



**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN ANTIDIABETIK DARI
FRAKSI EKSTRAK DAUN BIDARA UPAS
(*Merremia mammosa* (Lour.) Hallier f.)**

SKRIPSI

Oleh

**Ratna Wahyu Noviasari
NIM. 121810301029**

**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS JEMBER
2017**



**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN ANTIDIABETIK DARI
FRAKSI EKSTRAK DAUN BIDARA UPAS
(*Merremia mammosa* (Lour.) Hallier f.)**

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat
untuk menyelesaikan Program Studi Kimia (S1)
dan mencapai gelar Sarjana Sains

Oleh

**Ratna Wahyu Noviasari
NIM. 121810301029**

**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS JEMBER
2017**

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Keluarga tercinta, Ibunda Endah Wahyu Hariatin, Ayahanda Sunarto, serta adikku Anggita Putri Kumalasari;
2. Guru-guru sejak taman kanak-kanak hingga di perguruan tinggi;
3. Kawan seperjuangan KIMIA 2012 (LANTHANIDA), keluarga besar Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, serta almamater Universitas Jember.

MOTO

Barangsiapa bertawakkal pada Allah, maka Allah akan memberikan kecukupan padanya, sesungguhnya Allah lah yang akan melaksanakan urusan (yang dikehendaki-Nya) (terjemahan Surat Ath-Thalaq ayat 3). *)

Sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan. Maka apabila kamu telah selesai (dari suatu urusan), kerjakanlah dengan sungguh-sungguh (urusan) yang lain. Dan hanya kepada Tuhanmulah hendaknya kamu berharap (terjemahan Surat *Al-Insyirah* ayat 6-8).**)

*) Departemen Agama Republik Indonesia. 2006. *Al-Quran dan Terjemahannya*. Jakarta: CV. Pustaka Agung Harapan

***) Departemen Agama Republik Indonesia. 2008. *Al-Quran dan Terjemahannya*. Bandung: CV. Diponegoro.

PERNYATAAN

Saya yang bertandatangan di bawah ini:

Nama : Ratna Wahyu Noviasari

NIM : 121810301029

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul “Uji Aktivitas Antioksidan dan Antidiabetik dari Fraksi Ekstrak Daun Bidara Upas (*Merremia mammosa* (Lour.) Hallier f.)” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali jika dalam pengutipan substansi disebutkan sumbernya, dan belum pernah diajukan pada institusi manapun, serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sika ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

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

Jember, 13 November 2017

Yang menyatakan,

Ratna Wahyu Noviasari

NIM 121810301029

SKRIPSI

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN ANTIDIABETIK DARI
FRAKSI EKSTRAK DAUN BIDARA UPAS
(*Merremia mammosa* (Lour.) Hallier f.)**

Oleh

Ratna Wahyu Noviasari

NIM 121810301029

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Ika Oktavianawati, S.Si., M.Sc.

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

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Uji Aktivitas Antioksidan dan Antidiabetik dari Fraksi Ekstrak Daun Bidara Upas (*Merremia mammosa* (Lour.) Hallier f.)” telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember pada:

hari, tanggal : **SENIN 20 NOV 2017**

tempat : Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

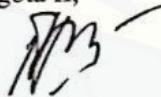
Ketua,



Ika Oktavianawati, S.Si., M.Sc.

NIP. 198010012003122001

Anggota II,



Dr. Busroni, M.Si.

NIP. 195905151991031007

Tim Penguji;

Anggota I,



Prof. Tri Agus Siswoyo, S.P., M.Agr., Ph.D.

NIP. 197008101998031001

Anggota III,



drh. Wuryanti Handayani, M.Si.

NIP. 196008221985032002

Mengesahkan

Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan,



Drs. Sujoto, Ph.D.

NIP. 196102041987111001

RINGKASAN

Uji Aktivitas Antioksidan dan Antidiabetik dari Fraksi Ekstrak Daun Bidara Upas (*Merremia mammosa* (Lour.) Hallier f.); Ratna Wahyu Noviasari, 121810301029; 2017: 58 halaman; Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

Diabetes melitus (DM) merupakan salah satu penyakit degeneratif yang secara global prevalensinya cukup tinggi. Kombinasi antioksidan, inhibitor α -amilase dan α -glukosidase merupakan langkah efektif dalam terapi pengobatan DM. Obat antidiabetik seperti akarbosa yang merupakan inhibitor sintetik α -amilase dan α -glukosidase memiliki efek samping pada gastrointestinal, sedangkan antioksidan sintetik seperti butil hidroksianisol (BHA) bersifat karsinogenik. Kondisi ini menyebabkan banyak usaha dilakukan saat ini untuk mencari inhibitor dan antioksidan alami yang berasal dari bahan alam. Bidara upas (*Merremia mammosa* (Lour.) Hallier f. merupakan bahan baku obat tradisional yang tumbuh di kawasan Taman Nasional Meru Betiri. Wahyudi (2015) menunjukkan bahwa ekstrak n-heksana daun Bidara upas memiliki aktivitas antioksidan dan antidiabetik paling baik dibandingkan dengan ekstrak etil asetat dan metanol, sehingga perlu dilakukan pemisahan lebih lanjut untuk mengetahui senyawa yang berpotensi sebagai antioksidan dan antidiabetik.

Ekstrak n-heksana dari daun Bidara upas (*Merremia mammosa* (Lour.) Hallier f. difraksinasi dengan menggunakan kromatografi kolom. Kromatografi kolom merupakan salah satu metode pemisahan senyawa didasarkan pada interaksi senyawa terhadap fasa diam dan fasa gerak, dalam penelitian ini eluen yang digunakan digradien dari pelarut n-heksana, diklorometana, dan etil asetat.

Aktivitas fraksi hasil kromatografi kolom sebagai antioksidan dianalisis melalui uji peredaman radikal DPPH. Radikal DPPH digunakan untuk melihat aktivitas fraksi sebagai antioksidan secara umum. Aktivitas fraksi dalam meredam radikal DPPH tersebut dilakukan pada konsentrasi fenolik yang sama dibandingkan untuk

menentukan fraksi yang paling aktif sebagai antioksidan. Vitamin C digunakan sebagai standar dalam analisis antioksidan. Sedangkan aktivitas fraksi sebagai inhibitor enzim dianalisis melalui uji inhibisi α -amilase dan α -glukosidase. Fraksi yang memiliki persen penghambatan tertinggi pada α -amilase dan α -glukosidase pada konsentrasi fenolik yang sama dianggap sebagai fraksi yang paling aktif sebagai inhibitor. Akarbosa digunakan sebagai standar dalam analisis inhibisi α -amilase dan α -glukosidase.

Data aktivitas antioksidan dan antidiabetik fraksi dari ekstrak n-heksana daun Bidara upas hasil kromatografi pertama dibandingkan pada konsentrasi fenolik yang sama untuk menentukan satu fraksi yang paling aktif dari total 12 fraksi yang mempunyai aktivitas antioksidan dan antidiabetik paling tinggi. Hasil analisis menunjukkan bahwa fraksi MM- 7 mempunyai persen peredaman radikal DPPH, penghambatan α -amilase dan α -glukosidase paling tinggi sehingga fraksi inilah yang akan direkromatografi kolom.

Fraksi yang diperoleh dari proses rekromatografi kolom yaitu sebanyak 3 fraksi, selanjutnya fraksi tersebut diuji aktivitas antioksidan dan antidiabetik lagi. Aktivitas fraksi hasil rekromatografi kolom sebagai antioksidan dan antidiabetik dibandingkan untuk menentukan satu fraksi yang paling aktif dari 3 fraksi hasil rekromatografi kolom yang kemudian dipilih untuk dianalisis lebih lanjut. Hasil analisis ketiga fraksi hasil rekromatografi kolom menunjukkan bahwa fraksi MM 7.3 mempunyai aktivitas antioksidan dan antidiabetik cukup tinggi dengan nilai persen peredaman radikal DPPH sebesar 94.02 % , penghambatan α -amilase sebesar 90,03% dan penghambatan α -glukosidase sebesar 90.11 % yang mana nilai ini lebih besar dibandingkan dengan standar vitamin C yaitu 67.81% dan standar akarbosa yaitu sebesar 88.79 % (penghambatan α -amilase) dan 86.81% (penghambatan α -glukosidase). Secara keseluruhan fraksi MM 7.3 mempunyai aktivitas antioksidan dan antidiabetik paling tinggi dibandingkan dengan standar vitamin C, akarbosa dan fraksi lainnya.

