Pati atau oligosakarida dipecah menjadi monosakarida oleh kompleks enzim alfa-glukosidase yang berada di membran vili pada usus halus. Akarbose memiliki struktur mirip dengan oligosakarida alami akan tetapi memiliki afinitas yang lebih besar untuk enzim alfa-glukosidase. Hal ini menunjukkan bahwa akarbose lebih mampu dan lebih kuat berikatan dengan enzim alfa-glukosidase dibandingkan dengan oligosakarida sehingga pembentukan monosakarida terhambat dan berkurang (Rosak dan Mertes, 2012).



Gambar 2.3 Mekanisme penghambatan enzim alfa-glukosidase oleh akarbose (Sumber: Rosak dan Mertes, 2012).

2.4 Enzim Alfa-Glukosidase

Enzim alfa-glukosidase merupakan enzim yang berperan dalam perubahan karbohidrat menjadi glukosa. Alfa-glukosidase adalah enzim yang terikat pada membran vili pada usus halus yang terlibat dalam pemecahan oligosakarida dan disakarida menjadi glukosa. Enzim ini termasuk maltase, isomaltase, sukrase, laktase, trehalase dan alfa-dextrinase (Soumyanath, 2006). Karbohidrat akan dicerna oleh enzim yang ada di mulut dan usus menjadi gula yang lebih sederhana, kemudian diserap ke dalam tubuh dan meningkatkan kadar gula darah. Proses pencernaan karbohidrat tersebut menyebabkan pankreas melepaskan enzim alfa-glukosidase ke dalam usus yang mencerna karbohidrat menjadi oligosakarida dan kemudian dirubah lagi menjadi glukosa oleh enzim alfa-glukosidase yang akan diserap ke dalam tubuh. Dengan dihambatnya kerja enzim alfa-glukosidase, kadar glukosa darah dapat dikembalikan dalam batas normal (Bösenberg, 2008)

Awalnya pati makanan yang masuk ke dalam tubuh akan dihidrolisis oleh enzim alfa-amilase menjadi oligosakarida dan disakarida. Oligosakarida dan disakarida ini kemudian dihidrolisis oleh enzim alfa-glukosidase menjadi glukosa yang merupakan monosakarida untuk selanjutnya diabsorpsi menembus dinding usus halus menuju pembuluh darah yang menyebabkan naiknya kadar glukosa dalam darah (Williamson, 2013). Saat oligosakarida dan disakarida tidak dapat berikatan dengan alfa-glukosidase, maka keduanya tidak diubah menjadi monosakarida dan tidak diabsorpsi sehingga kadar glukosa darah tidak naik. Oligosakarida dan disakarida yang tidak diabsorpsi akan langsung menuju usus besar dan dimetabolisme oleh bakteri menjadi asam lemak, hidrogen, CO₂, dan metana (Lebovitz, 1997).

2.5 Inhibitor Enzim Alfa-Glukosidase

Senyawa-senyawa penghambat alfa-glukosidase bekerja menghambat enzim alfa-glukosidase yang terdapat pada dinding usus halus. Enzim-enzim alfa-glukosidase (maltase, isomaltase, glukomaltase dan sukrase) berfungsi untuk

menghidrolisis oligosakarida pada dinding usus halus. Penghambatan kerja enzim ini secara efektif dapat mengurangi pencernaan karbohidrat kompleks dan absorpsinya, sehingga dapat mengurangi peningkatan kadar glukosa post-prandial pada penderita diabetes. Senyawa penghambat alfa-glukosidase juga menghambat enzim alfa-amilase pankreas yang bekerja menghidrolisis polisakarida di dalam lumen usus halus (Dirjen Binfar Depkes, 2005). Efek samping penghambat alfa-glukosidase yaitu kembung, buang angin dan diare. Supaya lebih efektif, senyawa ini harus dikonsumsi bersama dengan makanan (Bosenberg, 2008).

Obat yang termasuk penghambat enzim alfa-glukosidase adalah akarbose, miglitol dan voglibose. Di Indonesia akarbose telah dipasarkan dengan nama dagang Glucobay® dan Eclid®. Akarbose adalah suatu oligosakarida yang diperoleh dari proses fermentasi mikroorganisme, *Actinoplanes utahensis*, dengan nama kimia o-4,6-dideoksi-4[[[(1S,4R,5S,6S)-4,5,6-trihidroksi-3-(hidroksimetil)-2-sikloheks-en-1il]amino]- α -D-glukopiranosil(1 \rightarrow 4)-o- α -D-glukopiranosil(1 \rightarrow 4)-D-glukosa. Akarbose merupakan serbuk berwarna putih dengan berat molekul 645,6, bersifat larut dalam air dan memiliki pKa 5,1. Rumus empiriknya adalah C₂₅H₄₃NO₁₈ (Bayer, 2008).

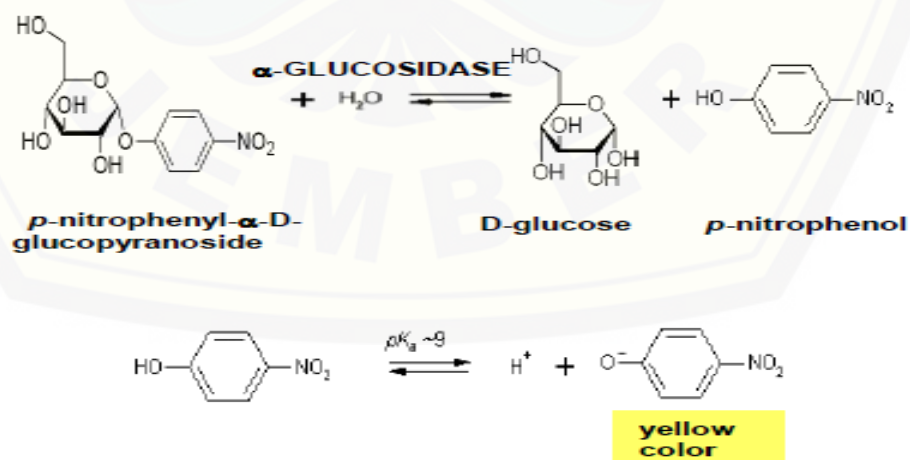
Beberapa tanaman pun telah dilaporkan menunjukkan adanya aktivitas hambatan alfa glukosidase. Pasaribu (2010) mengujinya pada beberapa jenis kulit kayu raru antara lain *Cotylelobium melanoxydon* Pierre., *Shorea balanocarpoides* Symington, *Cotylelobium lanceolatum* Craib., dan *Vatica perakensis* King. Shihabudeen dkk. (2011) menyatakan bahwa *Cinnamomum zeylanicum* memiliki aktivitas hambatan alfa-glukosidase dan mengandung senyawa kimia tanin, flavonoid, glikosida terpenoid kumarin dan antrakinon. Shori (2015) menyatakan bahwa *Acacia ligulata*, *Beyeria lesnaultii*, *Mucuna pruriens*, *Boerhaavia diffusa* memiliki aktivitas hambatan alfa-glukosidase yang tinggi.

Beberapa senyawa dalam tanaman juga dilaporkan dapat memberikan aktivitas antidiabetes sebagai inhibitor α -glukosidase yaitu senyawa golongan polifenol seperti flavonoid (antosianin, katekin, flavanon, flavonol, flavon dan

isoflavon), asam fenolat dan tanin (proantosianidin dan ellagitanin) (Hanhineva dkk., 2010).

2.6 Metode Uji Penghambatan Enzim Alfa-Glukosidase

Pengujian aktivitas penghambatan enzim alfa-glukosidase dapat dilakukan secara *in vivo* dan *in vitro*. Metode spektrofotometri banyak digunakan dalam pengujian *in vitro* dengan menggunakan substrat seperti *p*-nitrofenil- α -D-glukopiranosida (pNPG) (Matsui dkk., 1996). Enzim alfa-glukosidase akan menghidrolisis *p*-nitrofenil- α -D-glukopiranosida menjadi *p*-nitrofenol yang berwarna kuning dan glukosa. Aktivitas enzim diukur berdasarkan hasil absorbansi warna kuning *p*-nitrofenol. (Sugiwati dkk., 2009). Senyawa *p*-nitrofenil- α -D-glukopiranosida (pNPG) digunakan sebagai substrat pada penelitian ini. pNPG akan dihidrolisis oleh enzim alfa-glukosidase menjadi senyawa *p*-nitrofenol dan D-glukosa. Senyawa *p*-nitrofenol memberikan warna kuning pada larutan untuk kemudian diukur serapannya. Semakin tinggi intensitas warna kuning pada larutan menunjukkan semakin banyak *p*-nitrofenol yang terbentuk. Jika senyawa inhibitor memiliki aktivitas inhibisi enzim, maka jumlah *p*-nitrofenol yang dihasilkan akan berkurang (Cihan dkk., 2010)



Gambar 2.5 Reaksi antara substrat pNPG dan enzim alfa-glukosidase (Sumber : Cihan dkk., 2010).

BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Penelitian ini menggunakan jenis penelitian *experimental laboratories* untuk mengetahui kandungan senyawa kimia dan aktivitas inhibisi enzim alfa-glukosidase dari fraksi etil asetat buah kenitu varian hijau bulat besar (BB), hijau bulat kecil (BK), hijau lonjong (HL) dan ungu (U) yang diambil dari beberapa daerah di Kabupaten Jember dan Kabupaten Lumajang.

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Fitokimia Bagian Biologi Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Jember pada bulan Oktober 2016 sampai Juni 2016.

3.3 Variabel Penelitian

Variabel yang digunakan dalam penelitian ini adalah :

- a. Variabel bebas pada penelitian ini adalah kadar fraksi etil asetat buah kenitu varian hijau bulat besar (BB), hijau bulat kecil (BK), hijau lonjong (HL), dan ungu (U).
- b. Variabel terikat pada penelitian ini adalah persen aktivitas penghambatan alfa-glukosidase.
- c. Variabel terkontrol pada penelitian ini adalah metode ekstraksi, metode fraksinasi, pelarut dan prosedur pengujian aktivitas inhibisi alfa-glukosidase.

3.4 Definisi Operasional

Definisi operasional pada penelitian ini adalah :

- a. Buah kenitu masak adalah buah yang sudah lunak dari tanaman *Chrysophyllum cainito* L. yang memiliki kulit buah berwarna hijau mengkilat dan hijau keunguan sampai dominan ungu.

- b. Varian kenitu bulat besar (BB) adalah varian buah kenitu yang memiliki bentuk buah bulat, berwarna hijau dan berdiameter 8-10 cm.
- c. Varian kenitu bulat kecil (BK) adalah varian buah kenitu yang memiliki bentuk buah bulat, berwarna hijau dan berdiameter 4-6 cm.
- d. Varian kenitu hijau lonjong (HL) adalah varian buah kenitu yang memiliki bentuk buah lonjong, berwarna hijau dan berdiameter 8-10 cm.
- e. Varian kenitu ungu (U) adalah varian buah kenitu yang memiliki bentuk buah bulat, berwarna ungu kehijauan (dominan ungu) dan berdiameter 8-10 cm.
- f. Fraksi etil asetat buah kenitu adalah fraksi yang diperoleh dengan mengekstraksi simplisia buah kenitu dengan pelarut metanol menggunakan metode ultrasonikasi selama 1 jam, dilanjutkan dengan fraksinasi menggunakan pelarut *n*-heksana dan etil asetat.
- g. IC_{50} merupakan konsentrasi efektif fraksi buah kenitu untuk menghambat 50% aktivitas enzim alfa-glukosidase.

3.5 Bahan dan Alat Penelitian

3.5.1 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah buah kenitu varian bulat besar (BB), bulat kecil (BK), hijau lonjong (HL), dan ungu (U) dari daerah Jember dan Lumajang yang dikumpulkan selama bulan September hingga Oktober 2016. Pelarut metanol (teknis), aquades, *n*-heksana (Sigma-Aldrich), etil asetat (Sigma-Aldrich), HCl 2N (Sigma-Aldrich), NaCl (teknis), NH_4OH (Merck), kloroform (Sigma-Aldrich), kiesel gel GF 254 (Sigma-Aldrich), pereaksi dragendorf, pereaksi sitroborat, anisaldehida asam sulfat, etanol (teknis), butanol (teknis), magnesium (Merck), $FeCl_3$ (Sigma-Aldrich), asam asetat glasial (Sigma-Aldrich), H_2SO_4 (Sigma-Aldrich), larutan gelatin, *p*-nitrofenil- α -D-glukopiranososa (pNPG) (Sigma-Aldrich), akarbose (Sigma-Aldrich), enzim alfa-glukosidase dari *Saccharomyces cerevisiae* (Sigma-Aldrich), dimetil sulfoksida (DMSO) (Sigma-Aldrich), kalium

dihidrogenfosfat (KH_2PO_4) (Merck), natrium hidroksida (NaOH) (Merck), dan natrium karbonat (Na_2CO_3) (Brataco-Ermika).

3.5.2 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *micropipette* (Socorex), tabung mikro sentrifus, alat-alat gelas, blender (Panasonic), alat kukus, kompor, oven (Memmet), *rotary evaporator* (Heidolph Laborata 4000), *hotplate* (Cimaree Thermo Scientific), neraca analitik (Pioner), *microplate reader* (Dialab Elx800), *vortex mixer* (Barnstead Termolyne), *centrifuge* (Hermle Z 206A), pH meter (Elmetro CP-502), ultrasonikator (Elmasonic S180H) dan inkubator (Clifton).

3.6 Prosedur Penelitian

3.6.1 Penyiapan Sampel Tanaman

Sampel buah kenitu varian hijau bulat besar (BB) diambil di Kecamatan Mumbulsari, Kabupaten Jember, buah kenitu varian hijau bulat kecil (BK) diambil di Kecamatan Sumberjambe, Kabupaten Jember, buah kenitu varian hijau lonjong (HL) dan ungu (U) diambil di Kecamatan Klakah, Kabupaten Lumajang. Buah kenitu yang digunakan adalah buah yang masak, yaitu yang kulitnya berwarna hijau mengkilat dan hijau keunguan sampai ungu.

3.6.2 Penyiapan Sampel

Buah kenitu yang telah dikumpulkan dari bulan September hingga Oktober 2016 dikelompokkan berdasarkan variannya, yaitu BB, BK, HL, dan U. Masing-masing varian dicuci dengan air mengalir, kemudian dikukus selama 10 menit. Dibiarkan dingin dan diambil daging buahnya. Selanjutnya daging buah dihaluskan menggunakan blender.

3.6.3 Ekstraksi

Daging buah kenitu halus dari masing-masing varian ditimbang sebanyak 250 gram dan ditambahkan pelarut metanol sebanyak 1,5 L (1:6). Kemudian diultrasonikasi selama 2 jam pada suhu 40°C sebanyak dua kali dengan metanol. Selanjutnya disaring untuk memisahkan antara filtrat dan residu menggunakan corong buchner. Filtrat yang dihasilkan diuapkan pelarutnya menggunakan *rotary evaporator*. Apabila ekstrak masih cair, maka dipekatkan menggunakan oven pada suhu 45°C sehingga diperoleh ekstrak kental. Ekstrak kental ditimbang, dimasukkan dalam gelas ekstrak dan disimpan.

3.6.4 Fraksinasi

Ekstrak kental masing-masing varian ditimbang sebanyak 20 gram dilarutkan menggunakan aquades 200 mL (1:10), kemudian dikocok sampai larut dan disaring. Penambahan aquades dan penyaringan dilakukan sebanyak tiga kali. Selanjutnya filtrat dimasukkan ke dalam corong pisah, ditambahkan *n*-heksana dengan volume yang sama, dikocok selama 15 menit dan dibiarkan sampai membentuk dua lapisan terpisah yaitu fraksi air dan fraksi *n*-heksana. Penambahan *n*-heksana dan pengocokan dilakukan sebanyak tiga kali.

Fraksi air ditambah etil asetat dengan volume yang sama, dikocok selama 15 menit dan dibiarkan sampai membentuk dua lapisan terpisah yaitu fraksi air dan fraksi etil asetat. Penambahan etil asetat dan pengocokan dilakukan sebanyak tiga kali. Fraksi etil asetat diuapkan pelarutnya dengan dibiarkan pada lemari asam.

3.6.5 Identifikasi Golongan Senyawa Kimia

Identifikasi golongan senyawa kimia merupakan metode secara kualitatif yang dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui golongan senyawa apa saja yang terkandung dalam fraksi etil asetat pada beberapa varian buah kenitu BB, U, BK dan HL. Adapun identifikasi golongan senyawa kimia tersebut terdiri dari:

a. Uji Alkaloid

Fraksi sejumlah 0,3 gram ditambah 5 mL HCl 2N, dipanaskan di atas penangas air selama 2-3 menit sambil diaduk. Setelah dingin, ditambahkan NaCl 0,3 gram, diaduk kemudian disaring. Filtrat ditambah 5 mL HCl 2N kemudian ditambah NH_4OH 28% sampai larutan menjadi basa. Selanjutnya, diekstraksi dengan 5 mL kloroform bebas air, lalu disaring. Filtrat diuapkan sampai kering, kemudian dilarutkan dalam metanol dan siap untuk pemeriksaan dengan KLT (Kromatografi Lapis Tipis).

Fase diam : Kiesel gel GF254
Fase gerak : Etil asetat : metanol : air (9 : 2 : 2)
Penampak noda : Pereaksi dragendorff

Jika timbul noda warna jingga menunjukkan adanya alkaloid dalam sampel (Depkes RI, 1989).

b. Uji Sapogenin Steroid atau Triterpenoid

Fraksi sebanyak 50 mg ditambah dengan 5 mL HCl 2N, dididihkan dan ditutup dengan corong yng berisi kapas basah selama 2 jam untuk menghidrolisis saponin. Setelah dingin, dinetralkan dengan ammonia, kemudian ekstraksi dengan 1 mL *n*-heksana sebanyak tiga kali. Lalu diuapkan sampai tinggal 0,5 mL dan ditotolkan pada KLT.

Fase diam : Kiesel gel GF254
Fase gerak : *n*-heksana : etil asetat (4 : 1)
Penampak noda : Pereaksi anisaldehyd (dipanaskan)

Adanya sapogenin steroid atau triterpenoid ditunjukkan dengan terjadinya warna merah ungu atau ungu (Depkes RI, 1989).

c. Uji Flavonoid

Fraksi sejumlah 30 mg dikocok dengan 3 mL *n*-heksana berkali-kali hingga sampel *n*-heksana tidak berwarna. Residu dilarutkan dalam etanol, kemudian ditotolkan pada fase diam lempeng KLT menggunakan:

Fase diam : Kiesel gel GF254

Fase gerak : Butanol : asam asetat glasial : air (4 : 1 : 5)

Penampak noda : Pereaksi sitroborat

Fase gerak tersebut dibuat dengan cara mencampurkan ketiga komponen tersebut, maka akan terjadi dua lapisan. Lapisan atas diambil dan dipakai sebagai fase gerak untuk mengeluasi senyawa flavonoid. Penampak noda yang digunakan adalah pereaksi sitroborat. Adanya flavonoid ditunjukkan dengan timbulnya noda berwarna kuning intensif (Depkes RI, 1989).

d. Uji Terpenoid dan Steroid Bebas

Sedikit fraksi ditambah beberapa tetes etanol, diaduk sampai larut, dan ditotolkan pada fase diam. Uji kromatografi lapis tipis ini menggunakan:

Fase diam : Kiesel gel GF254

Fase gerak : *n*-heksana : etil asetat (4 : 1)

Penampak noda : Pereaksi anisaldehyd (dipanaskan)

Adanya terpenoid atau steroid bebas ditunjukkan dengan terjadinya warna merah ungu atau ungu (Depkes RI, 1989).

e. Uji Polifenol

Fraksi sebanyak 30 mg ditambah 10 mL aquades panas, diaduk, dan dibiarkan sampai suhu kamar. Ditambahkan 3-4 tetes NaCl 10%, diaduk dan disaring. Filtrat digunakan untuk pemeriksaan KLT.