PRAKATA

Puji syukur atas segala rahmat dan karunia yang dilimpahkan Allah SWT, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Uji Aktivitas Antioksidan dan Antidiabetik dari Fraksi Ekstrak Daun Bidara Upas (*Merremia mammosa* (Lour.) Hallier f.)”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) di Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karenanya, penulis menyampaikan terima kasih kepada:

1. Drs. Sujito, Ph.D., selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember;
2. Dr. Bambang Piluharto, S.Si., M.Si., selaku ketua Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember;
3. Ika Oktavianawati, S.Si., M.Sc., selaku Dosen Pembimbing Utama dan Prof. Tri Agus Siswoyo, S.P., M.Agr., Ph.D., selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah meluangkan waktu, tenaga, pikiran dan perhatian dalam penulisan skripsi ini;
4. Dr. Busroni, M.Si., selaku Dosen Penguji I, dan drh. Wuryanti Handayani, M.Si., selaku Dosen Penguji II yang telah meluangkan waktunya guna menguji, serta memberikan kritik dan saran demi kesempurnaan skripsi ini;
5. drh. Wuryanti Handayani, M.Si., selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah membimbing penulis selama menjadi mahasiswa.
6. Ari Satia Nugraha, S.F.GdipSc., M.Sc., Ph.D., atas segala ilmu yang diberikan kepada penulis selama penyusunan skripsi ini.
7. segenap dosen pengajar Fakultas MIPA, terutama dosen-dosen Jurusan Kimia Universitas Jember yang telah memberikan banyak ilmu dan pengetahuan;

8. keluarga tercinta yang setia mendukung baik moril dan materiil, mendoakan, mendidik, dan memberi kasih sayang dan pengorbanan yang tidak terhingga selama ini;
9. teman-teman Kimia angkatan 2012 (Lanthanida), terima kasih atas semangat, bantuan, saran, perhatian, dan kenangan yang telah diberikan;
10. sahabat seperjuangan Ardine Kumalasari, Endah Retno Kusumaningsih, Ardian Lubis, M. Agung Fitrianto, Beny Akhmat S, Novitasari, Shella Ariska Susianti, Lailatul Nurfadila, terima kasih atas doa, dukungan, semangat dan perhatian yang diberikan selama ini;
11. kawan seperjuangan dalam menyelesaikan skripsi di *Center for Development of Advance Science and Technology* (CDAST), terima kasih atas saran, kerjasama dan bantuannya;
12. semua pihak yang telah membantu yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

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

Jember, 13 November 2017

Penulis

DAFTAR ISI

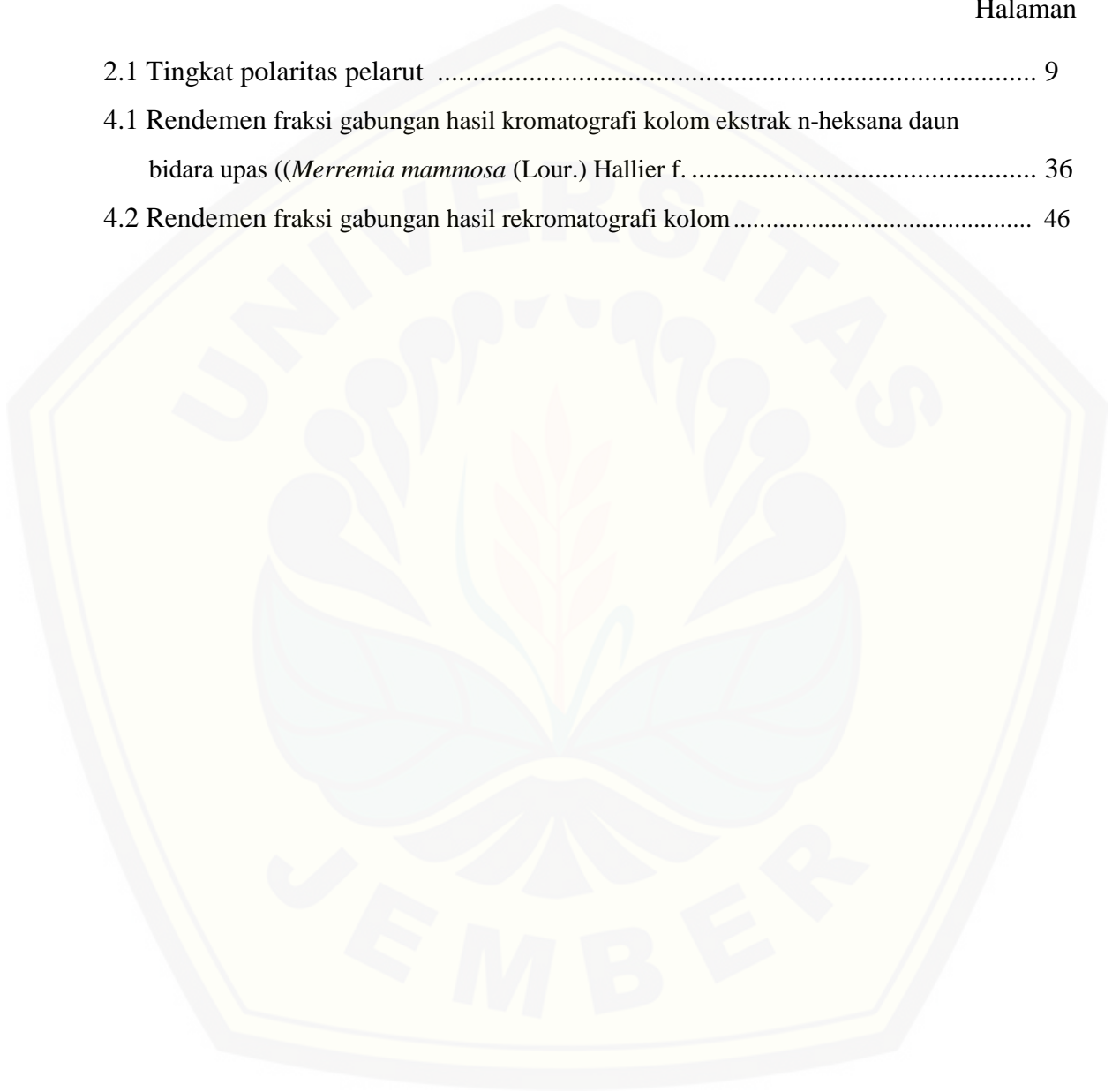
	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSEMBAHAN	ii
HALAMAN MOTO	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
HALAMAN PEMBIMBING	v
HALAMAN PENGESAHAN	vi
RINGKASAN	vii
PRAKATA	ix
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Batasan Masalah	4
1.4 Tujuan Penelitian.....	4
1.5 Manfaat Penelitian	4
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Bidara Upas (<i>Merremia mammosa</i> (Lour.) Hall. F.	5
2.2 Senyawa Metabolit Sekunder	7
2.3 Isolasi Komponen Aktif Tanaman	7
2.3.1 Metode Ekstraksi	8
2.3.2 Polaritas Pelarut	9
2.3.3 Pemisahan dan Pemurnian	9
2.4 Diabetes Melitus	11

2.5 Enzim α-Amilase dan α-Glukosidase	13
2.6 Mekanisme Penghambatan Aktivitas Enzim	15
2.7 Radikal Bebas dan Antioksidan	16
2.7.1 Radikal Bebas	16
2.7.2 Antioksidan.....	17
2.8 Prinsip Analisis Antioksidan dan Antidiabetik	19
2.8.1 Analisis Total Fenolik.....	19
2.8.2 Analisis Peredaman Radikal DPPH.....	20
2.8.3 Analisis Penghambatan α -Amilase.....	21
2.8.4 Analisis Penghambatan α -Glukosidase	22
2.9 Spektrofotometri UV-Vis	24
BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN	25
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	25
3.2 Alat dan Bahan	25
3.2.1 Alat.....	25
3.2.2 Bahan	25
3.3 Diagram Alir Penelitian	26
3.4 Prosedur Penelitian	27
3.4.1 Pembuatan Simplisia Daun Bidara Upas	27
3.4.2 Penentuan Kadar Air.....	27
3.4.3 Ekstraksi dari Simplisia Daun Bidara Upas.....	27
3.4.4 Isolasi dan Pemurnian Senyawa	28
3.4.5 Identifikasi dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)	28
3.4.6 Analisa Total Fenolik.....	29
3.4.7 Analisis Peredaman Radikal DPPH.....	29
3.4.8 Analisis Inhibisi α -Amilase	30
3.4.9 Analisis Inhibisi α -Glukosidase.....	31
3.4.10 Rekromatografi	31