Fase diam : Kiesel gel GF254

Fase gerak : Toluena : aseton : asam formiat (6 : 6 : 1)

Penampak noda : Pereaksi FeCl₃

Adanya polifenol ditunjukkan dengan terbentuknya warna hitam (Depkes RI, 1989).

3.6.6 Uji Pendahuluan Reaksi Enzimatis

Sebelum dilakukan uji aktivitas hambatan enzim alfa-glukosidase, perlu dilakukan optimasi kondisi enzim terlebih dahulu untuk mendapatkan kondisi optimal

dari kerja enzim alfa-glukosidase. Optimasi yang dilakukan antara lain adalah optimasi panjang gelombang maksimum, konsentrasi substrat, konsentrasi enzim dan waktu inkubasi. Penyiapan Larutan Pereaksi

1. Larutan Dapar Fosfat pH 6,8

Dibuat dengan mencampurkan 125 mL larutan kalium dihidrogenfosfat (KH_3PO_4) 0,2 M (4,0827 gram dalam 150 mL aquades) kemudian diencerkan dengan aquades hingga 500 ml (Depkes RI, 1995).

2. Larutan Substrat *p*-nitrofenil-alfa-D-glukosidase

Larutan substrat 20 mM dibuat dengan menimbang 60,25 mg pNPG dan dilarutkan dalam dapar fosfat pH 6,8 hingga 10 mL. Kemudian dari larutan induk tersebut dilakukan pengenceran hingga diperoleh konsentrasi pNPG 10; 5; 2,5; 1,25; dan 0,625 mM.

3. Larutan Enzim Alfa-Glukosidase

Larutan enzim dibuat dengan melarutkan 100 U enzim alfa-glukosidase dalam 2 mL dapar fosfat pH 6,8 kemudian membagi larutan tersebut kedalam 2 vial, sehingga didapatkan larutan enzim alfa-glukosidase 50 U/mL dalam masing-masing vial. Satu vial disimpan dan satunya lagi diencerkan dengan menambahkan 9 mL dapar fosfat pH 6,8 sehingga didapatkan enzim alfa-glukosidase 5 U/mL. Larutan enzim tersebut kemudian dibagi dalam 10 vial dimana masing-masing vial ditambahkan 9 mL dapar fosfat pH 6,8 untuk mendapatkan larutan enzim alfa-glukosidase 0,5 U/mL. Larutan enzim alfa-glukosidase 0,5 U/mL diencerkan menggunakan dapar fosfat pH 6,8 hingga diperoleh konsentrasi enzim 0,3; 0,25; 0,2; 0,15; 0,1 dan 0,05 U/mL. Larutan enzim disimpan dalam *freezer* suhu 20°C.

4. Larutan Natrium Karbonat 0,2 M

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

b. Prosedur Optimasi

Prosedur optimasi yang dilakukan berdasarkan metode yang dilakukan oleh Moradi-Afrapoli dkk. (2012) dengan beberapa modifikasi.

1. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Campuran reaksi terdiri dari 10 μl dimetil sulfoksida (DMSO) ditambah 120 μl dapar fosfat pH 6,8 dan 20 μl larutan enzim alfa-glukosidase 0,5 U/mL dalam *microwell*. Selanjutnya diinkubasi selama 15 menit suhu 37°C. Setelah itu, ditambahkan 20 μl substrat pNPG 5 mM dan diinkubasi selama 15 menit suhu 37°C. Reaksi dihentikan dengan penambahan 80 μl natrium karbonat 0,2 M *p*-nitrofenol yang dihasilkan dibaca absorbansinya pada panjang gelombang 200-600 nm. Pada blanko, dilakukan tanpa penambahan enzim.

2. Penentuan Optimasi Waktu Inkubasi

Campuran reaksi terdiri 10 μl dimetil sulfoksida (DMSO) ditambah 120 μl dapar fosfat pH 6,8 dan 20 μl larutan enzim alfa-glukosidase 0,05 U/mL dalam *microwell*. Kemudian, diinkubasi selama 15 menit suhu 37°C. Selanjutnya, ditambahkan 20 μl substrat pNPG 5 mM dan diinkubasi selama 15, 30, 45, 60, 75, 90, 105, 120, 135 dan 150 menit suhu 37°C. Reaksi dihentikan dengan penambahan 80 μl natrium karbonat 0,2 M. *p*-nitrofenol yang dihasilkan dibaca absorbansinya pada panjang gelombang maksimum. Pada blanko dilakukan tanpa penambahan enzim. Semua pengujian dilakukan 3 kali replikasi.

3. Penentuan Optimasi Konsentrasi Enzim

Campuran reaksi terdiri dari 10 μl dimetil sulfoksida (DMSO) ditambah 120 μl dapar fosfat pH 6,8 dan 20 μl larutan enzim alfa-glukosidase dengan konsentrasi 0,3; 0,25; 0,2; 0,15; 0,1 dan 0,05 U/mL dalam *microwell*. Selanjutnya, diinkubasi selama 15 menit suhu 37°C. Kemudian, ditambahkan 20 μl substrat pNPG 5 mM dan 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 panjang gelombang maksimum. Pada blanko dilakukan tanpa penambahan enzim. Semua pengujian dilakukan 3 kali replikasi.

4. Penentuan Optimasi Konsentrasi Substrat

Campuran reaksi terdiri dari 10 µl dimetil sulfoksida (DMSO) ditambah 120 µl dapar fosfat pH 6,8 dan 20 µl larutan enzim alfa-glukosidase dengan konsentrasi 0,1 U/mL dalam *microwell*. Selanjutnya diinkubasi selama 15 menit suhu 37°C. Kemudian, ditambahkan 20 µl substrat pNPG dengan konsentrasi masing-masing 20; 10; 5; 2,5; 1,25; dan 0,625 mM dan 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 panjang gelombang maksimum. Pada blanko dilakukan tanpa penambahan enzim. Semua pengujian dilakukan 3 kali replikasi.

3.6.7 Uji Aktivitas Inhibitor Alfa-Glukosidase

Uji aktivitas ini dilakukan terhadap larutan kontrol negatif (larutan tanpa sampel atau standar), larutan kontrol positif yaitu larutan akarbose, dan larutan sampel yaitu larutan fraksi etil asetat buah kenitu.

a. Penyiapan Bahan

1. Pembuatan Larutan Dapar Fosfat pH 6,8

Dibuat dengan mencampurkan 45 mL larutan Natrium fosfat monobasis 0,2 M (2,78 gram dalam 100 ml aquades) dengan 45 mL natrium fosfat dibasis (7,17 gram dalam 100 ml aquades), kemudian diencerkan dengan aquades hingga 200 ml.

2. Pembuatan Larutan Substrat pNPG

Larutan substrat 20 mM dibuat dengan menimbang 60,25 mg pNPG dan dilarutkan dalam dapar fosfat hingga 10 mL. Kemudian dari larutan induk tersebut diencerkan hingga diperoleh konsentrasi substrat pNPG 10 mM.

3. Pembuatan Larutan Enzim Alfa-Glukosidase

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

4. Pembuatan Larutan Natrium Karbonat 0,2 M

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

5. Pembuatan Larutan Akarbose

Larutan akarbose 20.000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ dibuat dengan menimbang 500 mg serbuk standar akarbose, kemudian dimasukkan kedalam labu ukur 25 mL dan dilarutkan dalam dapar fosfat pH 6,8 hingga 25 mL. Selanjutnya dilakukan pengenceran dari larutan induk hingga diperoleh larutan akarbose konsentrasi 15.000; 10.000; 7.500; 5.000; 2.500 $\mu\text{g}/\text{mL}$.

6. Pembuatan Larutan Sampel

10 mL sampel fraksi etil asetat dilarutkan dalam DMSO sampai terlarut kemudian ditambahkan dapar fosfat pH 6,8 untuk memperoleh konsentrasi larutan sampel 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Kemudian dilakukan pengenceran dari larutan sampel tersebut hingga diperoleh beberapa konsentrasi yaitu 0,01; 0,025; 0,050; 0,075; 0,1; 1; 5; 10; 25; 50 dan 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$.

b. Pengujian Kontrol Negatif

Dibuat campuran yang terdiri dari 10 μl DMSO ditambah 120 μl dapar fosfat pH 6,8 dan 20 μl larutan enzim alfa-glukosidase 0,5 U/mL dalam *96-well plate*. Campuran tersebut diinkubasi selama 15 menit pada suhu 37°C. Kemudian ditambahkan 20 μl substrat pNPG 10 mM dan diinkubasi lagi selama 90 menit suhu 37°C. Reaksi dihentikan dengan penambahan 80 μl natrium karbonat 0,2 M. *p*-nitrofenol yang dihasilkan dibaca absorbansinya pada panjang gelombang maksimum. Pada uji kontrol negatif, blanko dilakukan tanpa enzim. Semua pengujian dilakukan tiga kali replikasi.

c. Pengujian Kontrol Positif

Dibuat campuran yang terdiri dari 10 μl larutan akarbose ditambah 120 μl dapar fosfat pH 6,8 dan 20 μl larutan enzim alfa-glukosidase 0,5 U/mL dalam *96-well*

plate. Campuran tersebut diinkubasi selama 15 menit pada suhu 37°C. Kemudian ditambahkan 20 µl substrat pNPG 10 mM dan diinkubasi lagi selama 90 menit suhu 37°C. Reaksi dihentikan dengan penambahan 80 µl natrium karbonat 0,2 M. *p*-nitrofenol yang dihasilkan dibaca absorbansinya pada panjang gelombang maksimum. Pada uji kontrol positif, blanko dilakukan tanpa enzim. Semua pengujian dilakukan tiga kali replikasi.

d. Pengujian Sampel Fraksi Etil Asetat Buah Kenitu

Dibuat campuran yang terdiri 10 µl larutan sampel ditambah 120 µl dapar fosfat pH 6,8 dan 20 µl larutan alfa-glukosidase 0,1 U/mL dalam 96-well *plate*. Campuran tersebut diinkubasi selama 15 menit suhu 37°C. Kemudian ditambahkan 20 µl substrat pNPG 10 mM dan diinkubasi lagi selama 90 menit suhu 37°C. Reaksi dihentikan dengan 80 µl natrium karbonat 0,2 M. *p*-nitrofenol yang dihasilkan dibaca absorbansinya pada panjang gelombang maksimum. Pada pengujian sampel (fraksi), blanko dilakukan tanpa enzim. Semua pengujian dilakukan tiga kali replikasi.

Selanjutnya, aktivitas inhibisi alfa-glukosidase dapat dihitung dengan menggunakan rumus:

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

Keterangan:

K= Absorbansi kontrol negatif

S= Absorbansi sampel / Absorbansi kontrol positif

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

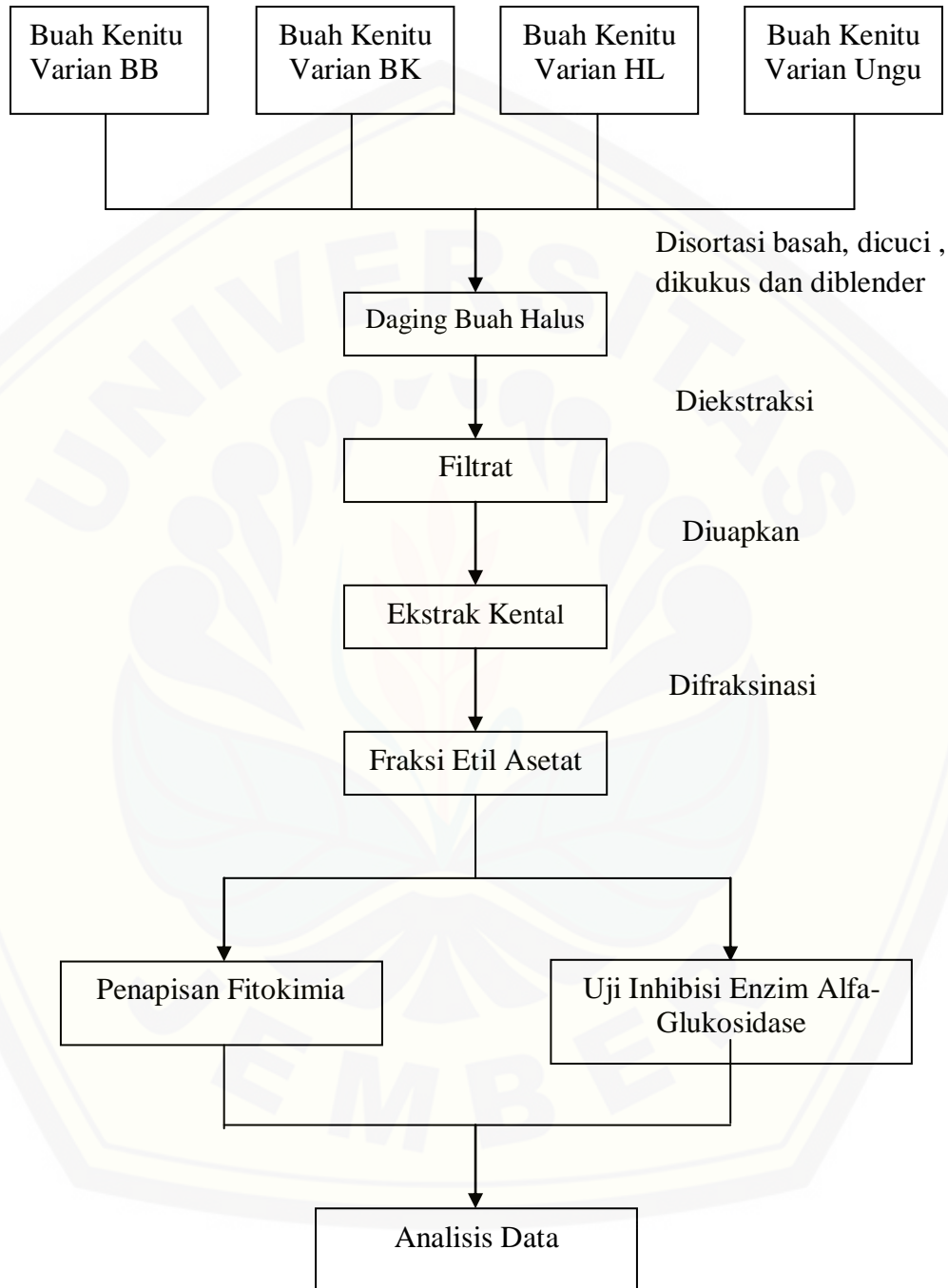
$$IC_{50} = \frac{50-a}{b}$$

3.7 Analisis Data

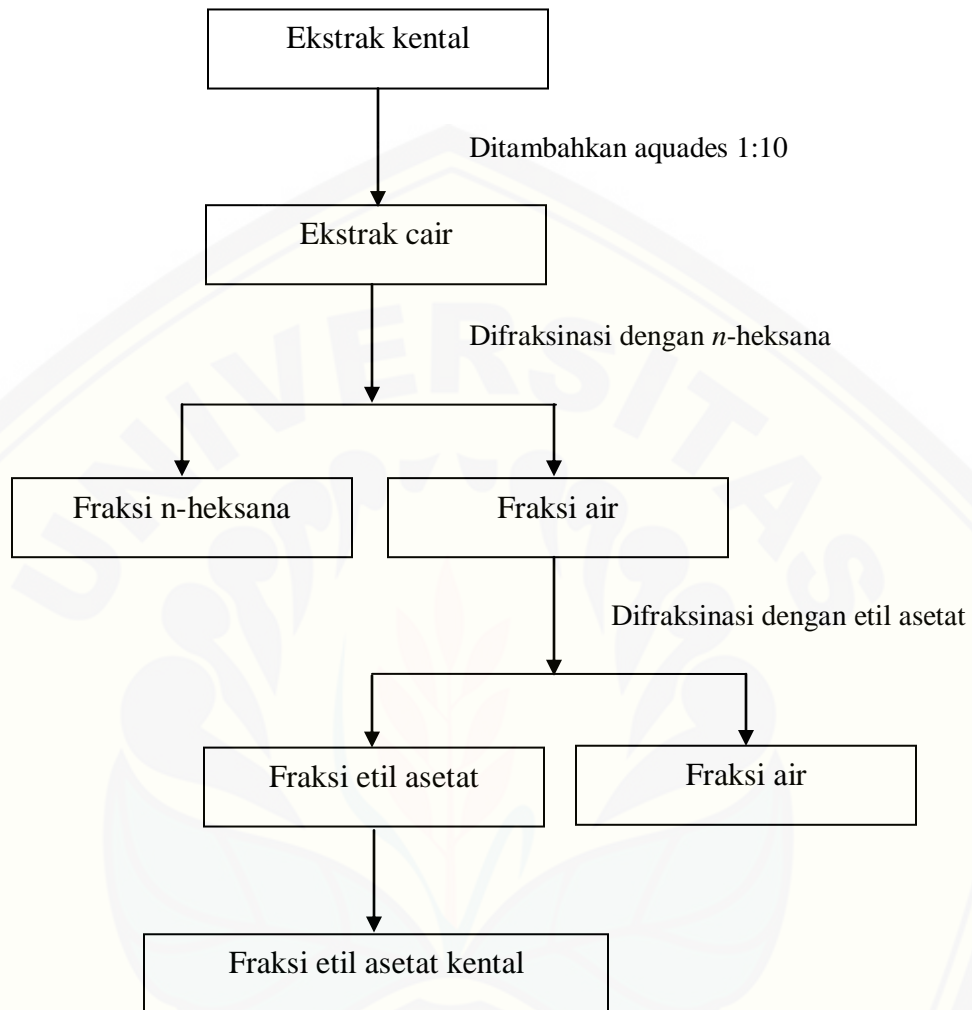
Data yang didapat dianalisis secara statistik dengan uji normalitas (Shapiro-Wilk) dan uji homogenitas. Jika hasil yang diperoleh normal dan homogen ($p > 0,05$), maka dilanjutkan dengan uji analisis varian satu arah ANOVA untuk melihat perbedaan IC_{50} . Jika terdapat perbedaan nilai IC_{50} yang signifikan ($p < 0,05$) antarvarian buah kenitu, maka dilanjutkan dengan uji LSD untuk mengetahui varian mana yang berbeda signifikan (Besral, 2010).

Apabila data yang diperoleh tidak terdistribusi secara normal dan tidak homogen, maka terlebih dulu dilakukan transformasi data. Jika data yang telah ditransformasi tetap menunjukkan data tidak normal dan tidak homogen, maka dilakukan analisis data dengan uji Kruskal-Wallis. Selanjutnya, apabila data menunjukkan hasil berbeda signifikan ($p < 0,05$) dilanjutkan dengan uji *post hoc* Mann-Whitney (Santjaka, 2011).