3.4.11 Uji Konsistensi dengan KLT	32
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	33
4.1 Kadar Air Simplisia Daun Bidara Upas	33
4.2 Ekstraksi Simplisia Daun Bidara Upas	34
4.3 Isolasi dengan Kromatografi Kolom	36
4.4 Total Fenolik Fraksi Gabungan Hasil Kromatografi Kolom dari Ekstrak n-Heksana Daun Bidara Upas	37
4.5 Aktivitas Antioksidan Fraksi Gabungan Hasil Kromatografi Kolom dari Ekstrak n-Heksana Daun Bidara Upas	38
4.6 Aktivitas Inhibitor Enzim Fraksi Gabungan Hasil Kromatografi Kolom dari Ekstrak n-Heksana Daun Bidara Upas	40
4.6.1 Penghambatan α -Amilase	41
4.6.2 Penghambatan α -Glukosidase	42
4.6.3 Perbandingan Aktivitas Antioksidan dan Antidiabetik	44
4.7 Rekromatografi Kolom Fraksi Teraktif	45
4.8 Aktivitas Antioksidan dan Antidiabetik Fraksi Hasil Rekromatografi Kolom	46
4.8.1 Persen Peredaman Radikal DPPH	46
4.8.2 Persen Penghambatan α -Amilase dan α -Glukosidase	47
4.8.3 Perbandingan Aktivitas Antioksidan dan Antidiabetik	49
4.9 Uji Konsistensi dengan Kromatografi Lapis Tipis	50
BAB 5. PENUTUP	52
5.1 Kesimpulan	52
5.2 Saran	52
DAFTAR PUSTAKA	53
LAMPIRAN	59

DAFTAR TABEL

	Halaman
2.1 Tingkat polaritas pelarut	9
4.1 Rendemen fraksi gabungan hasil kromatografi kolom ekstrak n-heksana daun bidara upas ((<i>Merremia mammosa</i> (Lour.) Hallier f.	36
4.2 Rendemen fraksi gabungan hasil rekromatografi kolom.....	46



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Sketsa tanaman bidara upas	5
2.2 Tanaman bidara upas	6
2.3 Tipe inhibisi enzim	16
2.4 Mekanisme reaksi antioksidan sintetik (BHA) dalam meredam radikal bebas	18
2.5 Reaksi pembentukan ion fenolat dari asam galat	19
2.6 Reaksi reagen folin ciocalteu dengan fenol	20
2.7 Reaksi radikal DPPH dengan antioksidan	21
2.8 Reaksi reduksi DNS dengan gula pereduksi	22
2.9 Reaksi hidrolisis maltosa oleh α -glukosidase	22
2.10 Reaksi oksidasi glukosa oleh glukosa oksidase	23
2.11 Reaksi oksidasi hidrogen peroksida oleh <i>horseradish peroxidase</i>	23
4.1 Sampel daun Bidara upas	34
4.2 Ekstrak n-heksana daun Bidara upas.....	35
4.3 Total fenolik fraksi gabungan hasil kromatografi kolom ekstrak n-heksana daun Bidara upas	38
4.4 Nilai persen peredaman radikal DPPH oleh fraksi gabungan hasil kromatografi kolom ekstrak n-heksana daun Bidara upas	39
4.5 Nilai persen penghambatan α -amilase oleh fraksi gabungan hasil kromatografi kolom ekstrak n-heksana daun Bidara upas	42
4.6 Nilai persen penghambatan α -gukosidase oleh fraksi gabungan hasil kromatografi kolom ekstrak n-heksana daun Bidara upas	43
4.7 Perbandingan persen peredaman radikal dpph, penghambatan α -amilase dan α -glukosidase.....	44
4.8 Nilai persen peredaman radikal DPPH fraksi hasil rekromatografi kolom.....	47
4.9 Nilai persen penghambatan α -amilase fraksi hasil rekromatografi kolom	48

4.10 Nilai persen penghambatan α -glukosidase fraksi hasil rekromatografi kolom	49
4.11 Perbandingan nilai persen peredaman radikal dpph, penghambatan α -amilase dan α -glukosidase oleh fraksi hasil rekromatografi kolom.....	50
4.12 Penampakan KLT dengan visualisasi lampu UV.....	51



DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
4.1 Validasi tanaman Bidara upas	59
4.2 Kadar air tanaman Bidara upas	60
4.3 Perhitungan rendemen ekstrak maserasi	60
4.4 Foto KLT hasil kromatografi kolom	60
4.5 Perhitungan rendemen fraksi.....	63
4.6 Perhitungan total fenolik fraksi hasil kromatografi kolom pertama	63
4.6.1 Kurva standar asam galat	63
4.6.2 Total fenolik.....	63
4.7 Perhitungan persen peredaman radikal DPPH fraksi hasil kromatografi kolom pertama	65
4.8 Perhitungan persen penghambatan α -amilase fraksi hasil kromatografi kolom pertama	66
4.9 Perhitungan persen penghambatan α -glukosidase fraksi hasil kromatografi kolom pertama	67
4.10 KLT hasil rekromatografi kolom	68
4.11 Fraksi hasil rekromatografi kolom.....	74
4.12 Rendemen fraksi hasil rekromatografi kolom.....	75
4.13 Perhitungan total fenolik fraksi hasil rekromatografi kolom	75
4.14 Perhitungan persen peredaman radikal DPPH fraksi hasil rekromatografi kolom	75
4.15 Perhitungan persen penghambatan α -amilase fraksi hasil rekromatografi kolom	76
4.16 Perhitungan persen penghambatan α -glukosidase fraksi hasil rekromatografi kolom	77
4.17 Perhitungan nilai Rf KLT fraksi teraktif.....	77

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Jumlah penderita penyakit degeneratif cenderung meningkat secara signifikan. Salah satu penyakit degeneratif yang mengalami peningkatan adalah Diabetes Melitus (DM). Penyakit diabetes melitus (DM) merupakan gangguan metabolisme karbohidrat, lemak, dan protein yang ditandai dengan naiknya kadar glukosa dalam darah (hiperglikemia) akibat sekresi insulin yang kurang, aksi insulin menurun (insulin tidak dapat berfungsi dengan baik), atau keduanya (Burrant, 2006). Manifestasi jangka panjang dari diabetes adalah dapat menyebabkan beberapa komplikasi mikrovaskuler maupun makrovaskuler. Komplikasi mikrovaskuler meliputi neuropati, nefropati, dan retinopati. Komplikasi makrovaskuler meliputi kardiovaskuler, strok, dan PVD (*Peripheral Vascular Disease*) (Deshpande *et al.*, 2008).

Diabetes melitus (DM) juga merupakan penyakit yang melibatkan stres oksidatif. Stres oksidatif merupakan kondisi dimana terjadi peningkatan Spesies Oksigen Reaktif (SOR) yang akan menyebabkan kerusakan sel, jaringan atau organ (Moller *et al.*, 1996). Pembentukan senyawa oksigen reaktif akibat hiperglikemia ini dapat menyebabkan terjadinya kerusakan oksidatif pada berbagai biomakromolekul seperti enzim, protein, lipid, dan DNA yang akhirnya akan merujuk pada timbulnya berbagai macam penyakit degeneratif kronis termasuk diabetes melitus. Kerusakan oksidatif tersebut dapat diatasi dengan pemberian antioksidan. Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menunda atau memperlambat, menghambat, atau mencegah proses oksidasi terhadap suatu molekul target melalui peredaman radikal bebas dan mengurangi stress oksidatif (Ames *et al.*, 1993). Peningkatan suplai antioksidan yang cukup akan membantu pencegahan komplikasi klinis diabetes melitus.

Tubuh manusia tidak mempunyai cadangan antioksidan dalam jumlah berlebih, sehingga jika terjadi paparan radikal bebas berlebih maka tubuh membutuhkan antioksidan eksogen. Antioksidan dapat pula diperoleh dari bahan-

bahan alami yang merupakan hasil isolasi bahan alam dan antioksidan sintetik misalnya butil hidroksitoluena (BHT), butil hidroksianisol (BHA) dan tersier butil hidroksi quinolin (TBHQ). Menurut Nadheesha *et al.* (2007) penggunaan antioksidan sintetik mulai dibatasi karena memiliki efek toksikologi dan karsinogenik. Cara lain untuk menghindari efek samping dari antioksidan sintetik ini dapat diberikan dengan menggunakan obat tradisional sebagai salah satu terapi bagi penderita diabetes melitus. Obat tradisional ini merupakan antioksidan yang diperoleh dari bahan-bahan alami. Senyawa bahan alam umumnya berasal dari sumber alami dan yang paling melimpah adalah dari tumbuh-tumbuhan. Senyawa tersebut terbentuk melalui proses perubahan metabolit primer menjadi metabolit sekunder dan untuk kepentingan pengobatan, pestisida atau yang lainnya, maka senyawa tersebut harus diisolasi.

Menurut Malviya *et al.* (2010), terdapat banyak tanaman obat yang dilaporkan bermanfaat dan digunakan sebagai agen antidiabetes. Penelitian tentang penemuan agen antidiabetes baru dari tumbuhan masih terus dilakukan, walaupun telah diketahui lebih dari 400 tumbuhan memiliki aktivitas hipoglikemik. Salah satu tumbuhan yang diketahui mengandung senyawa obat yaitu Bidara Upas (*Merremia mammosa* (Lour.) Hallier f.).

Tanaman Bidara Upas merupakan salah satu tanaman obat yang tumbuh subur di kawasan hutan konservasi Taman Nasional Meru Betiri (TNMB). Tanaman ini mengandung berbagai senyawa metabolit sekunder yang dapat dimanfaatkan sebagai obat. Tanaman Bidara Upas ini merupakan tanaman dari suku *Convolvulaceae* dan dapat digunakan sebagai anti radang, analgesik, penyembuh luka, mengobati gigitan ular, kanker, kusta, syphilis, tifus, difteri, peradangan dan kencing manis (Redaksi Agromedia, 2008). Berdasarkan hasil telaah fitokimia ekstrak daun Bidara Upas mengandung senyawa flavonoid, kuinon, senyawa fenolat, triterpenoid, dan steroid (Aniq *et al.*, 2014).

Komponen bioaktif pada tanaman memiliki efek hipoglikemik yang dapat mengembalikan fungsi sel β pankreas sehingga dapat meningkatkan sekresi insulin, menghambat absorpsi glukosa di usus dan menghambat kerja α -amilase dan α -glukosidase. Kebanyakan tumbuhan yang mengandung senyawa bioaktif

seperti glikosida, alkaloid, terpenoid, flavonoid, dan karotenoid mempunyai aktivitas antidiabetes (Suarsana *et al.*, 2008). Komponen bioaktif yang dimiliki Bidara upas yang diduga mampu menghambat enzim-enzim pencernaan seperti α -amilase dan α -glukosidase. Kedua enzim tersebut berperan penting dalam pemecahan karbohidrat kompleks menjadi glukosa yang akan diserap tubuh. Penghambatan kedua enzim oleh Bidara upas diharapkan dapat mereduksi jumlah glukosa pada usus sehingga dapat digunakan untuk mencegah atau menjaga kadar gula darah pada penderita DM sehingga penghambatan α -amilase dan α -glukosidase digunakan sebagai agen antidiabetik.

Beberapa laporan penelitian menunjukkan adanya potensi ekstrak daun Bidara Upas (*Merremia mammosa* (Lour.) Hallier f.) dalam menurunkan kadar glukosa darah penderita diabetes melitus (DM). Pada penelitian sebelumnya telah dilakukan ekstraksi pada daun Bidara Upas dengan beberapa jenis pelarut yaitu ekstrak n-heksana, etil asetat, dan metanol. Wahyudi (2015) menunjukkan bahwa ekstrak daun Bidara Upas (*Merremia mammosa*) dari Taman Nasional Meru Betiri mengandung total fenolik berturut turut pada ekstrak n-heksana 359,92 mg GAE/g, etil asetat 157,05 mg GAE/g dan metanol 23,12 mg GAE/g. Potensi ekstrak dari daun Bidara Upas sebagai antioksidan ditunjukkan dari nilai IC_{50} peredaman radikal DPPH terbaiknya pada ekstrak n-heksana yakni 0,576 μ g GAE/ml. Potensi antidiabetik dari daun Bidara Upas dapat dilihat dari aktivitas persen inhibisinya terhadap α -amilase dan α -glukosidase terbesar pada ekstrak n-heksana sebesar 47,73 % dan 66,19 %. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak n-heksana daun Bidara Upas memiliki aktivitas tertinggi sebagai antioksidan dan antidiabetik, karena uji aktivitas hanya dilakukan pada ekstrak kasar dengan berbagai pelarut sehingga aktivitas yang dihasilkan dari uji tersebut belum maksimal. Berdasarkan hal tersebut maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut pada fraksi n-heksana daun Bidara upas yaitu dengan fraksinasi senyawa aktifnya menggunakan kromatografi kolom dengan silika gel sebagai fase diam dengan fasa gerak yang digradien yakni n-heksana, diklorometana dan etil asetat untuk memperoleh fraksi yang memiliki aktivitas sebagai obat andidiabetik dan antioksidan.

1.2 Rumusan Masalah

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

1. Bagaimana aktivitas antioksidan dari fraksi ekstrak daun Bidara upas (*Merremia mammosa* (Lour.) Hallier f.) ?
2. Bagaimana aktivitas antidiabetik dari fraksi ekstrak daun Bidara upas (*Merremia mammosa* (Lour.) Hallier f.) ?

1.3 Batasan Masalah

Batasan masalah dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Sampel daun Bidara Upas yang digunakan diambil secara acak di Taman Nasional Meru Betiri, Kabupaten Jember.
2. Uji aktivitas antioksidan berdasarkan peredaman radikal DPPH.
3. Uji aktivitas antidiabetik berdasarkan inhibisi α -amilase dan α -glukosidase.

1.4 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah mengetahui aktivitas antioksidan dan antidiabetik dari fraksi ekstrak daun Bidara upas (*Merremia mammosa* (Lour.) Hallier f.).

1.5 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi bagi masyarakat dan peneliti mengenai aktivitas antioksidan dan antidiabetik dari fraksi ekstrak daun Bidara upas (*Merremia mammosa* (Lour.) Hallier f.).

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Bidara Upas (*Merremia mammosa* (Lour.) Hall. F.)

Bidara Upas (*Merremia mammosa* (Lour.) Hall. F.) merupakan tanaman jenis umbi-umbian yang biasa tumbuh di perkebunan, tepi hutan maupun ladang. Bidara Upas biasanya juga ditanam di pekarangan, karena umbinya dapat dikonsumsi. Tanaman ini berasal dari negara Filipina tetapi dapat pula dijumpai di daerah tropis khususnya di Indonesia. Daerah penyebaran bidara upas antara lain di daerah Jawa Tengah (Solo, Yogyakarta), Maluku (Ambon), dan Sumatra. Bidara Upas dikenal juga dengan sebutan blantar, widara upas, atau hailale (Ambon).



Gambar 2.1 Sketsa tanaman Bidara upas

Tanaman ini dapat tumbuh di dataran rendah sampai ketinggian 200 m dpl, tersebar di daerah beriklim tropis terutama pada tanah kering yang tidak tergenang air, dan dapat diperbanyak dengan menggunakan stek batang atau cabang (\pm 20 cm dari bagian pucuk). Bidara Upas tumbuh merayap atau membelit dengan panjang 3-6 m. Tumbuhan merambat ini bentuk daunnya mirip sirih, seperti hati dengan ujung yang runcing, panjang 5-12 cm, lebar 4-15 cm dan berwarna hijau tua. Warna batangnya agak gelap dan bila dipegang terasa sedikit licin. Bunganya berbentuk lonjong dan berwarna putih seperti lonceng ukuran panjang 7-8 cm dengan 4 helai kelopak. Umbi dari tanaman bidara upas panjangnya bisa

mencapai 25 cm. Umbinya mirip kentang atau ubi jalar yang berwarna coklat. Habitat tanaman ini ada di hutan karena dapat tumbuh dengan liar dan terkadang ditanam di dekat pagar (Utami & Mardiana, 2013). Gambar tanaman Bidara upas ditunjukkan oleh Gambar 2.2.



Gambar 2.2 Tanaman Bidara upas

Secara taksonomi, Bidara upas diklasifikasikan sebagai berikut (Plantamor, 2012):

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Tracheobionta
Super Divisi	: Spermatophyta
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Sub Kelas	: Asteridae
Ordo	: Solanales
Famili	: Convolvulaceae
Genus	: <i>Merremia</i>
Spesies	: <i>Merremia mammosa</i> (Lour.) Hall. F.