3.8 Skema Penelitian



Gambar 3.1 Skema uji aktivitas inhibisi enzim alfa-glukosidase



Gambar 3.2 Skema fraksinasi ekstrak buah kenitu

BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa:

1. Golongan senyawa yang terkandung dalam fraksi etil asetat buah kenitu semua varian adalah alkaloid, polifenol, flavonoid, steroid bebas, dan triterpenoid.
2. Sampel fraksi etil asetat buah kenitu varian BB, BK, HL dan U memiliki aktivitas penghambatan enzim alfa-glukosidase dengan nilai IC_{50} setiap varian adalah BB ($3,767 \pm 0,178 \mu\text{g/mL}$); BK ($2,159 \pm 0,035 \mu\text{g/mL}$); HL ($2,745 \pm 0,147 \mu\text{g/mL}$); U ($0,895 \pm 0,013 \mu\text{g/mL}$).
3. Sampel fraksi etil asetat buah kenitu varian BB, BK, HL dan U memiliki perbedaan aktivitas penghambatan enzim alfa-glukosidase yang signifikan satu sama lain melalui uji LSD ($p < 0,05$).

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian ini, perlu dilakukan pengujian lebih lanjut dengan menggunakan enzim alfa-glukosidase yang berasal dari mamalia, mengingat perbedaan kemampuan penghambatan masing-masing obat terhadap sumber enzim yang digunakan. Selain itu perlu dilakukan isolasi senyawa aktif yang diduga memberikan kemampuan sebagai penghambat enzim alfa-glukosidase seperti polifenol, flavonoid dan steroid.

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 Flavonoids from *Albizzia Lebbeck Benth. Bark*. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 14 (55): 1-12.
- Alberti, K. G. M. M. dan P. Z. Zimmet. 1998. Definition , Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus and Its Complications part 1 : diagnosis and classification of diabetes mellitus provisional report of a who consultation. *Diabetic Medicine*. 15:539–553.
- American Diabetes Association. 2012. *Definition and Description of Diabetes Mellitus*. [serial on line]. http://carae.diabetesjournals.org/content/27/suppl_1/s5.full#sec-2 [Diakses pada 22 Desember 2016].
- American Diabetes Association. 2013. *Standards of Medical Care in Diabetes-2013*. [serial on line]. http://care.diabetesjournals.org/content/diacare/36/Supplement_1/S11.full.pdf [Diakses pada 22 Desember 2016].
- American Diabetes Association. 2014. *Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus*. [serial on line]. http://care.diabetesjournals.org/content/37/Supplement_1/S81 [Diakses pada 22 Desember 2016].
- Babu, M.A., Suriyakala, M. A., dan Gothandam, K. M. 2012. Varietal Impact on Phytochemical Contents and Antioxidant Properties of *Musa acuminata* (Banana). *Journal of Pharmaceutical Science and Research*. 4 (10): 1950-1955.
- Bello, A., Aliero, A.A., Saidu, Y., dan Muhammad, S. 2011. Phytochemical Screening Polyphenolic Content and Alpha-Glucosidase Inhibitory Potential of *Leptadenia hastata* (Pers.) Decne. *Nigerian Journal of Basic and Science*. 19 (2): 181-186.
- Besral. 2010. *Pengolahan dan Analisis data-I menggunakan SPSS*. Depok: UI.
- Bischoff, H. 1994. Pharmacology of α -Glucosidase Inhibition. *European Journal of Clinical Investigation*. 24(3): 3-10.

- Bösenberg, L. H. dan D. G. Van Zyl. 2008. The mechanism of action of oral antidiabetic drugs: a review of recent literature. *Journal of Endocrinology, Metabolism and Diabetes of South Africa*. 13(3):80–89.
- Canadian Diabetes Association (CDA). 2013. Definition, Classification and Diagnosis of Diabetes, Prediabetes and Metabolic Syndrome. *Canadian Journal of Diabetes*. 37: S8-S11.
- Centers for Disease Control and Prevention (CDC). 2014. *National Diabetes Statistics Report, 2014*. Atlanta, GA: US Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention.
- Cihan, A. C., B. Ozcan, N. Tekin, dan C. Cokmus. 2010. Characterization of a thermostable α -glucosidase from *geobacillus thermodenitrificans* f84a. *Current Research, Technology and Education Topics in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology*. 945–955.
- Departemen Kesehatan RI. 1989. *Materia Medika Indonesia V*. Jakarta: Depkes RI.
- Departemen Kesehatan RI. 1995. *Farmakope Indonesia*. Edisi IV. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Departemen Kesehatan RI. 2000. Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan, Direktorat Pengawasan Obat Tradisional. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 10-11.
- Departemen Kesehatan RI. 2005. *Pharmaceutical Care untuk Penyakit Diabetes Mellitus*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI, Direktorat Jenderal, Bina Kefarmasian dan Alat Kesehatan.
- Dine, R. S. E., Ma Q., Zeinab, A., Kandil, A., dan El-Halawany. 2014. Triterpenes as Uncompetitive Inhibitors of α -Glucosidase from Flowers of *Punica granatum* L. *Natural Product Research: Formerly Natural Product Letters*. 1: 1-4.
- Einbond, L. S., Reynertson, K, A., Luo, X. D., Basile, M. J., dan Kennelly, E. J. 2004. Anthocyanin Antioxidants from Edible Fruits. *Food Chemistry*. 84(1): 23-28.
- Gholamhoseinian, A., Fallah, H., dan Sharififar, F. 2009. Inhibitory Effect of Methanol Extract of *Rosa damascena* Mill, flowers on α -Glucosidase Activity and Postprandial Hyperglycemia in Normal and Diabetic Rats. *Phytomedicine*. 16: 935-941.

- Griffiths, D. W., dan Moseley, G. 1980. The Effect of Diets Containing Field Beans of High or Low Polyphenolic Content on the Activity of Digestive Enzymes in the Intestines of Rats. *J. Sci. Food Agric.* 31: 255-259.
- Hanhineva, K., R. Törrönen, I. Bondia-Pons, J. Pekkinen, M. Kolehmainen, H. Mykkänen, dan K. Poutanen. 2010. Impact of dietary polyphenols on carbohydrate metabolism. *International Journal of Molecular Sciences.* 11(4):1365–1402.
- Harborne, J. 1996. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan.* Cetakan Kedua. Penerjemah: Padmawinata, K. Dan I. Soediro. Bandung: Penerbit ITB.
- Hermanto, C., Indriani, N. L., dan Hadiati, S. 2013. *Keragaman dan Kekayaan Buah Tropika Nusantara.* Jakarta: Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian, Kementerian Pertanian.
- Hidayat, M. A., dan Umiyah. 2015. Pengujian Antiradikal Bebas Difenilpikril Hidrazil (DPPH) Ekstrak Buah Kenitu (*Chrysophyllum cainito* L.) dari Daerah Sekitar Jember. *Jurnal Ilmu Dasar.* 6(2): 110-114.
- Hidayat, M. A., dan Ulfa, E. U. 2016. Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Etil Asetat Buah Kenitu (*Chrysophyllum cainito* L.) dari Daerah Jember. *Spirulina.* 1(1): 79-88.
- Hidayat, M. A., Umiyah, dan Ulfa, E. U. 2015. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Airdan Ekstrak Metanol Beberapa Varian Buah Kenitu (*Chrysophyllum cainito* L.) dari Daerah Jember. *Berk Penel Hayati.* 13: 45-50.
- Hikmah, Z. 2015. Uji Aktivitas Inhibitor A-glukosidase Fraksi Etanol Daun Kenitu (*Chrysophyllum cainito* L.) Berbagai Varian dari Daerah Jember. *Skripsi.* Fakultas Farmasi Universitas Jember.
- Hong, H., Li, S., Zhang, X., Ye, W., & Zhang, Q. 2013. Flavonoids with α -glucosidase Inhibitory Activities and Their Contents in the Leaves of *Morus atropurpurea*. *Chinese Medicine.* 8 (19): 1-7.
- Hung, P. V., dan Duy, T. L. 2012. Effect of Drying Methods on Bioactive Compounds of Vegetables and Correlation Between Bioactive Compounds and Their Antioxidants. *International Food Research Journal.* 19(1): 327-332.

- ITIS. 2015. *Chrysophyllum cainito* L. [serial on line]. https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=23811#null [Diakses pada 20 Desember 2016].
- Kemenkes RI. 2013. Delegasi Kemenkes Indonesia pada Acara International Conference on Traditional Medicine for South-Ea. Jakarta. [serial on line]. <http://www.depkes.go.id/article/view/2256/delegasi-kemenkes-indonesia-pada-acara-international-conference-on-traditional-medicine-for-south-ea.html> [Diakses 20 Desember 2016].
- Kemenkes RI. 2014. *INFODATIN. Situasi dan Analisis Diabetes*. Jakarta: Pusat Data dan Informasi Kementerian Kesehatan RI.
- Kemenkes RI. 2014. Pusat data dan informasi. [serial on line]. http://carae.diabetesjournals.org/content/27/suppl_1/s5.full#sec-2 [Diakses pada 21 Desember 2016].
- Kim, S. D., dan Nho, H. J. 2004. Isolation and Characterization of α -Glucosidase Inhibitor from The Fungus *Ganoderma lucidum*. *Journal of Microbiology*. 42: 223-227.
- Kimura, A. 2000. Molecular Anatomy of α -Glukosidase. *Trends in Glycoscience and Glycotechnology*. 12 (68): 373-380.
- Kimura, A., Lee, J. H., Lee, I. S., Lee, H. S., Park, K. H., Chiba, S., & Kim, D. 2004. Two Potent Competitive Inhibitors Discriminating α -Glucosidase Family I from Family II. *Carbohydrate Research*. 339 (6): 1035-1040.
- Koffi, N., A. K. Ernest, T. Marie-solange, K. Beugré, dan Z. G. Noël. 2009. Effect of aqueous extract of *chrysophyllum cainito* leaves on the glycaemia of diabetic rabbits. 3(October):501–506.
- Konsensus Nasional Pengelolaan Diabetes Mellitus Tipe 1. 2009. *UKK Endokrinologi Anak dan Remaja, IDAI-World Diabetes Foundation*. Jakarta: Badan Penerbit IDAI.
- Lai, Y. C., Chen, C. K., Tsai, S. F., dan Lee, S. S. 2012. Triterpenes as α -Glucosidase Inhibitors from *Fagus hayatae*. *Phytochemistry*. 74: 206-211.
- Lebovitz, H. E. 1997. Alpha-glucosidase inhibitors. *Current Therapies for Diabetes*. 26(3):539–551.

- Lee, Y. A., Cho, E. J., Tanaka, T., dan Yokozawa, T. 2006. Inhibitory Activities of Proanthocyanidins from Persimmon againsts Oxidative Stress and Digestive Enzymes Related to Diabetes. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*. 53: 287-292.
- Lee, S. Y., Mediani, A., Ashikin, N. A. H., Azliana, A.B. S., dan Abas, F. 2014. Antioxidant and α -glucosidase inhibitory activities of the leaf and stem of selected traditional medicinal plants. *International Food Research Journal*. 21(1): 165-172.
- Luo, X.-D., M. J. Basile, dan E. J. Kennelly. 2002. Polyphenolic antioxidants from the fruits of *Chrysophyllum cainito* L. (star apple). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 50(6):1379–1382.
- Mao, L.-M., X.-W. Qi, J.-H. Hao, H.-F. Liu, Q.-H. Xu, dan P.-L. Bu. 2015. In vitro, ex vivo and in vivo anti-hypertensive activity of *Chrysophyllum cainito* L. extract. *International Journal of Clinical and Experimental Medicine*. 8(10):17912–17921.
- Matsui, T., C. Yoshimoto, K. Osajima, T. Oki, dan Y. Osajima. 1996. In vitro survey of α -glucosidase inhibitory food components. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*. 60(12):2019–2022.
- Meira, N. A., Klein, L. C., Rocha, L. W., Quintal, Z. M., Monache, F. D., Filho, V. C., dan Quintão, N. L. M. 2014. Anti-Inflammatory and Anti-Hypersensitive Effects of The Crude Extract, Fractions and Triterpenes Obtained from *Chrysophyllum cainito* Leaves in Mice. *Journal of Ethnopharmacology*. 975-983.
- Moradi-Afrapoli, F., Behavar, A., Soodabeh, S., Yusef, A., Mobina, M., Maryam, M., Reza, D. B., Abbas, H., Peyman, S., Mattlas, H., dan Narguess, Y. 2012. *In vitro* Alpha-glucosidase Inhibitory Activity of Phenolic Constituents from Aerial Parts of *Polygonum hyrcanicum*. *DARU Journal of Pharmaceutical Sciences*. 20 (37): 3-6.
- Morton, J. 1987. Star Apple, in: *Fruits of Warm Climates*, Miami Florida. 408-410. [serial on line]. http://hort.purdue.edu/newcrop/morton/star_apple.html [Diakses pada 20 Desember 2016].
- Muchid, A., F. Umar, M. N. Ginting, C. Basri, R. Wahyuni, R. Helmi, dan S. N. Istiqomah. 2005. Pharmaceutical care untuk penyakit diabetes mellitus. *Departemen Kesehatan RI*. 1–89.



- Orwa, C., Mutua, A., Kindt, R., Jamnadass, R., dan Simons, A. 2009. Agroforestry Database: a tree reference and selection guide version 4.0. <http://www.worldagroforestry.org/treedb2/speciesprofile.php?Spid=524>[22 Desember 2017].
- Othman, O. C. 2012. Polyphenoloxidase and Peroxidase Activity During Open Air Ripening Storage of Pineapple (*Ananas comusus L.*), Mango (*Mangifera indica*) and Papaya (*Carica papaya*) Fruits Grown in Dar Es Salaam Tanzania. *Tanz J Sci.* 38(3): 84-94.
- Patel, D., R. Kumar, D. Laloo, dan S. Hemalatha. 2012. Diabetes mellitus: an overview on its pharmacological aspects and reported medicinal plants having antidiabetic activity. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine.* 2(5):411–420.
- Pasaribu, G. 2010. Aktivitas Inhibisi α -Glukosidase pada Beberapa Jenis Kulit Kayu Raru. *Jurnal Penelitian Hasil Hutan.* 29(1): 10–19.
- Perkumpulan Endokrinologi Indonesia (PERKENI). 1998. *Konsensus Pengelolaan Diabetes Mellitus di Indonesia.* Jakarta: Perkeni.
- Putri, L. A. 2015. Uji Aktivitas Inhibisi α -Glukosidase Fraksi Etil Asetat Beberapa Varian Daun Kenitu (*Chrysophyllum cainito L.*) Daerah Jember Sebagai Antidiabetes. *Skripsi.* Fakultas Farmasi Universitas Jember.
- Rosak, C. dan G. Mertes. 2012. Critical evaluation of the role of acarbose in the treatment of diabetes : patient considerations. *Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy.* 5:357–367.
- Rottie, J. 2016. Pengaruh senam diabetes melitus terhadap kadar gula darah penderita diabetes melitus tipe 2 di sanggar senam persadia kabupaten gorontalo. *E-Journal Keperawatan.* 4
- Rustama, D. S., Subardja, D., Oentario, M. C., Yati, N. P., Satriyono, dan Harjantien, N. 2010. *Diabetes Melitus.* Dalam: Jose, R. L *et al.* Buku Ajar Endokrinologi Anak. Jakarta: Sagung Seto.
- Scheepers, A., Joost, H. G., dan Schurmann, A. 2004. The Glucose Transporter Families SGLT and GLUT: Molecular Basis of Normal and Aberrant Function. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition.* 28 (5): 364-371.

Shailajan, S. dan Gurjar, D. 2014. Pharmacognostic and Phytochemical Evaluation of *Chrysophyllum cainito* Linn. Leaves. *J.Pharm.Sci.Rev.* 26(1): 106-111.



- Shinde, J., Taldone, T., Barletta, M., Kunaparaju, N., Hu, B., Kumar, S., Placido, J., & 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*. 343: 1278–1281.
- 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.
- Suyono, S. 2011. *Kecenderungan Peningkatan Jumlah Penyandang Diabetes*. Dalam: Soegondo, S., Soewondo, P., Subekti, I. *Penatalaksanaan Diabetes Melitus Terpadu*. Jakarta: Pusat Diabetes dan Lipid RSUP Nasional Dr Cipto Mangunkusumo FK UI.
- Tadera, K., Minami, Y., Takamatsu, K., dan Matsuoka, T. 2006. Inhibition of α Glucosidase and α - Amylase by Flavonoids. *Journal of Nutrition Science and Vitaminology*. 52: 149-153.
- Talreja, S., dan Kaur, C. D. 2014. Fighting Diabetes with Herbal Technological Developments. *World Journal of Pharmaceutical Research*. 3(2): 2842- 2867.
- Thinkratok, A., Supkamonseni, N., dan Srisawat R. 2014. Inhibitory Potential of The Rambutan Rind Extract and Tannin againts Alpha-Amylase and Alpha-Glucosidase Activities in vitro. *Biological and Medicinal Sciences*. 1: 28-29.
- Uji, T. 2005. Keanekaragaman Jenis dan Sumber Plasma Nutfah *Durio (Durio sp.)* di Indonesia. *Bul. Plasma Nutfah*. 11(1): 28-33.
- Vinuthan, M. K., Girish, K. V., Ravindra, J. P., dan Jayaprakash, N. K. 2004. Effect of Extracts of *Murraya Koenigii* Leaves on the Levels of Blood Glucose and Plasma Insulin in Alloxan-Induced Diabetic Rats. *Indian J Phy Pharm*. 48 (3): 348-352.
- Widowati, L., Dzulkarnain, B., dan Sa'roni. 1997. Tanaman Obat untuk Diabetes Mellitus. *Cermin Dunia Kedokteran*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI.
- Williamson, G. 2013. Possible effects of dietary polyphenols on sugar absorption and digestion. *Molecular Nutrition & Food Research*. 57(1):48–57.
- World Health Organization. 2007. The world health report 2007: a safer future. *Global Public Health*. 96.

Zuhro, F. 2015. Uji Aktivitas Inhibitor α -Glukosidase Ekstrak Etanol 70% Daun Kenitu. *Skripsi*. Fakultas Farmasi Universitas Jember.



LAMPIRAN

LAMPIRAN A. PERHITUNGAN PENYIAPAN BAHAN-BAHAN

A.1 Larutan Dapar

a) Massa kalium dihidrogenfosfat (KH_2PO_4) 0,2 M

$$\text{Rumus : } M = \frac{\text{Massa}}{\text{BM}} \times \frac{1000}{V}$$

$$g = \frac{\text{Massa} \times \text{BM} \times V}{1000}$$

$$g = \frac{0,2 \times 136,09 \times 150}{1000} = 4,0827 \text{ g dalam 150 ml akuades.}$$

b) Massa natrium hidroksida (NaOH) 0,2 M

$$\text{Rumus : } M = \frac{\text{Massa}}{\text{BM}} \times \frac{1000}{V}$$

$$g = \frac{\text{Massa} \times \text{BM} \times V}{1000}$$

$$g = \frac{0,2 \times 40 \times 100}{1000} = 0,8 \text{ g dalam 100 ml akuades.}$$

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

a) Massa pNPG untuk larutan induk pNPG 20 mM

$$\text{Rumus : } \text{mM} = \frac{\text{Massa}}{\text{BM}} \times \frac{1000}{V}$$

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

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

b) Pengenceran larutan induk pNPG 20 mM

1. $\frac{5 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 20 \text{ mM} = 10 \text{ mM} \rightarrow$ dipipet 5 ml dari larutan substrat 20 ml, dimasukkan dalam vial, ditambahkan dapar 10 ml.

2. $\frac{5 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 10 \text{ mM} = 5 \text{ mM}$

3. $\frac{5 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 5 \text{ mM} = 2,5 \text{ mM}$
4. $\frac{5 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 2,5 \text{ mM} = 1,25 \text{ mM}$
5. $\frac{5 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 1,25 \text{ mM} = 0,625 \text{ mM}$

A.3 Larutan Natrium Karbonat 50 ml

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

$$g = \frac{\text{mM} \times \text{BM} \times \text{ml}}{1000}$$

$$g = \frac{0,2 \times 106 \times 50}{1000} = 1,06 \text{ g}$$

A.4 Pengenceran Larutan Enzim 0,5 U/ml

1. $\frac{3 \text{ ml}}{5 \text{ ml}} \times 0,5 \text{ U/ml} = 0,3 \text{ U/ml} \rightarrow$ dipipet 3 ml dari larutan enzim 0,5 U/ml, dimasukkan dalam vial, ditambahkan dapar 2 ml.
2. $\frac{3 \text{ ml}}{6 \text{ ml}} \times 0,5 \text{ U/ml} = 0,25 \text{ U/ml}$
3. $\frac{2 \text{ ml}}{5 \text{ ml}} \times 0,5 \text{ U/ml} = 0,2 \text{ U/ml}$
4. $\frac{3 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 0,5 \text{ U/ml} = 0,15 \text{ U/ml}$
5. $\frac{1 \text{ ml}}{5 \text{ ml}} \times 0,5 \text{ U/ml} = 0,1 \text{ U/ml}$
6. $\frac{1 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 0,5 \text{ U/ml} = 0,05 \text{ U/ml}$

A.5 Pengenceran Sampel Fraksi Etil Asetat Berbagai Varian

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

$$3. \frac{2,5 \text{ ml}}{5 \text{ ml}} \times 100 = 50 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$4. \frac{2,5 \text{ ml}}{5 \text{ ml}} \times 50 = 25 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

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

$$6. \frac{0,5 \text{ ml}}{5 \text{ ml}} \times 50 = 5 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$7. \frac{0,5 \text{ ml}}{5 \text{ ml}} \times 10 = 1 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$8. \frac{0,5 \text{ ml}}{5 \text{ ml}} \times 5 = 0,5 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$9. \frac{0,5 \text{ ml}}{5 \text{ ml}} \times 1 = 0,1 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$10. \frac{1,5 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 0,5 = 0,075 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$11. \frac{0,5 \text{ ml}}{5 \text{ ml}} \times 0,5 = 0,05 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$12. \frac{0,5 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 0,5 = 0,025 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$13. \frac{0,5 \text{ ml}}{5 \text{ ml}} \times 0,1 = 0,01 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

A.6 Pengenceran Akarbose

$$\text{Induk : } \frac{500 \text{ mg}}{25 \text{ ml}} \times 1000 = 20.000 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$1. \frac{3,75 \text{ ml}}{5 \text{ ml}} \times 20.000 = 15.000 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$2. \frac{5 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 20.000 = 10.000 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

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

$$4. \frac{2,5 \text{ ml}}{5 \text{ ml}} \times 10.000 = 5.000 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$5. \frac{1,25 \text{ ml}}{5 \text{ ml}} \times 10.000 = 2.500 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

A.7 Bobot Rendemen Ekstrak Buah Kenitu

a. Ekstrak U = $\frac{40,14 \text{ g}}{250,03 \text{ g}} \times 100\% = 16,054\%$

b. Ekstrak BB = $\frac{23,07 \text{ g}}{250 \text{ g}} \times 100\% = 9,228\%$

c. Ekstrak BK = $\frac{33,03 \text{ g}}{250,02 \text{ g}} \times 100\% = 13,211\%$

d. Ekstrak HL = $\frac{38,68 \text{ g}}{250,04 \text{ g}} \times 100\% = 15,469\%$

A.8 Bobot Rendemen Fraksi Buah Kenitu

a. Fraksi U = $\frac{0,28 \text{ g}}{20,02 \text{ g}} \times 100\% = 1,398\%$

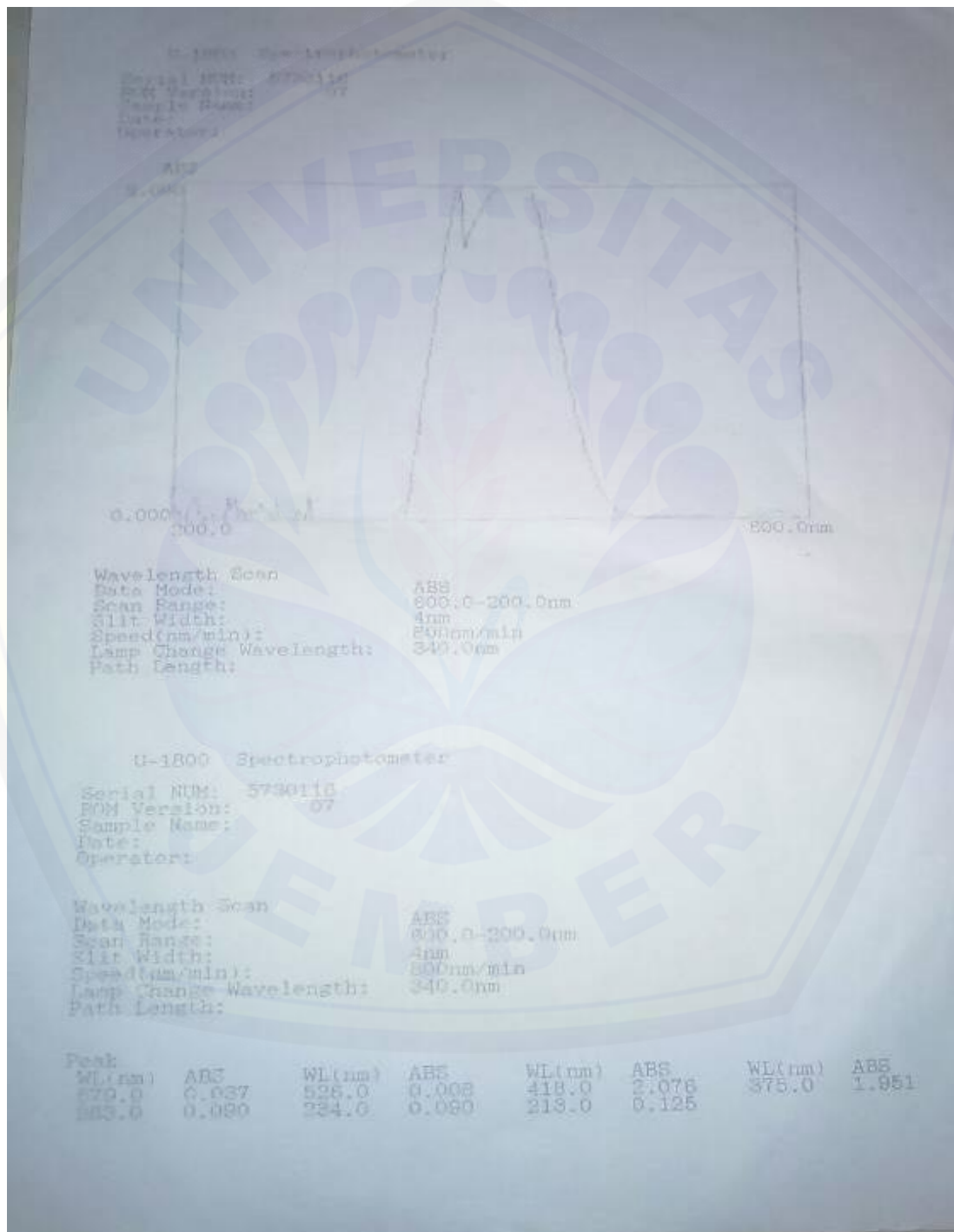
b. Fraksi BB = $\frac{0,48 \text{ g}}{20,04 \text{ g}} \times 100\% = 2,395\%$

c. Fraksi BK = $\frac{0,47 \text{ g}}{20,02 \text{ g}} \times 100\% = 2,348\%$

d. Fraksi HL = $\frac{0,48 \text{ g}}{20,04 \text{ g}} \times 100\% = 2,345\%$

LAMPIRAN B. DATA HASIL UJI PENDAHULUAN REAKSI ENZIMATIS

B.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum



U-1200 Spectrophotometer

Serial No: 5730116
 ROM Version: 07
 Sample Name:
 Date:
 Operator:

Wavelength Scan
 Data Mode: ABS
 Scan Range: 600.0-200.0nm
 Slit Width: 4nm
 Speed(nm/min): 800nm/min
 Lamp Change Wavelength: 340.0nm
 Path Length:

ALL Data	WL(nm)	ABS	WL(nm)	ABS	WL(nm)	ABS	WL(nm)	ABS
	600.0	-0.001	599.0	-0.005	598.0	-0.008	597.0	-0.008
	596.0	-0.005	595.0	-0.006	594.0	-0.004	593.0	-0.001
	592.0	0.002	591.0	0.006	590.0	0.010	589.0	0.013
	588.0	0.016	587.0	0.020	586.0	0.024	585.0	0.028
	584.0	0.031	583.0	0.034	582.0	0.036	581.0	0.036
	580.0	0.037	579.0	0.037	578.0	0.035	577.0	0.035
	576.0	0.033	575.0	0.031	574.0	0.028	573.0	0.025
	572.0	0.021	571.0	0.018	570.0	0.016	569.0	0.014
	566.0	0.012	567.0	0.010	566.0	0.008	565.0	0.007
	564.0	0.005	563.0	0.003	562.0	0.002	561.0	0.000
	560.0	-0.001	559.0	-0.003	558.0	-0.004	557.0	-0.006
	556.0	-0.008	555.0	-0.008	554.0	-0.010	553.0	-0.010
	552.0	-0.010	551.0	-0.010	550.0	-0.010	549.0	-0.010
	546.0	-0.009	547.0	-0.009	546.0	-0.008	545.0	-0.007
	544.0	-0.006	543.0	-0.005	542.0	-0.003	541.0	-0.001
	540.0	-0.000	539.0	0.001	538.0	0.002	537.0	0.002
	536.0	0.003	535.0	0.004	534.0	0.004	533.0	0.005
	532.0	0.006	531.0	0.006	530.0	0.007	529.0	0.007
	528.0	0.007	527.0	0.008	526.0	0.008	525.0	0.008
	524.0	0.007	523.0	0.007	522.0	0.006	521.0	0.005
	520.0	0.005	519.0	0.004	518.0	0.004	517.0	0.003
	516.0	0.003	515.0	0.003	514.0	0.003	513.0	0.003
	512.0	0.002	511.0	0.002	510.0	0.003	509.0	0.003
	508.0	0.003	507.0	0.003	506.0	0.003	505.0	0.003
	504.0	0.003	503.0	0.003	502.0	0.003	501.0	0.003
	500.0	0.003	499.0	0.003	498.0	0.003	497.0	0.004
	496.0	0.004	495.0	0.004	494.0	0.005	493.0	0.005
	492.0	0.005	491.0	0.005	490.0	0.007	489.0	0.008
	488.0	0.008	487.0	0.011	486.0	0.012	485.0	0.014
	484.0	0.016	483.0	0.019	482.0	0.022	481.0	0.026
	480.0	0.030	479.0	0.034	478.0	0.039	477.0	0.045
	476.0	0.053	475.0	0.061	474.0	0.070	473.0	0.081
	472.0	0.082	471.0	0.103	470.0	0.117	469.0	0.131
	466.0	0.147	467.0	0.174	466.0	0.183	465.0	0.202
	464.0	0.224	463.0	0.247	462.0	0.272	461.0	0.297
	460.0	0.326	459.0	0.353	458.0	0.384	457.0	0.415
	456.0	0.450	455.0	0.489	454.0	0.529	453.0	0.570
	452.0	0.613	451.0	0.659	450.0	0.704	449.0	0.752
	448.0	0.800	447.0	0.850	446.0	0.904	445.0	0.958
	444.0	1.016	443.0	1.076	442.0	1.137	441.0	1.195
	440.0	1.254	439.0	1.314	438.0	1.375	437.0	1.435
	436.0	1.495	435.0	1.555	434.0	1.615	433.0	1.670
	432.0	1.721	431.0	1.772	430.0	1.816	428.0	1.854
	426.0	1.959	427.0	1.925	426.0	1.955	425.0	1.983
	424.0	2.009	423.0	2.022	422.0	2.041	421.0	2.066
	420.0	2.066	419.0	2.071	418.0	2.076	417.0	2.078
	416.0	2.071	415.0	2.066	414.0	2.066	413.0	2.066
	412.0	2.060	411.0	2.051	410.0	2.046	409.0	2.046
	408.0	2.041	407.0	2.032	406.0	2.022	405.0	2.013
	404.0	2.004	403.0	2.000	402.0	1.991	401.0	1.983
	398.0	1.975	399.0	1.963	398.0	1.947	397.0	1.936
	396.0	1.925	395.0	1.907	394.0	1.895	393.0	1.879
	392.0	1.880	391.0	1.842	390.0	1.824	389.0	1.807
	388.0	1.791	387.0	1.772	386.0	1.755	385.0	1.735
	384.0	1.710	383.0	1.688	382.0	1.656	381.0	1.620
	380.0	1.627	379.0	1.621	378.0	2.066	377.0	1.581
	376.0	1.584	375.0	1.651	374.0	1.606	373.0	1.645
	372.0	1.594	371.0	1.743	370.0	1.601	369.0	1.649

369.0	1.579	367.0	1.513	366.0	1.459	365.0	1.399
364.0	1.331	363.0	1.282	362.0	1.195	361.0	1.133
360.0	1.075	359.0	1.012	358.0	0.949	357.0	0.886
358.0	0.820	355.0	0.751	354.0	0.680	353.0	0.614
352.0	0.549	351.0	0.479	350.0	0.408	349.0	0.339
348.0	0.273	347.0	0.208	346.0	0.142	345.0	0.076
344.0	0.010	343.0	-0.055	342.0	-0.113	341.0	-0.167
340.0	-0.248	339.0	-0.340	338.0	-0.403	337.0	-0.450
336.0	-0.507	335.0	-0.573	334.0	-0.629	333.0	-0.671
332.0	-0.713	331.0	-0.744	330.0	-0.757	329.0	-0.770
328.0	-0.775	327.0	-0.772	326.0	-0.775	325.0	-0.779
324.0	-0.779	323.0	-0.779	322.0	-0.779	321.0	-0.779
320.0	-0.779	319.0	-0.779	318.0	-0.779	317.0	-0.779
316.0	-0.774	315.0	-0.755	314.0	-0.755	313.0	-0.755
312.0	-0.755	311.0	-0.731	310.0	-0.705	309.0	-0.720
308.0	-0.736	307.0	-0.731	306.0	-0.726	305.0	-0.683
304.0	-0.682	303.0	-0.675	302.0	-0.662	301.0	-0.669
300.0	-0.643	299.0	-0.579	298.0	-0.536	297.0	-0.465
296.0	-0.380	295.0	-0.310	294.0	-0.243	293.0	-0.158
292.0	-0.097	291.0	-0.132	290.0	-0.184	289.0	-0.200
288.0	-0.125	287.0	-0.087	286.0	-0.043	285.0	0.048
284.0	0.125	283.0	0.090	282.0	0.028	281.0	-0.000
280.0	-0.000	279.0	-0.000	278.0	0.028	277.0	0.058
276.0	0.028	275.0	-0.000	274.0	-0.000	273.0	-0.000
272.0	-0.000	271.0	-0.000	270.0	-0.000	269.0	-0.000
268.0	-0.000	267.0	-0.035	266.0	-0.043	265.0	0.019
264.0	0.058	263.0	0.090	262.0	0.048	261.0	-0.018
260.0	0.019	259.0	0.058	258.0	0.058	257.0	0.058
256.0	0.058	255.0	0.058	254.0	0.090	253.0	0.090
252.0	0.058	251.0	0.058	250.0	0.028	249.0	0.028
248.0	0.058	247.0	0.058	246.0	0.058	245.0	0.028
244.0	-0.000	243.0	0.028	242.0	0.058	241.0	0.028
240.0	-0.000	239.0	0.028	238.0	0.050	237.0	0.125
236.0	0.090	235.0	0.058	234.0	0.090	233.0	0.125
232.0	0.048	231.0	-0.043	230.0	-0.067	229.0	-0.087
228.0	-0.087	227.0	-0.043	226.0	0.019	225.0	0.028
224.0	-0.000	223.0	-0.000	222.0	-0.000	221.0	-0.000
220.0	-0.035	219.0	-0.043	218.0	0.019	217.0	0.028
216.0	0.028	215.0	0.090	214.0	0.125	213.0	0.125
212.0	0.125	211.0	0.090	210.0	0.058	209.0	0.058
208.0	0.028	207.0	-0.000	206.0	-0.000	205.0	-0.000
204.0	0.028	203.0	0.058	202.0	0.028	201.0	0.028
200.0	0.090						

B.2 Optimasi Waktu Inkubasi

Waktu	Replikasi	Abs	Abs-Blanko	Rata-rata	SD
15 menit	1	0,378	0,32	0,31533	0,00723
	2	0,377	0,319		
	3	0,365	0,307		
30 menit	1	0,545	0,487	0,51367	0,02386
	2	0,591	0,533		
	3	0,579	0,521		
45 menit	1	0,64	0,582	0,64967	0,07067
	2	0,702	0,644		
	3	0,781	0,723		
60 menit	1	0,786	0,728	0,74267	0,04102
	2	0,847	0,789		
	3	0,769	0,711		
75 menit	1	0,843	0,785	0,81033	0,05187
	2	0,928	0,87		
	3	0,834	0,776		
90 menit	1	0,892	0,834	0,86167	0,02438
	2	0,938	0,88		
	3	0,929	0,871		
105 menit	1	0,858	0,8	0,845	0,05693
	2	0,967	0,909		
	3	0,884	0,826		
120 menit	1	0,911	0,853	0,84467	0,07186
	2	0,97	0,912		
	3	0,827	0,769		
135 menit	1	0,947	0,889	0,843	0,06471
	2	0,929	0,871		
	3	0,827	0,769		
Blanko	1	0,058			
	2	0,056			