Bidara upas (*Merremia mammosa* (Lour) Hall. F.) merupakan salah satu contoh flora yang dapat digunakan untuk pengobatan. Umbi tanaman ini dapat digunakan untuk antiradang, analgetik, pencahar (obat pencuci perut), penghilang bengkak, penetral racun (antidota), penyejuk, penghenti pendarahan, penurun kadar gula darah, penurun panas, dan penghambat sel kanker (Lasmadiwati & Setyowati, 2003).

Ekstrak air umbinya mengandung senyawa golongan polifenol, ekstrak n-heksana mengandung senyawa golongan triterpenoid dan terpenoid, dan untuk ekstrak metanol mengandung senyawa golongan polifenol dan flavonoid (Agil *et al.*, 2010). Tanaman lain yang segenus (marga) dengan Bidara upas telah terbukti memiliki aktivitas sebagai penyembuh luka (Hattapaki *et al.*, 2004), antidiabetes melitus, antihiperlipidemia, antioksidan dan antiinflamasi (Bidkar *et al.*, 2009).

2.2 Senyawa Metabolit Sekunder

Senyawa metabolit adalah suatu senyawa produk hasil metabolisme. Senyawa metabolit terbagi menjadi dua yaitu senyawa metabolit primer dan senyawa metabolit sekunder. Senyawa metabolit primer adalah substansi yang dihasilkan oleh organisme melalui metabolisme dasar yang digunakan untuk pertumbuhan dan perkembangan organisme yang bersangkutan. Senyawa metabolit sekunder adalah senyawa-senyawa hasil biosintetik turunan dari metabolit primer yang umumnya diproduksi oleh organisme yang berguna untuk mempertahankan diri dari lingkungan maupun serangan organisme lain (Riyani, 2013).

Senyawa kimia sebagai hasil metabolit sekunder telah banyak digunakan untuk zat warna, racun, aroma makanan, obat-obatan dan sebagainya (Setiana *et al.*, 2011). Senyawa metabolit sekunder ini memiliki komponen aktif dalam tumbuhan yang banyak dimanfaatkan di bidang kedokteran atau farmakologi dan pertanian. Salah satu khasiat dari metabolit sekunder digunakan sebagai antihiperqlikemik atau antidiabetes melitus. Senyawa-senyawa kimia yang merupakan hasil metabolisme sekunder pada tumbuhan sangat beragam dan dapat diklasifikasikan dalam beberapa golongan senyawa bahan alam yaitu alkaloid, flavonoid, terpenoid, dan steroid.

2.3 Isolasi Komponen Aktif Tanaman

Isolasi adalah suatu cara memisahkan senyawa yang bercampur sehingga akan dihasilkan senyawa tunggal yang murni. Tumbuhan mengandung ribuan

senyawa yang dikategorikan sebagai metabolit primer dan metabolit sekunder. Proses isolasi senyawa dari bahan alami ini menargetkan untuk mengisolasi senyawa metabolit sekunder, karena senyawa metabolit sekunder diyakini dan telah diteliti dapat memberikan manfaat bagi kehidupan manusia antara lain manfaatnya dalam bidang pertanian, kesehatan dan pangan.

Metode isolasi dapat diarahkan pada suatu senyawa yang lebih dominan dan salah satu usaha mengefektifkan isolasi senyawa tertentu maka dapat dilakukan pemilihan pelarut organik yang akan digunakan pada proses isolasi. Pelarut polar akan lebih mudah melarutkan senyawa polar dan sebaliknya senyawa non polar akan lebih mudah larut dalam pelarut non polar (Harborne, 1987). Isolasi senyawa biasanya dilakukan dalam tiga tahap yaitu tahap ekstraksi, pemisahan dan pemurnian serta identifikasi.

2.3.1 Metode Ekstraksi

Ekstraksi adalah suatu proses pemisahan komponen yang diinginkan dari penyusun-penyusun lain dalam suatu campuran berdasarkan kelarutan komponen tersebut terhadap pelarut yang digunakan. Ekstraksi biasanya menggunakan pelarut organik secara berurutan dengan kepolaran yang semakin meningkat. Pemilihan metode ekstraksi yang tepat tergantung dari tekstur, kandungan air, bahan tumbuhan yang akan diekstraksi dan jenis senyawa yang akan diisolasi (Padmawinata, 1996). Ekstraksi serbuk kering jaringan tumbuhan dapat dilakukan dengan cara maserasi, perkolasi, refluks, dan sokhletasi dengan menggunakan pelarut dengan tingkat kepolaran yang berbeda-beda (Harbone, 1996). Teknik ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah teknik maserasi.

Metode ekstraksi maserasi umum digunakan untuk mengekstraksi sampel yang relatif tidak tahan panas. Metode ini hanya dilakukan dengan merendam sampel dalam suatu pelarut dengan jangka waktu tertentu, biasanya dilakukan selama 24 jam tanpa menggunakan pemanas. Filtrat yang diperoleh dari proses maserasi ini diuapkan dengan menggunakan alat penguap yaitu *rotary evaporator* hingga menghasilkan ekstrak pekat. Kelebihan metode ini diantaranya sederhana dan bisa menghindari kerusakan komponen senyawa akibat panas. Kelemahan metode ini ditinjau dari segi waktu dan penggunaan pelarut yang tidak efektif dan

efisien karena jumlah pelarut relatif banyak dan waktunya lebih lama (Meloan, 1999).

2.3.2 Polaritas Pelarut

Pelarut adalah zat yang berada pada larutan dalam jumlah besar sedangkan zat lainnya dianggap sebagai zat terlarut. Jenis bahan dan komponen yang akan diekstrak mempengaruhi besar kecilnya hambatan dalam ekstraksi. Pelarut yang baik untuk ekstraksi adalah pelarut yang mempunyai daya melarutkan yang tinggi terhadap zat yang diekstraksi. Daya melarutkan yang tinggi ini berhubungan dengan kepolaran pelarut dan kepolaran senyawa yang diekstraksi. Senyawa polar lebih mudah larut dalam pelarut polar dan senyawa non polar akan lebih mudah larut dalam pelarut non polar (Houghton & Raman, 1998). Tingkat polaritas pelarut dapat dilihat pada Tabel 2.1.

Tabel 2.1 Tingkat polaritas pelarut

Pelarut	Indeks Kepolaran	Titik didih (°C)	Viskositas	Kelarutan dalam air (% w/w)
n-Heksana	0.0	69	0.33	0.001
Diklorometana	3.1	41	0.44	1.6
n-Butanol	3.9	118	2.98	7.81
iso-Propanol	3.9	82	2.30	100
n-Propanol	4.0	92	2.27	100
Kloroform	4.1	61	0.57	0.815
Etil asetat	4.4	77	0.45	8.7
Aseton	5.1	56	0.32	100
Metanol	5.1	65	0.60	100
Etanol	5.2	78	1.20	100
Air	9.0	100	1.00	100

Sumber: Sarker *et al.* (2006)

2.3.3 Pemisahan dan Pemurnian

Pemisahan dan pemurnian senyawa metabolit sekunder dapat dilakukan dengan menggunakan teknik kromatografi seperti kromatografi kolom kromatografi lapis tipis (KLT). Pemilihan teknik kromatografi ini sebagian besar tergantung pada sifat kelarutan senyawa yang akan dipisahkan (Harbone, 1996).

a. Kromatografi Kolom

Kromatografi kolom ini merupakan salah satu metode pemisahan senyawa dalam jumlah besar. Fase diam yang digunakan pada kromatografi kolom dapat berupa silika gel, selulosa atau poliamida sedangkan fase geraknya dapat dimulai dari pelarut non polar kemudian ditingkatkan kepolarannya secara bertahap, baik dengan pelarut tunggal maupun kombinasi dua pelarut yang berbeda kepolarannya dengan perbandingan tertentu sesuai dengan tingkat kepolaran yang dibutuhkan (Stahl, 1969).