3	0,059
Rata-rata Blanko	0,05767

B.3 Optimasi Konsentrasi Enzim

Konsentrasi Enzim	Replikasi	Abs	Abs-Blanko	Rata-rata	SD
0,05 U/ml	1	0,074	0,009	0,01	0,001
	2	0,076	0,011		
	3	0,075	0,01		
0,1 U/ml	1	0,076	0,011	0,006667	0,004041
	2	0,068	0,003		
	3	0,071	0,006		
0,15 U/ml	1	0,077	0,012	0,016667	0,004163
	2	0,085	0,02		
	3	0,083	0,018		
0,2 U/ml	1	0,146	0,081	0,132667	0,065987
	2	0,272	0,207		
	3	0,175	0,11		
0,25 U/ml	1	0,175	0,11	0,124667	0,033501
	2	0,228	0,163		
	3	0,166	0,101		
0,3 U/ml	1	0,253	0,188	0,198	0,01
	2	0,263	0,198		
	3	0,273	0,208		
0,5 U/ml	1	0,567	0,502	0,471	0,029206
	2	0,509	0,444		
	3	0,532	0,467		
Blanko	1	0,067			
	2	0,064			

	3	0,064
Rata-rata Blanko		0,065

B.4 Optimasi Konsentrasi Substrat

Konsentrasi Substrat	Replikasi	Abs	Abs-Blanko	Rata-rata	SD
0,625 mM	1	0,127	0,056	0,06	0,00458
	2	0,136	0,065		
	3	0,13	0,059		
1,25 mM	1	0,188	0,117	0,11267	0,01115
	2	0,192	0,121		
	3	0,171	0,1		
2,5 mM	1	0,394	0,323	0,294	0,03061
	2	0,368	0,297		
	3	0,333	0,262		
5 mM	1	0,335	0,264	0,33833	0,06442
	2	0,444	0,373		
	3	0,449	0,378		
10 mM	1	0,65	0,579	0,544	0,03208
	2	0,587	0,516		
	3	0,608	0,537		
20 mM	1	0,677	0,606	0,70167	0,09266
	2	0,862	0,791		
	3	0,779	0,708		
Blanko	1	0,071			
	2	0,07			
	3	0,071			
Rata-rata Blanko		0,07067			

LAMPIRAN C. DATA HASIL UJI AKTIVITAS HAMBATAN ENZIM ALFA-GLUKOSIDASE**C.1 Kontrol Negatif**

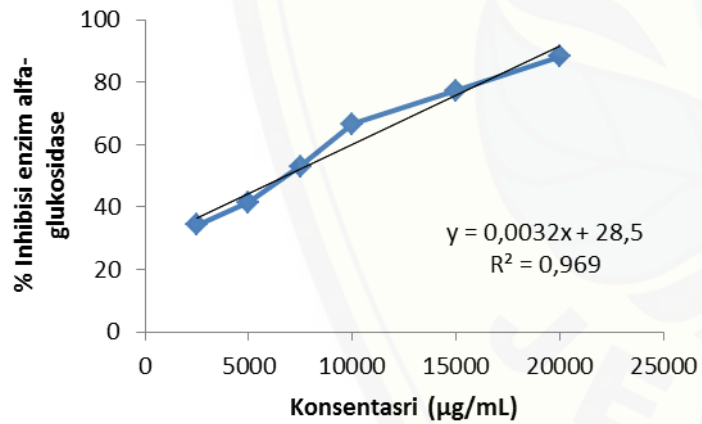
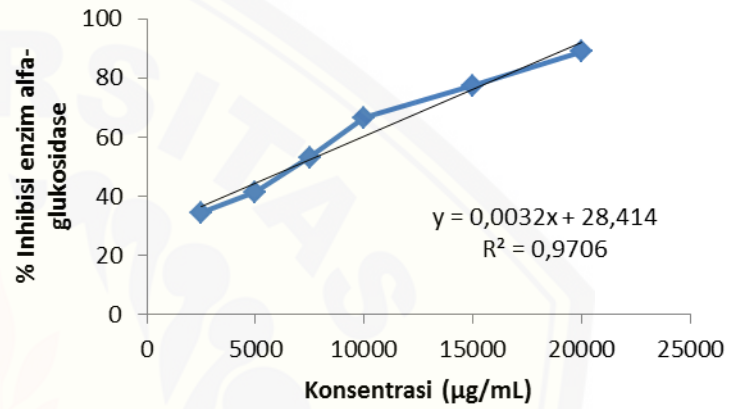
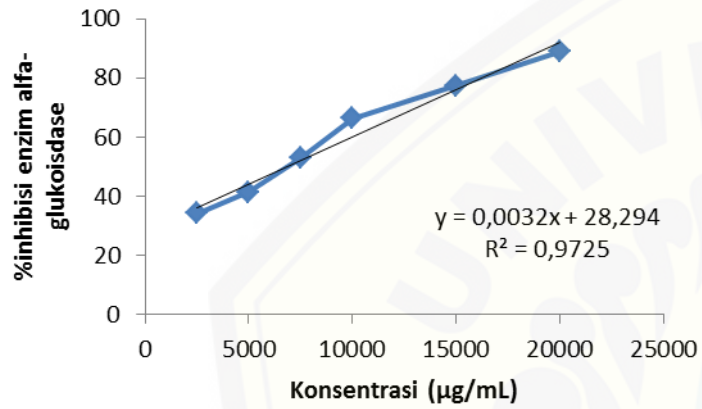
	K1			K0			K=K1-K0		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
Absorbansi	0,815	0,815	0,808	0,101	0,099	0,091	0,714	0,716	0,717

C.2 Kontrol Positif

a. Hasil Uji Aktivitas Hambatan Enzim Alfa-Glukosidase

Konsentrasi	A1			A0			A=A1-A0			Inhibisi %			Rata2 Inhibisi	
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	%	SD
2500	0,517	0,519	0,519	0,048	0,049	0,048	0,469	0,47	0,471	34,314	34,358	34,309	34,327	0,0266
5000	0,469	0,469	0,473	0,051	0,05	0,053	0,418	0,419	0,42	41,457	41,48	41,423	41,453	0,0291
7500	0,389	0,388	0,391	0,053	0,052	0,054	0,336	0,336	0,337	52,941	53,073	52,998	53,004	0,0658
10000	0,298	0,296	0,296	0,057	0,057	0,056	0,241	0,239	0,24	66,247	66,620	66,527	66,465	0,1945
15000	0,22	0,219	0,221	0,058	0,057	0,058	0,162	0,162	0,163	77,311	77,374	77,266	77,317	0,0542
20000	0,14	0,141	0,143	0,06	0,061	0,059	0,08	0,08	0,084	88,796	88,829	88,285	88,636	0,3045

b. Kurva Persamaan Regresi Konsentrasi vs Persen Hambatan

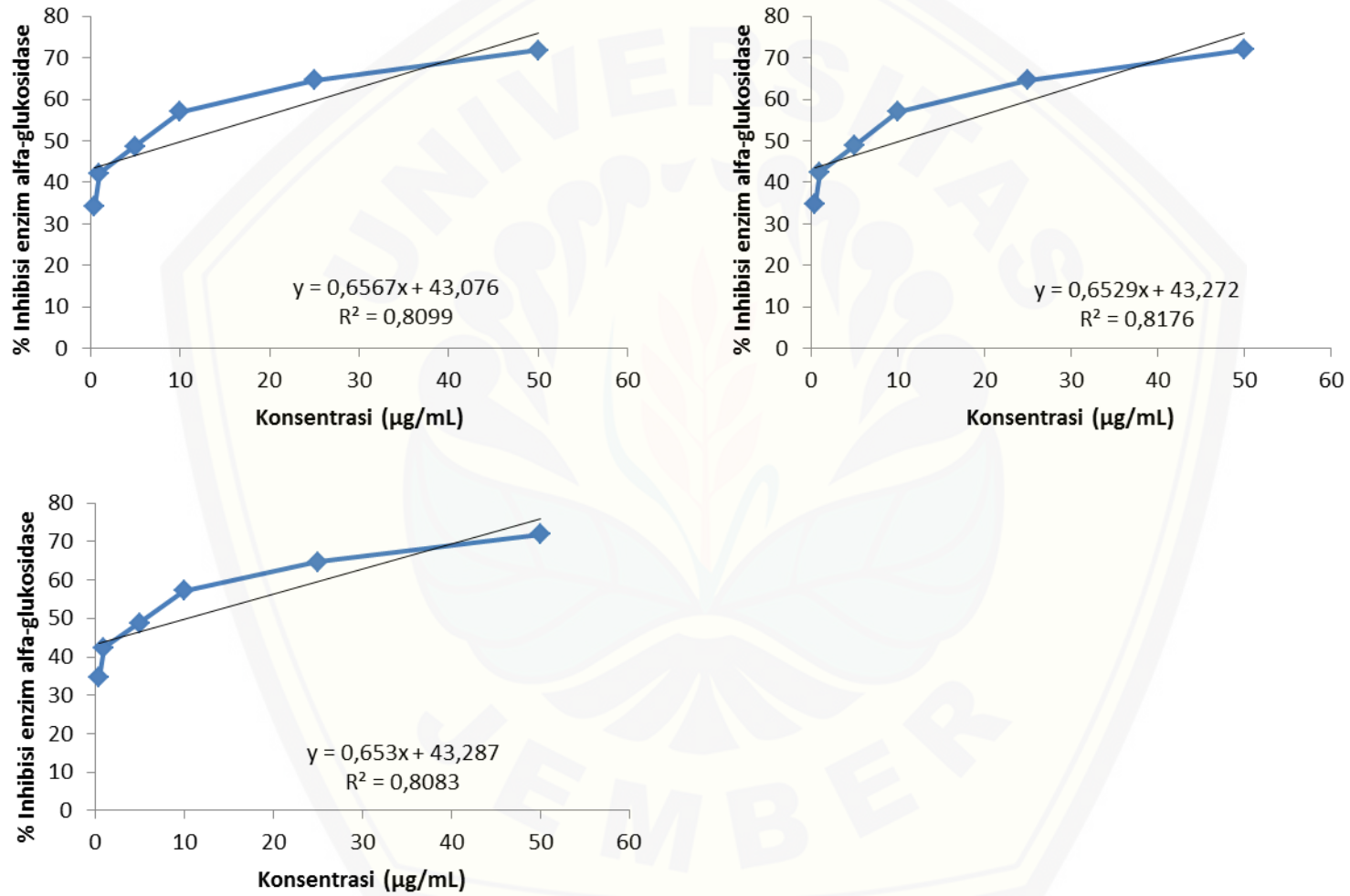


C.3 Sampel Varian BB

a. Hasil Uji Aktivitas Hambatan Enzim Alfa-Glukosidase

Konsentrasi	S1			S0			S=S1-S0			Inhibisi %			Rata2 Inhibisi	
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	%	SD
0,5	0,577	0,576	0,575	0,06	0,061	0,059	0,517	0,515	0,516	34,304	34,81	34,518	34,545	0,2524
1	0,515	0,517	0,515	0,06	0,062	0,061	0,455	0,455	0,454	42,186	42,405	42,386	42,325	0,1216
5	0,466	0,468	0,465	0,062	0,063	0,062	0,404	0,405	0,403	48,666	48,734	48,858	48,752	0,0973
10	0,401	0,404	0,402	0,063	0,064	0,065	0,338	0,34	0,337	57,042	56,962	57,234	57,083	0,1383
25	0,343	0,345	0,345	0,064	0,065	0,065	0,279	0,28	0,28	64,549	64,557	64,647	64,524	0,0498
50	0,287	0,288	0,288	0,065	0,066	0,066	0,222	0,222	0,222	71,792	71,899	71,827	71,839	0,0545

b. Kurva Persamaan Regresi Konsentrasi vs Persen Hambatan

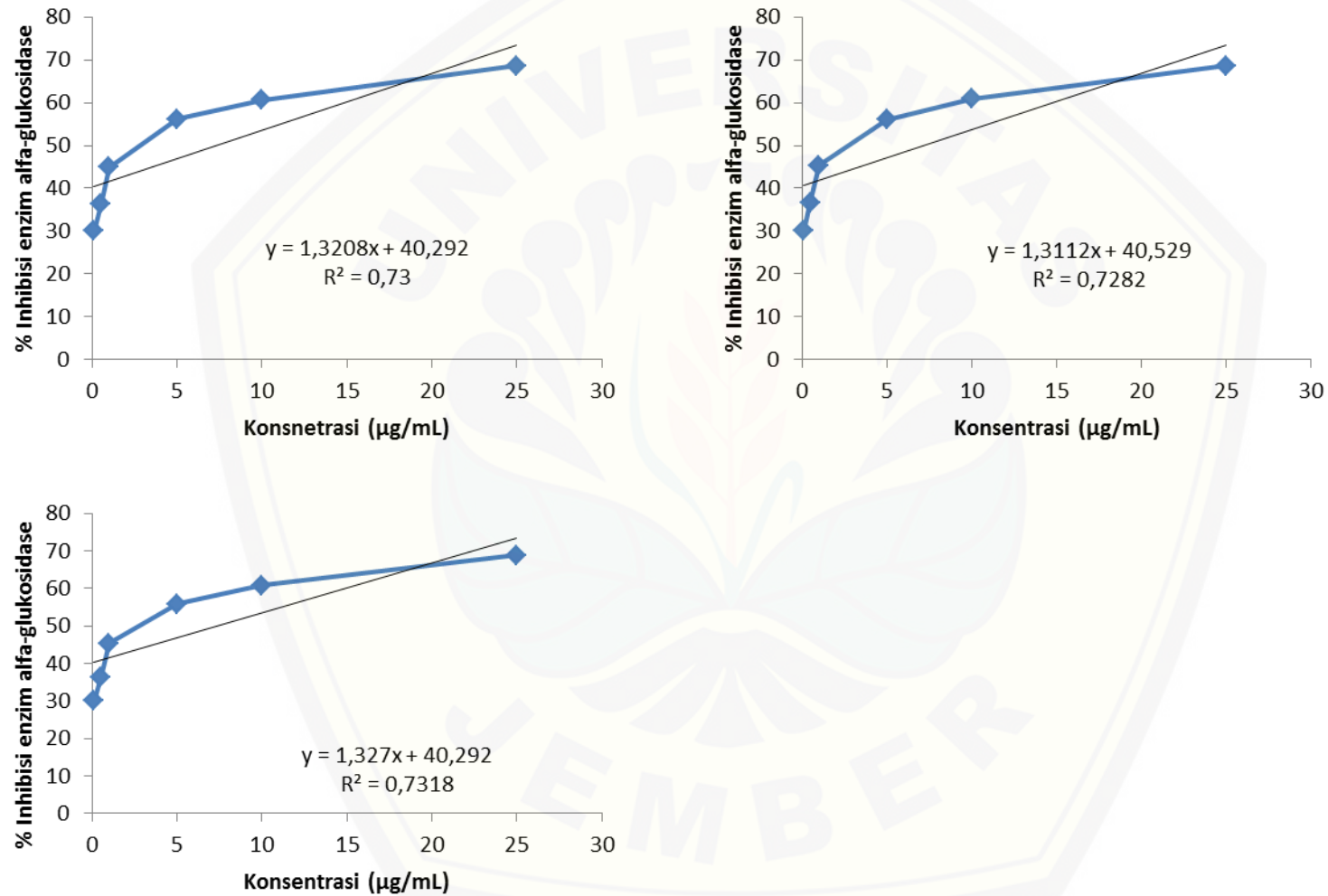


C.4 Sampel Varian BK

a. Hasil Uji Aktivitas Hambatan Enzim Alfa-Glukosidase

Konsentrasi	S1			S0			S=S1-S0			Inhibisi %			Rata2 Inhibisi	
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	%	SD
0,1	0,603	0,605	0,606	0,053	0,054	0,054	0,55	0,551	0,552	30,114	30,253	29,949	30,106	0,1522
0,5	0,557	0,555	0,557	0,055	0,054	0,055	0,502	0,501	0,502	36,213	36,582	36,294	36,363	0,1938
1	0,489	0,487	0,486	0,056	0,055	0,055	0,433	0,432	0,431	44,981	45,316	45,305	45,201	0,1904
5	0,402	0,404	0,404	0,057	0,057	0,056	0,345	0,347	0,348	56,163	56,076	55,838	56,025	0,1683
10	0,368	0,366	0,366	0,058	0,057	0,057	0,31	0,309	0,309	60,609	60,886	60,787	60,761	0,1398
25	0,305	0,307	0,304	0,058	0,059	0,058	0,247	0,248	0,246	68,615	68,608	68,782	68,668	0,0985

b. Kurva Persamaan Regresi Konsentrasi vs Persen Hambatan

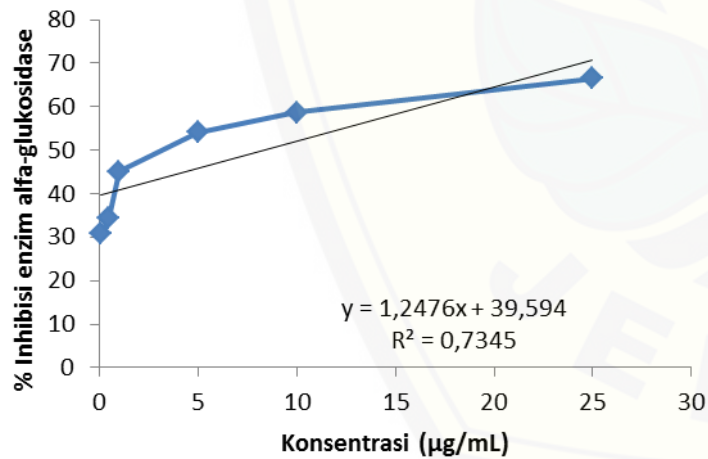
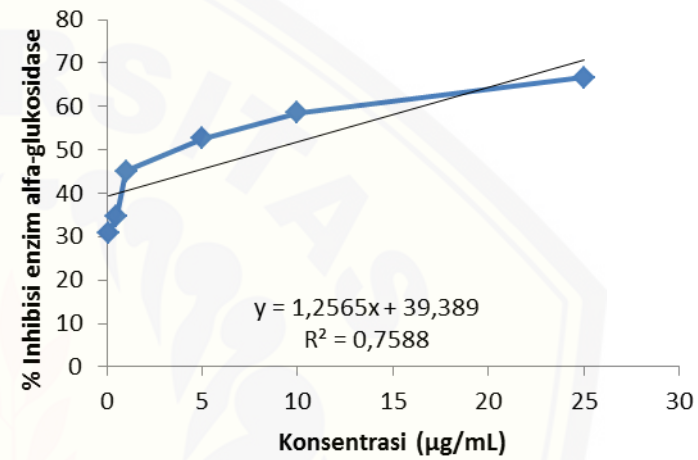
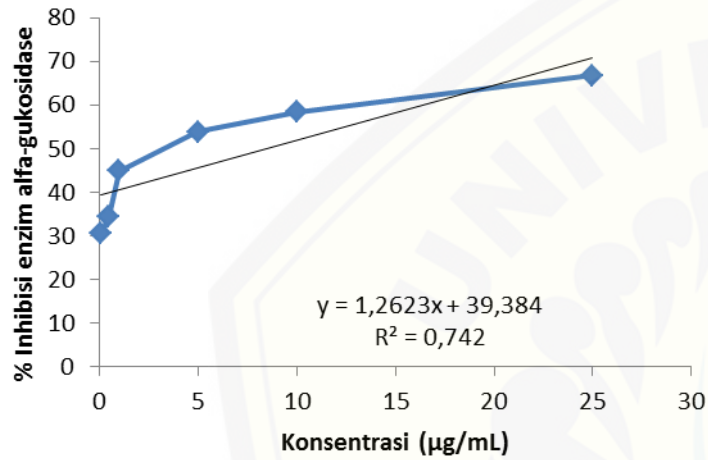


C.5 Sampel Varian HL

a. Hasil Uji Aktivitas Hambatan Enzim Alfa-Glukosidase

Konsentrasi	S1			S0			S=S1-S0			Inhibisi %			Rata2 Inhibisi	
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	%	SD
0,1	0,605	0,603	0,603	0,058	0,057	0,057	0,547	0,546	0,546	30,496	30,886	30,711	30,697	0,1956
0,5	0,574	0,575	0,574	0,058	0,059	0,058	0,516	0,516	0,516	34,435	34,684	34,518	34,545	0,1268
1	0,493	0,493	0,491	0,059	0,059	0,058	0,434	0,434	0,433	44,854	45,063	45,051	44,989	0,1175
5	0,423	0,435	0,421	0,06	0,061	0,059	0,363	0,374	0,362	53,875	52,658	54,061	53,532	0,7619
10	0,387	0,389	0,387	0,06	0,062	0,061	0,327	0,327	0,326	58,449	58,608	58,629	58,562	0,098
25	0,321	0,323	0,325	0,059	0,06	0,061	0,262	0,263	0,264	66,709	66,709	66,497	66,638	0,1221

b. Kurva Persamaan Regresi Konsentrasi vs Persen Hambatan

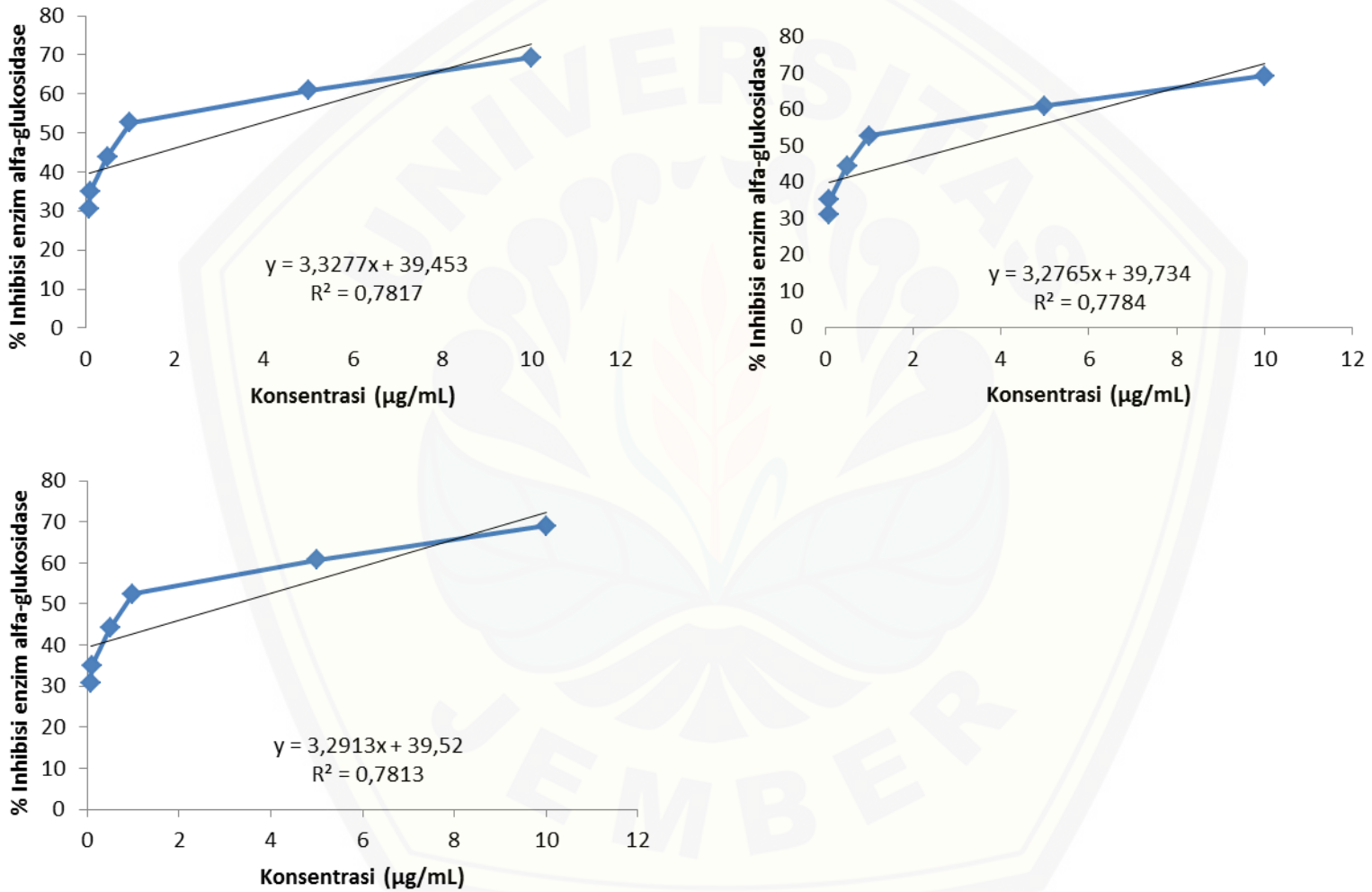


C.6 Sampel Varian U

a. Hasil Uji Aktivitas Hambatan Enzim Alfa-Glukosidase

Konsentrasi	S1			S0			S=S1-S0			Inhibisi %			Rata2 Inhibisi	
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	%	SD
0,075	0,603	0,601	0,601	0,056	0,055	0,055	0,547	0,546	0,546	30,496	30,886	30,711	30,697	0,1956
0,1	0,569	0,57	0,569	0,057	0,057	0,056	0,512	0,513	0,513	34,943	35,063	34,898	34,968	0,0852
0,5	0,499	0,496	0,497	0,058	0,057	0,057	0,441	0,439	0,44	43,964	44,430	44,162	44,186	0,2339
1	0,431	0,433	0,433	0,058	0,059	0,058	0,373	0,374	0,375	52,605	52,658	52,411	52,558	0,1299
5	0,367	0,368	0,367	0,059	0,059	0,058	0,308	0,309	0,309	60,864	60,886	60,786	60,846	0,0521
10	0,301	0,305	0,303	0,06	0,061	0,059	0,241	0,244	0,244	69,337	69,114	69,036	69,176	0,1791

b. Kurva Persamaan Regresi Konsentrasi vs Persen Hambatan



C.7 Nilai IC₅₀ Fraksi Etil Asetat Buah Kenitu

Varian	IC ₅₀			Rata-Rata	SD
	Rep 1	Rep 2	Rep 3		
Kontrol Positif	5513,811	5493,678	5512,402	5506,63	11,23915
BB	3,972	3,662	3,666	3,767	0,1778
BK	2,198	2,131	2,150	2,159	0,0345
HL	2,893	2,740	2,600	2,745	0,1465
U	0,900	0,880	0,905	0,895	0,0132

LAMPIRAN D. DATA ANALISIS PROBIT UJI AKTIVITAS HAMBATAN ENZIM ALFA-GLUKOSIDASE

D.1 Kontrol Positif

1. Replikasi 1

a. Uji Normalitas Analisis Probit

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Unstandardized Residual
N		6
Normal Parameters ^a	Mean	.0000000
	Std. Deviation	3.49244884
Most Extreme Differences	Absolute	.212
	Positive	.212
	Negative	-.175
Kolmogorov-Smirnov Z		.519
Asymp. Sig. (2-tailed)		.951
a. Test distribution is Normal.		
b. Calculated from data.		

b. Analisis Probit

Confidence Limits

Probability	95% Confidence Limits for KonsentarsiKontrolpositif			95% Confidence Limits for log(KonsentarsiKontrolpositif) ^a		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT 0.01	251.723	99.217	463.377	2.401	1.997	2.666
0.02	361.414	156.753	625.518	2.558	2.195	2.796
0.03	454.641	209.485	756.839	2.658	2.321	2.879
0.04	540.307	260.515	873.617	2.733	2.416	2.941

0.05	621.764	311.030	981.875	2.794	2.493	2.992
0.06	700.702	361.643	1084.615	2.846	2.558	3.035
0.07	778.119	412.723	1183.594	2.891	2.616	3.073
0.08	854.667	464.522	1279.942	2.932	2.667	3.107
0.09	930.805	517.224	1374.444	2.969	2.714	3.138
0.1	1006.871	570.973	1467.671	3.003	2.757	3.167
0.15	1393.863	859.154	1927.306	3.144	2.934	3.285
0.2	1805.004	1187.408	2396.048	3.256	3.075	3.379
0.25	2253.127	1565.348	2891.726	3.353	3.195	3.461
0.3	2749.620	2003.240	3428.812	3.439	3.302	3.535
0.35	3306.860	2512.895	4022.776	3.519	3.400	3.605
0.4	3939.705	3108.084	4693.059	3.595	3.492	3.671
0.45	4667.035	3804.543	5466.645	3.669	3.580	3.738
0.5	5513.811	4619.507	6383.510	3.741	3.665	3.805
0.55	6514.223	5571.117	7504.897	3.814	3.746	3.875
0.6	7716.848	6680.017	8924.505	3.887	3.825	3.951
0.65	9193.649	7977.812	10782.670	3.963	3.902	4.033
0.7	11056.841	9524.699	13291.765	4.044	3.979	4.124
0.75	13493.297	11434.863	16800.076	4.130	4.058	4.225
0.8	16843.235	13921.454	21954.839	4.226	4.144	4.342
0.85	21811.401	17415.588	30154.409	4.339	4.241	4.479
0.9	30194.639	22975.633	45164.623	4.480	4.361	4.655
0.91	32662.174	24553.482	49818.640	4.514	4.390	4.697
0.92	35571.869	26386.344	55428.688	4.551	4.421	4.744
0.93	39071.303	28555.149	62339.669	4.592	4.456	4.795
0.94	43388.097	31183.135	71094.351	4.637	4.494	4.852
0.95	48896.536	34470.044	82605.690	4.689	4.537	4.917
0.96	56268.159	38768.339	98555.194	4.750	4.588	4.994

0.97	66870.650	44781.689	122476.618	4.825	4.651	5.088
0.98	84119.923	54223.483	163555.943	4.925	4.734	5.214
0.99	120775.987	73260.251	258179.945	5.082	4.865	5.412

a. Logarithm base = 10.

2. Replikasi 2

a. Uji Normalitas Analisis Probit

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Unstandardized Residual
N		6
Normal Parameters ^a	Mean	.0000000
	Std. Deviation	3.61594256
Most Extreme Differences	Absolute	.212
	Positive	.212
	Negative	-.179
Kolmogorov-Smirnov Z		.520
Asymp. Sig. (2-tailed)		.950
a. Test distribution is Normal.		
b. Calculated from data.		

b. Analisis Probit

Confidence Limits

Probability	95% Confidence Limits for KonsentarsiKontrolpositif			95% Confidence Limits for log(KonsentarsiKontrolpositif) ^a		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT 0.01	251.870	99.428	463.305	2.401	1.998	2.666
0.02	361.445	156.969	625.196	2.558	2.196	2.796
0.03	454.536	209.673	756.276	2.658	2.322	2.879

0.04	540.055	260.655	872.817	2.732	2.416	2.941
0.05	621.354	311.107	980.838	2.793	2.493	2.992
0.06	700.124	361.643	1083.340	2.845	2.558	3.035
0.07	777.366	412.633	1182.077	2.891	2.616	3.073
0.08	853.730	464.331	1278.181	2.931	2.667	3.107
0.09	929.675	516.920	1372.434	2.968	2.713	3.137
0.1	1005.541	570.545	1465.409	3.002	2.756	3.166
0.15	1391.400	857.937	1923.693	3.143	2.933	3.284
0.2	1801.174	1185.104	2390.909	3.256	3.074	3.379
0.25	2247.661	1561.621	2884.830	3.352	3.194	3.460
0.3	2742.200	1997.697	3419.861	3.438	3.301	3.534
0.35	3297.100	2505.082	4011.374	3.518	3.399	3.603
0.4	3927.134	3097.479	4678.657	3.594	3.491	3.670
0.45	4651.060	3790.571	5448.451	3.668	3.579	3.736
0.5	5493.678	4601.579	6360.333	3.740	3.663	3.803
0.55	6488.951	5548.675	7474.918	3.812	3.744	3.874
0.6	7685.122	6652.522	8885.004	3.886	3.823	3.949
0.65	9153.649	7944.545	10729.741	3.962	3.900	4.031
0.7	11005.944	9484.417	13219.796	4.042	3.977	4.121
0.75	13427.511	11385.429	16700.448	4.128	4.056	4.223
0.8	16756.011	13859.300	21812.852	4.224	4.142	4.339
0.85	21690.746	17334.375	29941.543	4.336	4.239	4.476
0.9	30014.197	22862.084	44813.487	4.477	4.359	4.651
0.91	32463.483	24430.410	49422.863	4.511	4.388	4.694
0.92	35351.333	26252.046	54978.172	4.548	4.419	4.740
0.93	38824.066	28407.361	61820.462	4.589	4.453	4.791
0.94	43107.338	31018.727	70486.353	4.635	4.492	4.848
0.95	48572.157	34284.466	81878.296	4.686	4.535	4.913

0.96	55884.096	38554.504	97658.101	4.747	4.586	4.990
0.97	66398.470	44527.366	121317.261	4.822	4.649	5.084
0.98	83499.616	53903.670	161928.993	4.922	4.732	5.209
0.99	119825.823	72802.704	255416.624	5.079	4.862	5.407

a. Logarithm base = 10.

3. Replikasi 3

a. Uji Normalitas Analisis Probit

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Unstandardized Residual
N		6
Normal Parameters ^a	Mean	.0000000
	Std. Deviation	3.69070863
Most Extreme Differences	Absolute	.215
	Positive	.215
	Negative	-.173
Kolmogorov-Smirnov Z		.527
Asymp. Sig. (2-tailed)		.944
a. Test distribution is Normal.		
b. Calculated from data.		

b. Analisis Probit

Confidence Limits

Probability	95% Confidence Limits for KonsentarsiKontrolpositif			95% Confidence Limits for log(KonsentarsiKontrolpositif) ^a		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound

PROBIT 0.01	246.313	95.881	456.452	2.391	1.982	2.659
0.02	354.537	152.069	617.276	2.550	2.182	2.790
0.03	446.703	203.723	747.718	2.650	2.309	2.874
0.04	531.512	253.817	863.828	2.726	2.405	2.936
0.05	612.240	303.488	971.549	2.787	2.482	2.987
0.06	690.542	353.324	1073.847	2.839	2.548	3.031
0.07	767.396	403.681	1172.453	2.885	2.606	3.069
0.08	843.440	454.800	1268.485	2.926	2.658	3.103
0.09	919.123	506.860	1362.719	2.963	2.705	3.134
0.1	994.778	560.002	1455.720	2.998	2.748	3.163
0.15	1380.241	845.571	1914.710	3.140	2.927	3.282
0.2	1790.581	1171.855	2383.467	3.253	3.069	3.377
0.25	2238.573	1548.485	2879.749	3.350	3.190	3.459
0.3	2735.645	1985.834	3418.061	3.437	3.298	3.534
0.35	3294.279	2495.889	4013.976	3.518	3.397	3.604
0.4	3929.501	3092.651	4687.128	3.594	3.490	3.671
0.45	4660.435	3792.142	5464.853	3.668	3.579	3.738
0.5	5512.402	4611.892	6387.756	3.741	3.664	3.805
0.55	6520.116	5570.268	7518.232	3.814	3.746	3.876
0.6	7732.936	6688.041	8951.963	3.888	3.825	3.952
0.65	9224.045	7997.030	10832.439	3.965	3.903	4.035
0.7	11107.645	9558.200	13376.920	4.046	3.980	4.126
0.75	13574.086	11487.511	16942.099	4.133	4.060	4.229
0.8	16970.237	14001.559	22191.960	4.230	4.146	4.346
0.85	22015.411	17538.606	30563.760	4.343	4.244	4.485
0.9	30546.084	23175.450	45936.687	4.485	4.365	4.662
0.91	33060.399	24776.688	50712.758	4.519	4.394	4.705
0.92	36026.948	26637.495	56474.918	4.557	4.425	4.752

0.93	39596.987	28840.369	63580.017	4.598	4.460	4.803
0.94	44003.926	31510.979	72590.087	4.643	4.498	4.861
0.95	49631.793	34853.093	84451.358	4.696	4.542	4.927
0.96	57170.077	39226.448	100908.483	4.757	4.594	5.004
0.97	68024.146	45349.639	125632.599	4.833	4.657	5.099
0.98	85707.663	54973.660	168182.321	4.933	4.740	5.226
0.99	123365.578	74407.032	266510.868	5.091	4.872	5.426

a. Logarithm base = 10.

D.2 Sampel Varian BB

1. Replikasi 1

a. Uji Normalitas Analisis Probit

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Unstandardized Residual
N		9
Normal Parameters ^a	Mean	.0000000
	Std. Deviation	11.57736136
Most Extreme Differences	Absolute	.168
	Positive	.141
	Negative	-.168
Kolmogorov-Smirnov Z		.503
Asymp. Sig. (2-tailed)		.962
a. Test distribution is Normal.		
b. Calculated from data.		

b. Analisis Probit

Confidence Limits

Probability	95% Confidence Limits for Konsentrasi_BB			95% Confidence Limits for log(Konsentrasi_BB) ^a		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT 0.01	.000	.000	.001	-4.838	-8.726	-3.232
0.02	.000	.000	.002	-4.201	-7.634	-2.781
0.03	.000	.000	.003	-3.797	-6.942	-2.494
0.04	.000	.000	.005	-3.493	-6.421	-2.278
0.05	.001	.000	.008	-3.246	-5.997	-2.103
0.06	.001	.000	.011	-3.035	-5.637	-1.953
0.07	.001	.000	.015	-2.850	-5.321	-1.821
0.08	.002	.000	.020	-2.685	-5.039	-1.704
0.09	.003	.000	.025	-2.535	-4.782	-1.596
0.1	.004	.000	.032	-2.396	-4.545	-1.498
0.15	.015	.000	.082	-1.823	-3.568	-1.087
0.2	.043	.002	.174	-1.368	-2.794	-.758
0.25	.105	.007	.337	-.977	-2.133	-.473
0.3	.236	.029	.614	-.627	-1.544	-.212
0.35	.499	.098	1.092	-.302	-1.007	.038
0.4	1.016	.308	1.953	.007	-.512	.291
0.45	2.020	.864	3.677	.305	-.063	.565
0.5	3.972	2.089	7.829	.599	.320	.894
0.55	7.812	4.276	19.681	.893	.631	1.294
0.6	15.530	7.872	56.490	1.191	.896	1.752
0.65	31.597	13.925	178.445	1.500	1.144	2.252
0.7	66.792	24.638	618.304	1.825	1.392	2.791
0.75	149.807	44.827	2404.920	2.176	1.652	3.381
0.8	368.277	86.340	11034.846	2.566	1.936	4.043

0.85	1050.789	183.885	65690.341	3.022	2.265	4.818
0.9	3930.413	472.845	624087.664	3.594	2.675	5.795
0.91	5405.256	593.567	1075768.415	3.733	2.773	6.032
0.92	7640.915	759.702	1944105.803	3.883	2.881	6.289
0.93	11179.959	996.269	3727492.088	4.048	2.998	6.571
0.94	17102.069	1348.179	7713709.379	4.233	3.130	6.887
0.95	27771.259	1903.031	1.769E7	4.444	3.279	7.248
0.96	49086.389	2852.140	4.690E7	4.691	3.455	7.671
0.97	98870.230	4688.310	1.556E8	4.995	3.671	8.192
0.98	250795.329	9071.714	7.667E8	5.399	3.958	8.885
0.99	1.088E6	25649.126	9.479E9	6.036	4.409	9.977

a. Logarithm base = 10.