Prinsip kromatografi kolom adalah suatu teknik pemisahan yang didasarkan pada peristiwa adsorpsi. Sampel yang biasanya berupa larutan pekat diletakkan pada ujung atas kolom. Eluen atau pelarut dialirkan secara kontinyu ke dalam kolom, dimana dengan adanya gravitasi atau karena bantuan tekanan maka eluen pelarut akan melewati kolom dan proses pemisahan akan terjadi. Kecepatan pergerakan suatu komponen tergantung pada kemampuannya untuk tertahan atau terhambat oleh penyerap di dalam kolom. Jadi suatu senyawa yang diserap lemah akan bergerak lebih cepat daripada yang diserap kuat (Sastrohamidjojo, 2002).

Alat yang digunakan dalam kromatografi kolom berbentuk pipa kaca vertikal (kolom) yang diisi dengan serbuk alumina aktif atau sejenisnya. Zat yang akan dipisahkan atau dianalisis dituangkan dari atas kolom, kemudian secara perlahan diikuti dengan menuangkan pelarut melalui kolom tersebut. Cara ini dikenal dengan sebutan elusi dan zat yang mengelusi (pelarut) disebut eluen. Kecepatan komponen pelarut melewati alumina bergantung pada daya serap alumina terhadap komponen itu, semakin kuat daya serap alumina terhadap komponen itu, makin lambat komponen itu lewat melalui kolom (Sastrohamidjojo, 2002).

b. Kromatografi Lapis Tipis

Pemisahan dengan kromatografi didasarkan pada kesetimbangan komponen-komponen campuran di antara fasa gerak (*mobile phase*) dan fasa diam (*stationery phase*) (Hendayana, 1994). Penggunaan umum kromatografi lapis tipis (KLT) adalah untuk menentukan banyaknya komponen dalam campuran, identifikasi senyawa, memantau proses reaksi, menentukan efektifitas

pemurnian, menentukan kondisi yang sesuai untuk kromatografi kolom, serta untuk memantau kromatografi kolom, melakukan skrining sampel untuk obat (Gandjar & Rohman, 2007).

Prinsip kerja dari KLT adalah perbedaan tingkat kelarutan suatu senyawa diantara dua fase, yaitu fase diam dan fase gerak. Metode ini sering digunakan karena sederhana, cepat dalam memisahkan, dan sensitif. Metode KLT ini melibatkan dua sifat fase yaitu dengan komposisi berbagai pelarut dimana dapat memisahkan senyawa berdasarkan perbedaan kepolaran. Fase diam yang digunakan adalah silika gel GF₂₅₄ (Gandjar & Rohman, 2007).

Identifikasi senyawa yang telah terpisah pada lapisan tipis dapat dilakukan dengan menggunakan reagen penampak noda maupun deteksi dengan menggunakan lampu UV untuk senyawa yang dapat menyerap warna (Atun, 2014). Laju pergerakan fase gerak terhadap fase diam dihitung sebagai *retardation factor* (Rf). Nilai Rf diperoleh dengan membandingkan jarak yang ditempuh oleh zat terlarut dengan jarak yang ditempuh oleh fase gerak (Gandjar & Rohman, 2007). Faktor yang mempengaruhi bercak dan harga Rf dari KLT antara lain struktur kimia dari senyawa yang dipisahkan, derajat kemurnian dari fase gerak, serta derajat kejenuhan uap dalam bejana pengembang yang digunakan dalam KLT (Stahl, 1985).

Pemisahan senyawa akan terjadi pada plat KLT dan terbawa oleh pelarut (fase gerak) yang sesuai. Setelah kromatografi kolom untuk mendeteksi komponen yang dipisahkan dapat juga digunakan KLT, karena kromatografi kolom konvensional tidak dilengkapi dengan detektor sehingga fraksi yang mempunyai profil spot KLT yang sama atau mirip digabungkan dan dapat dianalisis ke tahap selanjutnya (Bott, 2014).

2.4 Diabetes Melitus

Diabetes melitus (DM) merupakan kelompok penyakit metabolik yang ditandai dengan tingginya kadar glukosa darah (hiperglikemia). Hal itu diakibatkan oleh gagalnya pankreas mengeluarkan insulin secara memadai atau kerja insulin yang terganggu (disebut resistensi insulin atau insulin tidak sensitif),

bahkan bisa terjadi karena kedua keadaan tersebut. Insulin adalah hormon yang dilepaskan oleh organ pankreas, yang terletak di rongga perut dekat usus dan merupakan zat utama yang bertanggung jawab dalam mempertahankan kadar gula darah normal (American Diabetes Association, 2005). Insulin berfungsi mengubah gula darah menjadi gula otot dan disimpan ke dalam sel atau jaringan, yang digunakan untuk menghasilkan energi atau disimpan sebagai cadangan energi dalam bentuk gula otot. Indikasi adanya penyakit ini adalah tingginya kadar glukosa darah akibat gangguan metabolisme karbohidrat. Diabetes melitus bersifat menahun atau penyakit kronis yang akan diderita seumur hidup.

Penyakit diabetes melitus sangat ditakuti karena memiliki kemampuan untuk merusak sel β dengan sangat progresif. Obat hiperglikemik menjadi tidak efektif lagi karena tidak mampu mengendalikan kadar glukosa darah, sehingga komplikasi kronis karena glukosa darah yang selalu tinggi dan tidak terkendali akan muncul. Hal itu karena glukosa darah yang tinggi sangat toksik bagi semua organ. Keadaan ini akan menimbulkan penyempitan pembuluh darah akibat trombus sampai kerusakan saraf akibat neuropati dan dapat menyebabkan berbagai penyakit, seperti penyakit jantung koroner, stroke, gangren di kaki, gagal ginjal, katarak, koma, sampai kematian.

Diagnosis terhadap penyakit diabetes melitus pada umumnya baru akan dilakukan jika pasien mengalami keluhan seperti poliuria, polidipsia, polifagia, dan penurunan berat badan yang tidak jelas penyebabnya. Keluhan lain yang mungkin dirasakan oleh penderita antara lain badan terasa lemah, sering kesemutan, gatal-gatal, mata kabur, disfungsi ereksi pada pria, dan *pruritus vulvae* pada wanita (Departemen Kesehatan RI, 2005).

Penderita Diabetes Melitus tipe I mengalami kerusakan sel β pankreas yang menghasilkan insulin, akibatnya sel-sel β pankreas tidak dapat mensekresikan insulin atau hanya dapat mensekresikan insulin dalam jumlah sedikit. Akibat dari sel-sel β pankreas yang tidak dapat membentuk insulin atau insulin hanya ada dalam jumlah sedikit maka penderita DM tipe I ini selalu bergantung pada insulin. Pengobatan DM tipe I dilakukan dengan pemberian insulin kepada penderita. Penderita Diabetes Melitus tipe II tidak mengalami kerusakan pada sel-sel β

pankreas tetapi insulin yang disekresikan jumlahnya menurun. Penurunan tersebut disertai defisiensi insulin hingga resistensi insulin. Diabetes melitus tipe II ini umumnya disebabkan oleh obesitas. Pengobatan DM tipe II dilakukan dengan pengaturan pola makan dan olah raga, serta dapat pula diobati dengan obat-obat antidiabetes. Diabetes tipe II inilah yang banyak diderita oleh masyarakat (Matsumoto *et al.*, 2002).

2.5 Enzim α -Amilase dan α -Glukosidase

Hiperglikemia akibat resistensi insulin dapat diminimalisir melalui penghambatan enzim-enzim yang terlibat dalam reaksi pembentukan glukosa. Glukosa dibentuk melalui kerja sekumpulan enzim yang saling melengkapi dan berurutan. Enzim adalah suatu bentuk protein fungsional yang berperan sebagai biokatalisator yang meningkatkan laju reaksi kimia setidaknya 10^6 kali dibanding reaksi tanpa katalis, tidak ikut bereaksi serta tidak mengalami perubahan selama berlangsungnya reaksi tersebut. Enzim bersifat spesifik untuk reaksi yang dikatalisis maupun substratnya (Murray *et al.*, 2003). Kinerja enzim dapat dihambat oleh inhibitor. Cara kerja inhibitor adalah dengan menyerang sisi aktif enzim sehingga enzim tidak dapat berikatan dengan substrat akibatnya fungsi katalitiknya terganggu (Winarno, 1989).

Enzim yang bekerja pada sistem gastrointestinal (pencernaan) adalah α -amilase dan α -glukosidase. α -Amilase dan α -glukosidase merupakan dua enzim utama yang menghidrolisis polisakarida menjadi glukosa. α -Amilase akan menghidrolisis karbohidrat kompleks seperti pati menjadi produk campuran oligosakarida. Produk hidrolisis oleh α -amilase seperti maltosa dengan ikatan alfa-1,4-glikosida, isomaltosa dengan ikatan alfa-1,6-glikosida dan sukrosa dengan ikatan alfa-1,2-glikosidanya akan dihidrolisis lebih lanjut menjadi monosakarida α -D-glukosa oleh enzim α -glukosidase (Nakamura *et al.*, 2012).