2. Replikasi 2

a. Uji Normalitas Analisis Probit

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Unstandardized Residual
N		9
Normal Parameters ^a	Mean	.0000000
	Std. Deviation	11.51027028
Most Extreme Differences	Absolute	.167
	Positive	.111
	Negative	-.167
Kolmogorov-Smirnov Z		.500
Asymp. Sig. (2-tailed)		.964
a. Test distribution is Normal.		
b. Calculated from data.		

b. Analisis Probit

Confidence Limits						
Probability	95% Confidence Limits for Konsentrasi_BB			95% Confidence Limits for log(Konsentrasi_BB) ^a		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT 0.01	.000	.000	.001	-4.568	-7.079	-3.267
0.02	.000	.000	.002	-3.967	-6.197	-2.809
0.03	.000	.000	.003	-3.585	-5.637	-2.519
0.04	.001	.000	.005	-3.298	-5.216	-2.300
0.05	.001	.000	.008	-3.065	-4.874	-2.122
0.06	.001	.000	.011	-2.866	-4.583	-1.970
0.07	.002	.000	.015	-2.692	-4.328	-1.837
0.08	.003	.000	.019	-2.536	-4.100	-1.718
0.09	.004	.000	.025	-2.394	-3.892	-1.609
0.1	.005	.000	.031	-2.263	-3.701	-1.509
0.15	.019	.001	.081	-1.723	-2.912	-1.094
0.2	.051	.005	.173	-1.293	-2.287	-.762
0.25	.119	.018	.335	-.924	-1.752	-.475
0.3	.255	.053	.611	-.593	-1.276	-.214
0.35	.517	.145	1.079	-.286	-.839	.033
0.4	1.011	.369	1.883	.005	-.433	.275
0.45	1.934	.886	3.331	.286	-.053	.523
0.5	3.662	1.984	6.166	.564	.297	.790
0.55	6.932	4.088	12.402	.841	.612	1.093
0.6	13.259	7.791	27.601	1.123	.892	1.441
0.65	25.920	14.193	67.460	1.414	1.152	1.829

0.7	52.531	25.651	180.104	1.720	1.409	2.256
0.75	112.586	47.444	532.192	2.051	1.676	2.726
0.8	263.117	92.691	1805.470	2.420	1.967	3.257
0.85	707.735	200.178	7579.329	2.850	2.301	3.880
0.9	2457.867	522.774	46492.580	3.391	2.718	4.667
0.91	3320.098	658.573	72119.568	3.521	2.819	4.858
0.92	4602.797	846.105	116230.667	3.663	2.927	5.065
0.93	6591.991	1114.143	196498.551	3.819	3.047	5.293
0.94	9845.512	1514.527	353336.595	3.993	3.180	5.548
0.95	15557.475	2148.757	690212.710	4.192	3.332	5.839
0.96	26630.967	3239.505	1516395.069	4.425	3.510	6.181
0.97	51568.130	5363.413	3992750.569	4.712	3.729	6.601
0.98	124133.926	10476.315	1.447E7	5.094	4.020	7.161
0.99	495673.920	30058.253	1.103E8	5.695	4.478	8.042

a. Logarithm base = 10.

3. Replikasi 3

a. Uji Normalitas Analisis Probit

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Unstandardized Residual
N		9
Normal Parameters ^a	Mean	.0000000
	Std. Deviation	11.55559933
Most Extreme Differences	Absolute	.169
	Positive	.142
	Negative	-.169
Kolmogorov-Smirnov Z		.506
Asymp. Sig. (2-tailed)		.960

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Unstandardized Residual
N		9
Normal Parameters ^a	Mean	.0000000
	Std. Deviation	11.55559933
Most Extreme Differences	Absolute	.169
	Positive	.142
	Negative	-.169
Kolmogorov-Smirnov Z		.506
Asymp. Sig. (2-tailed)		.960
a. Test distribution is Normal.		
b. Calculated from data.		

b. Analisis Probit

Confidence Limits

Probability	95% Confidence Limits for Konsentrasi_BB			95% Confidence Limits for log(Konsentrasi_BB) ^a		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT 0.01	.000	.000	.001	-4.524	-6.987	-3.241
0.02	.000	.000	.002	-3.928	-6.115	-2.787
0.03	.000	.000	.003	-3.550	-5.562	-2.498
0.04	.001	.000	.005	-3.265	-5.147	-2.281
0.05	.001	.000	.008	-3.034	-4.809	-2.104
0.06	.001	.000	.011	-2.837	-4.521	-1.953
0.07	.002	.000	.015	-2.664	-4.269	-1.821
0.08	.003	.000	.020	-2.509	-4.044	-1.703
0.09	.004	.000	.025	-2.369	-3.839	-1.595
0.1	.006	.000	.032	-2.239	-3.650	-1.495

0.15	.020	.001	.083	-1.703	-2.870	-1.083
0.2	.053	.006	.177	-1.277	-2.252	-.753
0.25	.123	.019	.341	-.911	-1.724	-.468
0.3	.261	.056	.619	-.583	-1.254	-.208
0.35	.526	.151	1.089	-.279	-.822	.037
0.4	1.023	.380	1.895	.010	-.421	.278
0.45	1.947	.901	3.338	.289	-.045	.523
0.5	3.666	1.998	6.147	.564	.301	.789
0.55	6.904	4.088	12.275	.839	.612	1.089
0.6	13.133	7.752	27.061	1.118	.889	1.432
0.65	25.530	14.067	65.406	1.407	1.148	1.816
0.7	51.437	25.329	172.500	1.711	1.404	2.237
0.75	109.542	46.671	502.961	2.040	1.669	2.702
0.8	254.194	90.800	1681.016	2.405	1.958	3.226
0.85	678.109	195.144	6934.961	2.831	2.290	3.841
0.9	2330.625	506.527	41616.873	3.367	2.705	4.619
0.91	3140.324	637.167	64215.148	3.497	2.804	4.808
0.92	4341.711	817.295	102897.510	3.638	2.912	5.012
0.93	6199.449	1074.315	172859.916	3.792	3.031	5.238
0.94	9228.266	1457.519	308640.649	3.965	3.164	5.489
0.95	14526.528	2063.247	598061.135	4.162	3.315	5.777
0.96	24754.857	3102.411	1301549.618	4.394	3.492	6.114
0.97	47671.471	5119.840	3387369.605	4.678	3.709	6.530
0.98	113915.330	9957.611	1.209E7	5.057	3.998	7.082
0.99	449642.161	28376.917	8.989E7	5.653	4.453	7.954

a. Logarithm base = 10.

D.3 Sampel Varian BK

1. Replikasi 1

a. Uji Normalitas Analisis Probit

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Unstandardized Residual
N		8
Normal Parameters ^a	Mean	.0000000
	Std. Deviation	11.43340833
Most Extreme Differences	Absolute	.152
	Positive	.152
	Negative	-.150
Kolmogorov-Smirnov Z		.429
Asymp. Sig. (2-tailed)		.993
a. Test distribution is Normal.		
b. Calculated from data.		

b. Analisis Probit

Confidence Limits

Probability	95% Confidence Limits for Konsentrasi_BK			95% Confidence Limits for log(Konsentrasi_BK) ^a		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT 0.01	.000	.000	.000	-5.092	-7.403	-3.834
0.02	.000	.000	.000	-4.456	-6.499	-3.341
0.03	.000	.000	.001	-4.052	-5.926	-3.029
0.04	.000	.000	.002	-3.748	-5.495	-2.793
0.05	.000	.000	.003	-3.501	-5.145	-2.602
0.06	.001	.000	.004	-3.291	-4.847	-2.438
0.07	.001	.000	.005	-3.107	-4.585	-2.295

0.08	.001	.000	.007	-2.942	-4.352	-2.166
0.09	.002	.000	.009	-2.792	-4.139	-2.049
0.1	.002	.000	.011	-2.654	-3.944	-1.942
0.15	.008	.001	.032	-2.082	-3.136	-1.494
0.2	.024	.003	.073	-1.627	-2.497	-1.135
0.25	.058	.011	.150	-1.237	-1.953	-.824
0.3	.130	.034	.289	-.887	-1.468	-.539
0.35	.274	.094	.539	-.563	-1.027	-.268
0.4	.556	.239	1.003	-.255	-.621	.001
0.45	1.104	.565	1.916	.043	-.248	.282
0.5	2.169	1.225	3.888	.336	.088	.590
0.55	4.260	2.449	8.560	.629	.389	.932
0.6	8.460	4.630	20.412	.927	.666	1.310
0.65	17.190	8.557	52.364	1.235	.932	1.719
0.7	36.290	15.916	145.148	1.560	1.202	2.162
0.75	81.278	30.575	443.568	1.910	1.485	2.647
0.8	199.490	62.529	1556.723	2.300	1.796	3.192
0.85	568.137	142.706	6785.428	2.754	2.154	3.832
0.9	2120.108	399.970	43587.598	3.326	2.602	4.639
0.91	2914.006	512.588	68364.584	3.464	2.710	4.835
0.92	4116.733	670.956	111506.919	3.615	2.827	5.047
0.93	6019.412	901.847	191008.210	3.780	2.955	5.281
0.94	9200.994	1254.416	348539.118	3.964	3.098	5.542
0.95	14928.214	1826.980	692313.847	4.174	3.262	5.840
0.96	26359.320	2840.568	1551140.414	4.421	3.453	6.191
0.97	53027.207	4884.542	4183855.163	4.724	3.689	6.622
0.98	134287.300	10033.964	1.566E7	5.128	4.001	7.195
0.99	580841.874	31168.712	1.255E8	5.764	4.494	8.099

a. Logarithm base = 10.

2. Replikasi 2

a. Uji Normalitas Analisis Probit

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Unstandardized Residual
N		8
Normal Parameters ^a	Mean	.0000000
	Std. Deviation	11.40052234
Most Extreme Differences	Absolute	.152
	Positive	.152
	Negative	-.145
Kolmogorov-Smirnov Z		.431
Asymp. Sig. (2-tailed)		.992
a. Test distribution is Normal.		
b. Calculated from data.		

b. Analisis Probit

Confidence Limits

Probability	95% Confidence Limits for Konsentrasi_BK			95% Confidence Limits for log(Konsentrasi_BK) ^a		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT 0.01	.000	.000	.000	-5.147	-7.509	-3.869
0.02	.000	.000	.000	-4.506	-6.594	-3.373
0.03	.000	.000	.001	-4.098	-6.013	-3.058
0.04	.000	.000	.002	-3.792	-5.577	-2.821
0.05	.000	.000	.002	-3.543	-5.223	-2.628
0.06	.000	.000	.003	-3.331	-4.921	-2.464

0.07	.001	.000	.005	-3.145	-4.656	-2.319
0.08	.001	.000	.006	-2.979	-4.420	-2.190
0.09	.001	.000	.008	-2.827	-4.205	-2.072
0.1	.002	.000	.011	-2.688	-4.007	-1.964
0.15	.008	.001	.031	-2.111	-3.189	-1.513
0.2	.022	.003	.071	-1.652	-2.542	-1.152
0.25	.055	.010	.145	-1.259	-1.991	-.838
0.3	.124	.032	.280	-.906	-1.500	-.552
0.35	.264	.088	.525	-.578	-1.053	-.279
0.4	.540	.228	.981	-.268	-.641	-.008
0.45	1.079	.546	1.881	.033	-.263	.274
0.5	2.131	1.196	3.834	.329	.078	.584
0.55	4.211	2.411	8.503	.624	.382	.930
0.6	8.413	4.586	20.470	.925	.661	1.311
0.65	17.203	8.518	53.105	1.236	.930	1.725
0.7	36.558	15.918	149.053	1.563	1.202	2.173
0.75	82.465	30.723	461.844	1.916	1.487	2.664
0.8	204.016	63.147	1646.340	2.310	1.800	3.217
0.85	586.432	144.947	7308.518	2.768	2.161	3.864
0.9	2214.019	409.166	48044.649	3.345	2.612	4.682
0.91	3051.657	525.276	75777.278	3.485	2.720	4.880
0.92	4324.393	688.848	124350.012	3.636	2.838	5.095
0.93	6344.333	927.795	214434.977	3.802	2.967	5.331
0.94	9734.119	1293.463	394216.187	3.988	3.112	5.596
0.95	15860.935	1888.765	789735.083	4.200	3.276	5.897
0.96	28147.461	2945.628	1787196.668	4.449	3.469	6.252
0.97	56975.592	5084.268	4880205.166	4.756	3.706	6.688
0.98	145477.012	10496.509	1.856E7	5.163	4.021	7.269

0.99	637445.504	32862.857	1.527E8	5.804	4.517	8.184
------	------------	-----------	---------	-------	-------	-------

a. Logarithm base = 10.

c. Replikasi 3

a. Uji Normalitas Analisis Probit

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Unstandardized Residual
N		8
Normal Parameters ^a	Mean	.0000000
	Std. Deviation	11.44756227
Most Extreme Differences	Absolute	.168
	Positive	.168
	Negative	-.145
Kolmogorov-Smirnov Z		.474
Asymp. Sig. (2-tailed)		.978
a. Test distribution is Normal.		
b. Calculated from data.		

b. Analisis Probit

Confidence Limits

Probability	95% Confidence Limits for Konsentrasi_BK			95% Confidence Limits for log(Konsentrasi_BK) ^a		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT 0.01	.000	.000	.000	-5.067	-7.353	-3.820
0.02	.000	.000	.000	-4.434	-6.455	-3.329
0.03	.000	.000	.001	-4.033	-5.886	-3.018
0.04	.000	.000	.002	-3.731	-5.459	-2.783
0.05	.000	.000	.003	-3.485	-5.111	-2.592

0.06	.001	.000	.004	-3.276	-4.815	-2.430
0.07	.001	.000	.005	-3.093	-4.556	-2.287
0.08	.001	.000	.007	-2.929	-4.324	-2.159
0.09	.002	.000	.009	-2.780	-4.113	-2.043
0.1	.002	.000	.012	-2.642	-3.919	-1.935
0.15	.008	.001	.032	-2.073	-3.117	-1.489
0.2	.024	.003	.074	-1.621	-2.483	-1.132
0.25	.058	.011	.151	-1.233	-1.942	-.822
0.3	.130	.035	.289	-.885	-1.461	-.539
0.35	.274	.095	.539	-.562	-1.023	-.269
0.4	.555	.240	.999	-.256	-.619	.000
0.45	1.098	.564	1.901	.041	-.249	.279
0.5	2.150	1.217	3.838	.332	.085	.584
0.55	4.209	2.427	8.398	.624	.385	.924
0.6	8.327	4.577	19.890	.921	.661	1.299
0.65	16.859	8.441	50.653	1.227	.926	1.705
0.7	35.453	15.665	139.327	1.550	1.195	2.144
0.75	79.073	30.017	422.260	1.898	1.477	2.626
0.8	193.176	61.217	1468.351	2.286	1.787	3.167
0.85	547.182	139.255	6332.001	2.738	2.144	3.802
0.9	2028.028	388.686	40130.782	3.307	2.590	4.603
0.91	2782.857	497.630	62738.477	3.444	2.697	4.798
0.92	3924.421	650.668	101969.682	3.594	2.813	5.008
0.93	5726.934	873.531	173994.424	3.758	2.941	5.241
0.94	8734.705	1213.407	316120.141	3.941	3.084	5.500
0.95	14136.196	1764.558	624822.678	4.150	3.247	5.796
0.96	24887.409	2738.599	1391819.517	4.396	3.438	6.144
0.97	49885.191	4698.824	3727420.862	4.698	3.672	6.571

0.98	125723.746	9624.183	1.382E7	5.099	3.983	7.140
0.99	539691.257	29757.838	1.091E8	5.732	4.474	8.038

a. Logarithm base = 10.

D.4 Sampel Varian HL

1. Replikasi 1

a. Uji Normalitas Analisis Probit

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Unstandardized Residual
N		8
Normal Parameters ^a	Mean	.0000000
	Std. Deviation	11.36346405
Most Extreme Differences	Absolute	.149
	Positive	.123
	Negative	-.149
Kolmogorov-Smirnov Z		.421
Asymp. Sig. (2-tailed)		.994

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

b. Analisis Probit

Confidence Limits

Probability	95% Confidence Limits for Konsentrasi_HL			95% Confidence Limits for log(Konsentrasi_HL) ^a		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT 0.01	.000	.000	.000	-5.628	-9.704	-3.931
0.02	.000	.000	.000	-4.915	-8.487	-3.424

0.03	.000	.000	.001	-4.462	-7.716	-3.102
0.04	.000	.000	.001	-4.121	-7.136	-2.859
0.05	.000	.000	.002	-3.844	-6.665	-2.662
0.06	.000	.000	.003	-3.609	-6.263	-2.494
0.07	.000	.000	.005	-3.402	-5.912	-2.346
0.08	.001	.000	.006	-3.217	-5.597	-2.213
0.09	.001	.000	.008	-3.048	-5.311	-2.093
0.1	.001	.000	.010	-2.893	-5.048	-1.981
0.15	.006	.000	.030	-2.252	-3.961	-1.519
0.2	.018	.001	.071	-1.742	-3.102	-1.147
0.25	.050	.004	.151	-1.304	-2.370	-.822
0.3	.123	.019	.301	-.911	-1.722	-.521
0.35	.284	.073	.596	-.547	-1.139	-.225
0.4	.628	.240	1.233	-.202	-.620	.091
0.45	1.357	.656	2.888	.133	-.183	.461
0.5	2.894	1.471	8.024	.461	.168	.904
0.55	6.172	2.898	25.379	.790	.462	1.404
0.6	13.325	5.400	87.354	1.125	.732	1.941
0.65	29.523	9.944	323.965	1.470	.998	2.510
0.7	68.272	18.576	1313.214	1.834	1.269	3.118
0.75	168.712	36.048	6015.354	2.227	1.557	3.779
0.8	462.019	74.821	33014.334	2.665	1.874	4.519
0.85	1494.989	174.174	241726.936	3.175	2.241	5.383
0.9	6550.982	501.488	2976189.231	3.816	2.700	6.474
0.91	9360.279	647.017	5461153.078	3.971	2.811	6.737
0.92	13792.916	853.166	1.056E7	4.140	2.931	7.024
0.93	21124.428	1156.142	2.182E7	4.325	3.063	7.339
0.94	34005.166	1622.941	4.908E7	4.532	3.210	7.691

0.95	58526.925	2388.744	1.237E8	4.767	3.378	8.093
0.96	110765.127	3760.555	3.669E8	5.044	3.575	8.564
0.97	242659.635	6566.983	1.396E9	5.385	3.817	9.145
0.98	688269.580	13771.204	8.255E9	5.838	4.139	9.917
0.99	3.559E6	44200.905	1.360E11	6.551	4.645	11.134

a. Logarithm base = 10.