α -Amilase (α -1,4-glukan-4-glukanohidrolase; E.C. 3.2.1.1) adalah salah satu produk utama yang dikeluarkan kelenjar pankreas (5-6%) dan saliva. α -Amilase berperan penting dalam pemecahan amilum dan glikogen. α -Amilase merupakan famili endoamilase yang mengkatalisis reaksi awal hidrolisis amilum

menjadi oligosakarida melalui pemutusan ikatan α -D-(1-4) glikosida. Produk akhir reaksi hidrolisis α -amilase merupakan campuran maltosa, maltotriosa, dan oligosakarida yang tersusun oleh 6-8 unit-unit glukosa yang mengandung ikatan baik α -1,4 maupun α -1,6 (Sales *et al.*, 2012).

Penghambatan α -amilase akan berpengaruh terhadap metabolisme di dalam saluran pencernaan antara lain mengganggu atau memperlambat pemecahan karbohidrat sehingga akan mengurangi ketersediaan kalori atau mempengaruhi sistem glukosa-insulin. Pengaruh penghambatan α -amilase terhadap absorpsi karbohidrat dan glukosa setelah makan telah diuji pada manusia dan menunjukkan bahwa penghambatan jenis protein memperlambat penyerapan dan mengurangi konsentrasi glukosa plasma sehingga penghambatan α -amilase dapat dimanfaatkan bagi penderita diabetes melitus tipe II (Juge & Svensson, 2006).

α -Glukosidase adalah enzim yang berperan pada konversi karbohidrat menjadi glukosa, dimana karbohidrat akan dicerna oleh enzim di dalam mulut dan usus menjadi gula yang lebih sederhana yang kemudian akan diserap ke dalam tubuh dan meningkatkan kadar gula darah. Proses pencernaan karbohidrat tersebut menyebabkan pankreas melepaskan α -glukosidase ke dalam usus yang akan mencerna karbohidrat menjadi oligosakarida yang kemudian akan diubah lagi menjadi glukosa oleh α -glukosidase yang dikeluarkan oleh sel-sel usus halus, kemudian akan diserap ke dalam tubuh. Kadar glukosa dalam darah dapat dikembalikan dalam batas normal karena adanya penghambatan kerja enzim α -glukosidase (Bösenberg, 2008).

Enzyme code dari α -glukosidase yakni 3.2.1.20 dengan klasifikasi enzim 3 merupakan kelas hidrolase, 2 merupakan glikosilase, 1 merupakan enzim hidrolisis O- dan S-glikosil dan 20 merupakan alfa-glukosidase. Merupakan enzim yang bertanggung jawab terhadap konversi karbohidrat menjadi glukosa. Enzim ini merupakan enzim utama untuk mencegah karbohidrat dan oligosakarida menjadi monosakarida dalam usus kecil (Lee *et al.*, 2007). Enzim ini mengkatalisis hidrolisis ikatan glikosidik α -1,4 karbohidrat sehingga melepaskan α -glukosa dan meningkatkan kadar gula darah setelah makan (Wu *et al.*, 2012).

Enzim-enzim α -glukosidase (maltase, isomaltase, glukomaltase, dan sukrase) berfungsi untuk menghidrolisis oligosakarida pada dinding usus halus. Penghambatan kerja enzim α -glukosidase secara efektif dapat mengurangi pencernaan kompleks dan absorpsinya, sehingga dapat mengurangi peningkatan kadar glukosa *post-prandial* pada penderita diabetes (Departemen Kesehatan RI, 2005).

2.6 Mekanisme Penghambatan Aktivitas Enzim

Inhibitor merupakan senyawa yang dapat menghambat aktivitas enzim saat ditambahkan ke dalam reaksi enzim-substrat. Penghambatan enzim dapat digolongkan ke dalam dua sifat, yaitu penghambatan *reversible* dan penghambatan *irreversible*. Penghambatan *reversible* terjadi bila suatu penghambat membentuk ikatan non kovalen dengan enzim sehingga dapat dilepaskan dari enzim dengan cara pengenceran, filtrasi gel, atau dialisis. Penghambatan *irreversible* terjadi bila suatu penghambat membentuk ikatan kovalen dengan enzim sehingga membentuk kompleks yang bersifat tetap dan tidak dilepaskan dengan cara pengenceran maupun dialisis (Champe *et al.*, 2005). Penghambatan *reversible* dibagi menjadi 3 tipe kerja, yaitu penghambatan kompetitif, penghambatan *unkompetitif*, dan penghambatan campuran (nonkompetitif) (Nelson & Cox, 2004) :

a. Penghambatan kompetitif

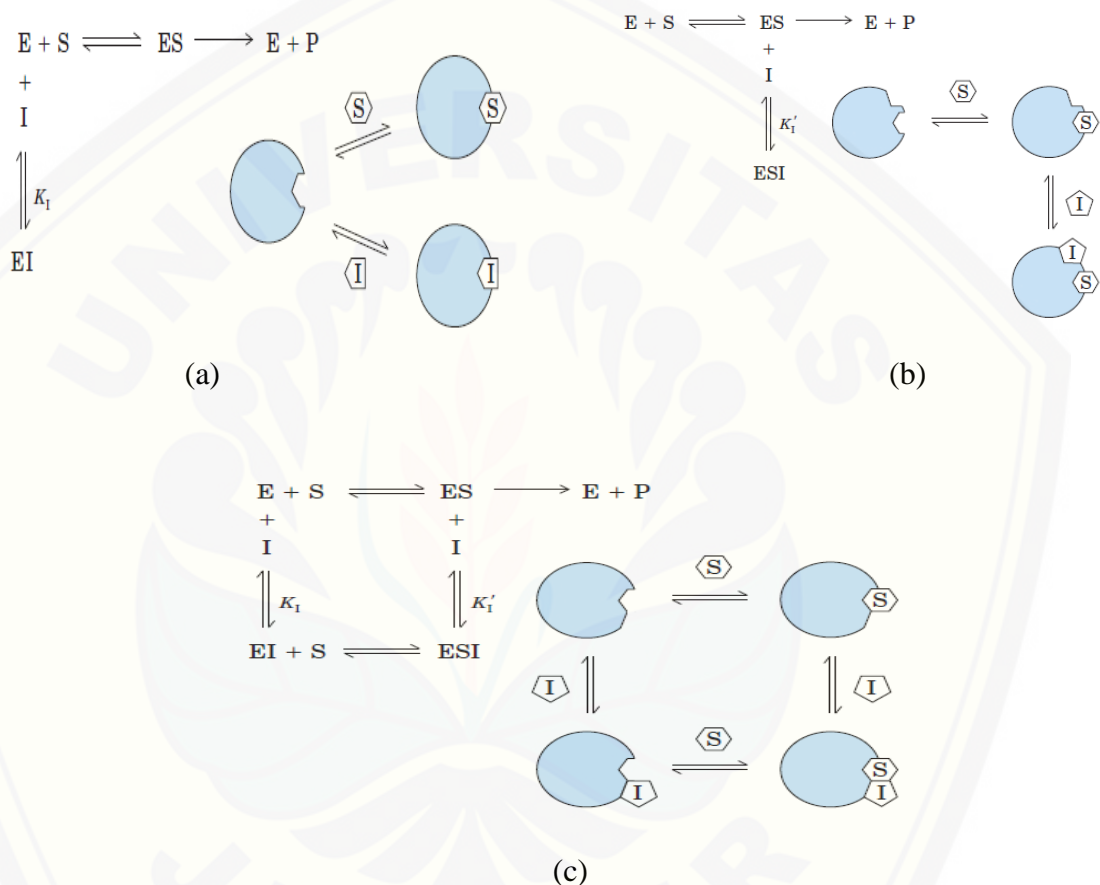
Penghambatan kompetitif terjadi bila suatu penghambat dengan struktur yang menyerupai substrat normal, berkompetisi dengan substrat normal untuk berikatan pada sisi aktif enzim. Enzim tidak dapat menghasilkan produk ketika kompleks enzim-inhibitor (EI) terbentuk.

b. Penghambatan *unkompetitif*

Penghambatan *unkompetitif* terjadi bila suatu penghambat berikatan dengan sisi yang berbeda dengan substrat normal pada enzim, sehingga substrat masih dapat berikatan dengan sisi aktif enzim. Kompleks yang terbentuk dari tipe penghambatan ini adalah enzim-substrat-inhibitor (ESI).

c. Penghambatan campuran (nonkompetitif)

Penghambatan campuran (nonkompetitif) terjadi bila suatu penghambat berikatan dengan enzim pada sisi aktif tempat substrat terikat (kompetitif) maupun pada sisi lain dari enzim yang bukan tempat substrat terikat (*unkompetitif*).