2. Replikasi 2

a. Uji Normalitas Analisis Probit

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Unstandardized Residual
N		8
Normal Parameters ^a	Mean	.0000000
	Std. Deviation	11.41132666
Most Extreme Differences	Absolute	.148
	Positive	.133
	Negative	-.148
Kolmogorov-Smirnov Z		.420
Asymp. Sig. (2-tailed)		.995
a. Test distribution is Normal.		
b. Calculated from data.		

b. Analisis Probit

Confidence Limits

Probability	95% Confidence Limits for Konsentrasi_HL			95% Confidence Limits for log(Konsentrasi_HL) ^a		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT 0.01	.000	.000	.000	-5.535	-8.384	-4.078

0.02	.000	.000	.000	-4.835	-7.348	-3.548
0.03	.000	.000	.001	-4.391	-6.691	-3.211
0.04	.000	.000	.001	-4.057	-6.197	-2.958
0.05	.000	.000	.002	-3.785	-5.795	-2.751
0.06	.000	.000	.003	-3.554	-5.453	-2.575
0.07	.000	.000	.004	-3.351	-5.154	-2.421
0.08	.001	.000	.005	-3.169	-4.886	-2.283
0.09	.001	.000	.007	-3.004	-4.642	-2.157
0.1	.001	.000	.009	-2.852	-4.418	-2.041
0.15	.006	.000	.028	-2.223	-3.492	-1.558
0.2	.019	.002	.067	-1.723	-2.759	-1.172
0.25	.051	.007	.146	-1.294	-2.134	-.836
0.3	.123	.026	.296	-.909	-1.580	-.529
0.35	.281	.084	.583	-.551	-1.075	-.234
0.4	.613	.244	1.154	-.213	-.613	.062
0.45	1.304	.638	2.390	.115	-.195	.378
0.5	2.740	1.484	5.416	.438	.171	.734
0.55	5.760	3.103	13.659	.760	.492	1.135
0.6	12.252	6.085	37.719	1.088	.784	1.577
0.65	26.731	11.681	112.637	1.427	1.067	2.052
0.7	60.824	22.643	365.930	1.784	1.355	2.563
0.75	147.707	45.535	1325.622	2.169	1.658	3.122
0.8	396.714	98.075	5617.586	2.598	1.992	3.750
0.85	1254.922	237.923	30484.068	3.099	2.376	4.484
0.9	5344.500	720.463	257845.829	3.728	2.858	5.411
0.91	7584.024	940.783	432183.806	3.880	2.973	5.636
0.92	11092.235	1256.786	757639.827	4.045	3.099	5.879
0.93	16849.098	1727.565	1404907.263	4.227	3.237	6.148

0.94	26874.974	2463.897	2800899.528	4.429	3.392	6.447
0.95	45773.054	3692.592	6154511.725	4.661	3.567	6.789
0.96	85568.275	5937.446	1.553E7	4.932	3.774	7.191
0.97	184644.742	10640.797	4.845E7	5.266	4.027	7.685
0.98	513291.271	23094.382	2.201E8	5.710	4.364	8.343
0.99	2.572E6	78238.293	2.393E9	6.410	4.893	9.379

a. Logarithm base = 10.

3. Replikasi 3

a. Uji Normalitas Analisis Probit

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Unstandardized Residual
N		8
Normal Parameters ^a	Mean	.0000000
	Std. Deviation	11.39093854
Most Extreme Differences	Absolute	.150
	Positive	.127
	Negative	-.150
Kolmogorov-Smirnov Z		.426
Asymp. Sig. (2-tailed)		.994

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

b. Analisis Probit

Confidence Limits

Probability	95% Confidence Limits for Konsentrasi_HL			95% Confidence Limits for log(Konsentrasi_HL) ^a		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound

PROBIT 0.01	.000	.000	.000	-5.389	-8.059	-3.997
0.02	.000	.000	.000	-4.709	-7.065	-3.478
0.03	.000	.000	.001	-4.277	-6.434	-3.149
0.04	.000	.000	.001	-3.953	-5.960	-2.901
0.05	.000	.000	.002	-3.688	-5.575	-2.699
0.06	.000	.000	.003	-3.464	-5.247	-2.527
0.07	.001	.000	.004	-3.267	-4.960	-2.376
0.08	.001	.000	.006	-3.090	-4.703	-2.240
0.09	.001	.000	.008	-2.930	-4.469	-2.117
0.1	.002	.000	.010	-2.782	-4.255	-2.004
0.15	.007	.000	.029	-2.171	-3.366	-1.532
0.2	.021	.002	.070	-1.685	-2.663	-1.154
0.25	.054	.009	.150	-1.268	-2.064	-.825
0.3	.128	.029	.299	-.893	-1.532	-.525
0.35	.284	.090	.579	-.546	-1.048	-.237
0.4	.607	.249	1.125	-.217	-.604	.051
0.45	1.263	.629	2.275	.101	-.202	.357
0.5	2.600	1.429	4.986	.415	.155	.698
0.55	5.351	2.941	12.061	.728	.469	1.081
0.6	11.142	5.697	31.823	1.047	.756	1.503
0.65	23.778	10.802	90.608	1.376	1.034	1.957
0.7	52.862	20.668	279.962	1.723	1.315	2.447
0.75	125.190	40.973	960.908	2.098	1.613	2.983
0.8	326.973	86.849	3835.039	2.515	1.939	3.584
0.85	1001.176	206.773	19408.162	3.001	2.315	4.288
0.9	4092.669	611.470	150375.235	3.612	2.786	5.177
0.91	5750.445	793.894	246767.338	3.760	2.900	5.392
0.92	8320.548	1053.969	422758.148	3.920	3.023	5.626

0.93	12490.383	1438.875	764352.462	4.097	3.158	5.883
0.94	19661.360	2036.498	1481420.927	4.294	3.309	6.171
0.95	32986.498	3025.495	3152010.921	4.518	3.481	6.499
0.96	60583.786	4815.075	7656095.254	4.782	3.683	6.884
0.97	127919.181	8520.995	2.281E7	5.107	3.930	7.358
0.98	345467.545	18185.508	9.738E7	5.538	4.260	7.988
0.99	1.654E6	59997.470	9.608E8	6.218	4.778	8.983

a. Logarithm base = 10.

D.5 Sampel Varian U

1. Replikasi 1

a. Uji Normalitas Analisis Probit

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Unstandardized Residual
N		7
Normal Parameters ^a	Mean	.0000000
	Std. Deviation	8.73327776
Most Extreme Differences	Absolute	.170
	Positive	.166
	Negative	-.170
Kolmogorov-Smirnov Z		.450
Asymp. Sig. (2-tailed)		.988
a. Test distribution is Normal.		
b. Calculated from data.		

b. Analisis probit

Confidence Limits

Probability	95% Confidence Limits for Konsentrasi_U			95% Confidence Limits for log(Konsentrasi_U) ^a		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT 0.01	.000	.000	.000	-5.252	-7.406	-4.068
0.02	.000	.000	.000	-4.642	-6.544	-3.595
0.03	.000	.000	.001	-4.255	-5.998	-3.294
0.04	.000	.000	.001	-3.964	-5.587	-3.067
0.05	.000	.000	.001	-3.727	-5.253	-2.882
0.06	.000	.000	.002	-3.525	-4.969	-2.725
0.07	.000	.000	.003	-3.348	-4.720	-2.587
0.08	.001	.000	.003	-3.190	-4.498	-2.464
0.09	.001	.000	.004	-3.046	-4.295	-2.351
0.1	.001	.000	.006	-2.914	-4.109	-2.247
0.15	.004	.000	.015	-2.365	-3.339	-1.816
0.2	.012	.002	.034	-1.929	-2.731	-1.470
0.25	.028	.006	.068	-1.555	-2.212	-1.170
0.3	.060	.018	.127	-1.219	-1.751	-.895
0.35	.124	.047	.233	-.908	-1.332	-.633
0.4	.244	.113	.425	-.613	-.948	-.371
0.45	.471	.253	.799	-.327	-.596	-.097
0.5	.900	.525	1.594	-.046	-.280	.202
0.55	1.720	1.007	3.425	.236	.003	.535
0.6	3.321	1.843	7.904	.521	.266	.898
0.65	6.556	3.313	19.487	.817	.520	1.290
0.7	13.425	6.005	51.622	1.128	.778	1.713
0.75	29.094	11.239	149.932	1.464	1.051	2.176
0.8	68.838	22.354	496.636	1.838	1.349	2.696

0.85	187.848	49.428	2022.073	2.274	1.694	3.306
0.9	664.303	133.210	11914.179	2.822	2.125	4.076
0.91	901.281	169.120	18299.704	2.955	2.228	4.262
0.92	1255.443	219.126	29176.503	3.099	2.341	4.465
0.93	1807.436	291.254	48742.719	3.257	2.464	4.688
0.94	2715.323	400.093	86488.053	3.434	2.602	4.937
0.95	4319.322	574.488	166393.876	3.635	2.759	5.221
0.96	7451.823	878.441	359069.822	3.872	2.944	5.555
0.97	14569.205	1479.938	924793.625	4.163	3.170	5.966
0.98	35522.213	2958.654	3254631.563	4.551	3.471	6.513
0.99	144730.831	8805.903	2.367E7	5.161	3.945	7.374

a. Logarithm base = 10.

2. Replikasi 2

a. Uji Normalitas Analisis Probit

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Unstandardized Residual
N		7
Normal Parameters ^a	Mean	.0000000
	Std. Deviation	8.71819316
Most Extreme Differences	Absolute	.179
	Positive	.176
	Negative	-.179
Kolmogorov-Smirnov Z		.475
Asymp. Sig. (2-tailed)		.978
a. Test distribution is Normal.		
b. Calculated from data.		

b. Analisis Probit

Confidence Limits

Probability	95% Confidence Limits for Konsentrasi_U			95% Confidence Limits for log(Konsentrasi_U) ^a		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT 0.01	.000	.000	.000	-5.310	-7.515	-4.106
0.02	.000	.000	.000	-4.694	-6.642	-3.629
0.03	.000	.000	.000	-4.304	-6.088	-3.325
0.04	.000	.000	.001	-4.010	-5.672	-3.097
0.05	.000	.000	.001	-3.771	-5.334	-2.911
0.06	.000	.000	.002	-3.567	-5.046	-2.753
0.07	.000	.000	.002	-3.389	-4.794	-2.614
0.08	.001	.000	.003	-3.229	-4.568	-2.489
0.09	.001	.000	.004	-3.084	-4.363	-2.376
0.1	.001	.000	.005	-2.950	-4.175	-2.271
0.15	.004	.000	.015	-2.397	-3.395	-1.837
0.2	.011	.002	.032	-1.957	-2.778	-1.489
0.25	.026	.006	.065	-1.579	-2.253	-1.187
0.3	.058	.016	.123	-1.240	-1.786	-.910
0.35	.119	.044	.226	-.926	-1.361	-.646
0.4	.236	.107	.414	-.628	-.970	-.383
0.45	.458	.243	.780	-.339	-.614	-.108
0.5	.880	.510	1.563	-.056	-.293	.194
0.55	1.692	.987	3.382	.228	-.006	.529
0.6	3.286	1.817	7.878	.517	.259	.896
0.65	6.528	3.283	19.638	.815	.516	1.293
0.7	13.457	5.980	52.669	1.129	.777	1.722

0.75	29.373	11.246	155.090	1.468	1.051	2.191
0.8	70.057	22.482	521.750	1.845	1.352	2.717
0.85	192.963	50.004	2163.358	2.285	1.699	3.335
0.9	690.443	135.743	13043.260	2.839	2.133	4.115
0.91	939.402	172.636	20145.728	2.973	2.237	4.304
0.92	1312.575	224.104	32314.608	3.118	2.350	4.509
0.93	1896.092	298.490	54345.655	3.278	2.475	4.735
0.94	2859.294	410.983	97149.241	3.456	2.614	4.987
0.95	4567.978	591.684	188496.664	3.660	2.772	5.275
0.96	7920.809	907.539	410840.916	3.899	2.958	5.614
0.97	15582.805	1534.782	1071180.013	4.193	3.186	6.030
0.98	38309.165	3083.829	3831750.898	4.583	3.489	6.583
0.99	158134.471	9251.729	2.860E7	5.199	3.966	7.456

a. Logarithm base = 10.

3. Replikasi 3

a. Uji Normalitas Analisis Probit

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Unstandardized Residual
N		7
Normal Parameters ^a	Mean	.0000000
	Std. Deviation	8.69562353
Most Extreme Differences	Absolute	.177
	Positive	.169
	Negative	-.177
Kolmogorov-Smirnov Z		.469
Asymp. Sig. (2-tailed)		.980

a. Test distribution is Normal.

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Unstandardized Residual
N		7
Normal Parameters ^a	Mean	.0000000
	Std. Deviation	8.69562353
Most Extreme Differences	Absolute	.177
	Positive	.169
	Negative	-.177
Kolmogorov-Smirnov Z		.469
Asymp. Sig. (2-tailed)		.980
b. Calculated from data.		

b. Analisis Probit

Confidence Limits

Probability	95% Confidence Limits for Konsentrasi_U			95% Confidence Limits for log(Konsentrasi_U) ^a		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT 0.01	.000	.000	.000	-5.301	-7.503	-4.098
0.02	.000	.000	.000	-4.685	-6.630	-3.620
0.03	.000	.000	.000	-4.294	-6.076	-3.317
0.04	.000	.000	.001	-4.000	-5.660	-3.089
0.05	.000	.000	.001	-3.761	-5.321	-2.903
0.06	.000	.000	.002	-3.557	-5.033	-2.744
0.07	.000	.000	.002	-3.379	-4.781	-2.605
0.08	.001	.000	.003	-3.219	-4.555	-2.481
0.09	.001	.000	.004	-3.073	-4.350	-2.367
0.1	.001	.000	.005	-2.940	-4.161	-2.263

0.15	.004	.000	.015	-2.386	-3.381	-1.828
0.2	.011	.002	.033	-1.945	-2.764	-1.480
0.25	.027	.006	.067	-1.568	-2.238	-1.177
0.3	.059	.017	.126	-1.228	-1.771	-.900
0.35	.122	.045	.231	-.914	-1.346	-.636
0.4	.242	.111	.425	-.616	-.956	-.372
0.45	.471	.251	.803	-.327	-.600	-.095
0.5	.905	.525	1.613	-.043	-.280	.208
0.55	1.741	1.014	3.503	.241	.006	.544
0.6	3.383	1.864	8.181	.529	.270	.913
0.65	6.722	3.366	20.429	.828	.527	1.310
0.7	13.862	6.127	54.867	1.142	.787	1.739
0.75	30.271	11.522	161.760	1.481	1.062	2.209
0.8	72.234	23.035	544.835	1.859	1.362	2.736
0.85	199.071	51.242	2261.929	2.299	1.710	3.354
0.9	712.800	139.149	13658.033	2.853	2.143	4.135
0.91	969.987	176.983	21102.727	2.987	2.248	4.324
0.92	1355.561	229.769	33862.596	3.132	2.361	4.530
0.93	1958.586	306.067	56972.762	3.292	2.486	4.756
0.94	2954.206	421.467	101892.668	3.470	2.625	5.008
0.95	4720.833	606.864	197804.086	3.674	2.783	5.296
0.96	8188.352	930.981	431391.772	3.913	2.969	5.635
0.97	16115.186	1574.761	1125606.897	4.207	3.197	6.051
0.98	39637.720	3165.066	4030444.963	4.598	3.500	6.605
0.99	163747.034	9499.816	3.013E7	5.214	3.978	7.479

a. Logarithm base = 10.

**LAMPIRAN E. DATA ANALISIS STATISTIK ONEWAY ANOVA-LSD
EMPAT VARIAN BUAH KENTU**

Case Processing Summary

		Cases					
		Valid		Missing		Total	
		N	Percent	N	Percent	N	Percent
IC50	Varian Buah_Kentitu						
	Varian BB	3	100.0%	0	.0%	3	100.0%
	Varian BK	3	100.0%	0	.0%	3	100.0%
	Varian HL	3	100.0%	0	.0%	3	100.0%
	Varian U	3	100.0%	0	.0%	3	100.0%

Descriptives

Varian_Buah_Kentitu			Statistic	Std. Error
IC50	Varian BB	Mean	3.76667	.102673
		95% Confidence Interval for Mean		
		Lower Bound	3.32490	
		Upper Bound	4.20843	
		5% Trimmed Mean	.	
		Median	3.66600	
		Variance	.032	
		Std. Deviation	.177835	
		Minimum	3.662	
		Maximum	3.972	
		Range	.310	
		Interquartile Range	.	
		Skewness	1.731	1.225

	Kurtosis		.	.
Varian BK	Mean		2.15967	.019936
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	2.07389	
		Upper Bound	2.24544	
	5% Trimmed Mean		.	
	Median		2.15000	
	Variance		.001	
	Std. Deviation		.034530	
	Minimum		2.131	
	Maximum		2.198	
	Range		.067	
	Interquartile Range		.	
	Skewness		1.161	1.225
	Kurtosis		.	.
Varian HL	Mean		2.74433	.084610
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	2.38029	
		Upper Bound	3.10838	
	5% Trimmed Mean		.	
	Median		2.74000	
	Variance		.021	
	Std. Deviation		.146548	
	Minimum		2.600	
	Maximum		2.893	
	Range		.293	
	Interquartile Range		.	
	Skewness		.133	1.225
	Kurtosis		.	.
Varian U	Mean		.89500	.007638

Varian BB	3	3.76667	.177835	.102673	3.32490	4.20843	3.662	3.972
Varian BK	3	2.15967	.034530	.019936	2.07389	2.24544	2.131	2.198
Varian HL	3	2.74433	.146548	.084610	2.38029	3.10838	2.600	2.893
Varian U	3	.89500	.013229	.007638	.86214	.92786	.880	.905
Total	12	2.39142	1.088595	.314250	1.69976	3.08308	.880	3.972

Test of Homogeneity of Variances

IC50

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
4.146	3	8	.148

ANOVA

IC50

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	12.927	3	4.309	316.425	.000
Within Groups	.109	8	.014		
Total	13.035	11			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

IC50

LSD

(I)	(J)	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Varian_BB	Varian_BK	1.607000	.095279	.000	1.38729	1.82671

	Varian HL	1.022333*	.095279	.000	.80262	1.24205
	Varian U	2.871667*	.095279	.000	2.65195	3.09138
Varian BK	Varian BB	-1.607000*	.095279	.000	-1.82671	-1.38729
	Varian HL	-.584667*	.095279	.000	-.80438	-.36495
	Varian U	1.264667*	.095279	.000	1.04495	1.48438
Varian HL	Varian BB	-1.022333*	.095279	.000	-1.24205	-.80262
	Varian BK	.584667*	.095279	.000	.36495	.80438
	Varian U	1.849333*	.095279	.000	1.62962	2.06905
Varian U	Varian BB	-2.871667*	.095279	.000	-3.09138	-2.65195
	Varian BK	-1.264667*	.095279	.000	-1.48438	-1.04495
	Varian HL	-1.849333*	.095279	.000	-2.06905	-1.62962

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