(a) Inhibitor kompetitif; (b) Inhibitor *unkompetitif*; (c) Inhibitor campuran

Gambar 2.3 Tipe inhibisi enzim (Nelson & Cox, 2004)

2.7 Radikal Bebas dan Antioksidan

2.7.1 Radikal Bebas

Penyakit degeneratif dan penuaan dini merupakan implikasi akibat stress oksidatif yang ditimbulkan oleh terakumulasikannya radikal bebas dalam jaringan tubuh (Langseth, 1995). Hal ini disebabkan karena nutrisi yang buruk, tingginya stres fisik maupun psikologis, paparan polutan dari udara, makanan, dan air,

paparan berlebih dari antibiotika dan obat-obatan lainnya, menyebabkan semakin banyaknya radikal bebas dalam tubuh (Langseth, 1995). Radikal bebas adalah setiap atom atau kelompok atom yang hadir secara mandiri dan mengandung setidaknya satu elektron yang tidak berpasangan (Youngson, 2005). Adanya elektron tidak berpasangan menyebabkan senyawa tersebut sangat reaktif mencari pasangan. Radikal bebas ini akan merebut elektron dari molekul lain yang ada di sekitarnya untuk menstabilkan diri. Radikal bebas erat kaitannya dengan kerusakan sel, kerusakan jaringan, dan proses penuaan (Fessenden dan Fessenden, 1986).

Radikal bebas atau yang biasa disebut dengan reaksi oksidasi yang berlebih dapat menyerang apa saja terutama yang rentan seperti lipid, protein dan berimplikasi pada timbulnya berbagai penyakit degeneratif (Selawa *et al.*, 2013). Hal ini terjadi karena sebagian besar penyakit diawali oleh adanya reaksi oksidasi yang berlebihan di dalam tubuh (Winarsi, 2007). Oksidasi merupakan proses yang menyebabkan atom mengalami peningkatan jumlah ikatan dengan oksigen atau penurunan jumlah ikatan dengan hidrogen atau kehilangan elektron (Cairns, 2003). Reaksi oksidasi ini terjadi setiap saat. Reaksi ini menyebabkan terbentuknya radikal bebas yang sangat aktif, yang dapat merusak struktur serta fungsi sel. Reaksi radikal bebas ini dapat dihambat oleh sistem antioksidan yang melengkapi sistem kekebalan tubuh (Winarsi, 2007).

2.7.2 Antioksidan

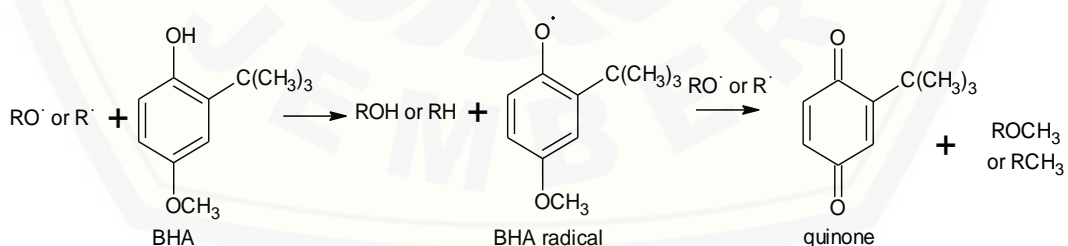
Antioksidan merupakan senyawa pemberi elektron (*electron donors*). Antioksidan bekerja dengan cara mendonorkan satu elektronnya kepada senyawa yang bersifat oksidan sehingga aktivitas senyawa oksidan tersebut bisa terhambat. Antioksidan menstabilkan radikal bebas dengan melengkapi kekurangan elektron yang dimiliki radikal bebas dan menghambat terjadinya reaksi berantai dari pembentukan radikal bebas (Winarsi, 2007).

Sel memiliki antioksidan alami seperti superoksida dismutase (SOD), katalase, reduktase, glutathion peroksidase dan antioksidan yang bisa mempertahankan dan perlindungan dari pengaruh radikal bebas. Namun, ketika

radikal bebas lebih banyak daripada kemampuan pertahanan antioksidan alami tersebut bisa mengalami gangguan sehingga memutuskan rantai reduksi oksidasi normal dan mengakibatkan kerusakan oksidatif jaringan yang sering dikenal dengan stres oksidatif (Wuryastuti, 2000).

Senyawa antioksidan mempunyai berat molekul kecil tapi mampu menginaktivasi reaksi oksidasi dengan mencegah terbentuknya radikal. Berdasarkan mekanisme kerja dan sumbernya, antioksidan diklasifikasikan menjadi 3 golongan, yaitu antioksidan primer, antioksidan sekunder dan antioksidan tersier. Antioksidan primer dapat memberikan atom hidrogen kepada senyawa radikal yang terbentuk dan diubah menjadi senyawa yang tidak reaktif atau stabil atau dengan kata lain antioksidan ini akan mencegah pembentukan radikal bebas baru. Antioksidan sekunder merupakan senyawa yang berfungsi menangkap radikal bebas dan menginaktivasi radikal yang telah terbentuk (pemutusan rantai reaksi) sehingga tidak terjadi kerusakan yang lebih besar. Antioksidan tersier merupakan senyawa yang memperbaiki sel-sel dan jaringan yang rusak karena serangan dari radikal bebas (Winarsi, 2007).

Antioksidan bekerja melalui 3 mekanisme yaitu antioksidan akan mencegah pembentukan radikal bebas baru, antioksidan menginaktivasi radikal yang telah terbentuk (pemutusan rantai reaksi), dan antioksidan akan memperbaiki kerusakan akibat radikal bebas. Mekanisme reaksi antioksidan sintetik (BHA) dalam meredam radikal bebas dapat dilihat pada Gambar 2.4.



Gambar 2.4 Mekanisme reaksi antioksidan sintetik (BHA) dalam meredam radikal bebas (Wade, 2006)

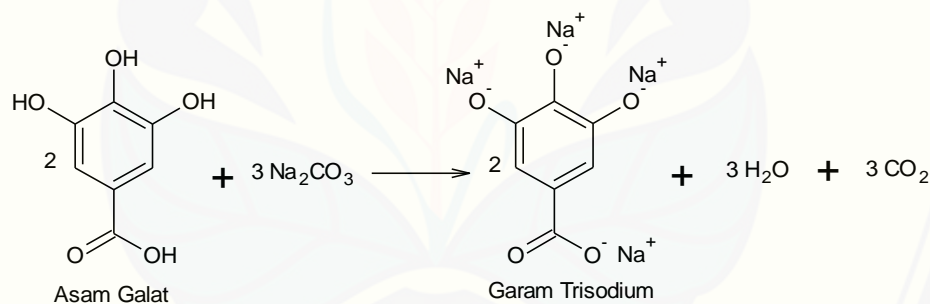
Jumlah antioksidan endogen yang dihasilkan pada kondisi diabetes melitus tidak seimbang dengan peningkatan jumlah radikal bebas sehingga dibutuhkan adanya antioksidan dari luar dan pengobatan diabetes melitus saat ini dilakukan

dengan mengombinasikan antara antidiabetes dan antioksidan. Hal ini disebabkan obat antidiabetes saat ini tidak bekerja memperbaiki sel pankreas- β yang rusak akibat radikal bebas, tetapi hanya menstimulasi pelepasan insulin dari sel pankreas- β (Adnyana *et al.*, 2004). Selain itu pengobatan diabetes menggunakan antioksidan juga dapat mencegah terjadinya komplikasi diabetes (Aslan *et al.*, 2007).

2.8 Prinsip Analisis Antioksidan dan Antidiabetik

2.8.1 Analisis Total Fenolik

Analisis total fenolik digunakan sebagai satuan dasar pengukuran antioksidan dan antidiabetik dengan menggunakan asam galat sebagai standar pengukuran. Asam galat akan bereaksi dengan natrium karbonat menghasilkan ion fenolat yaitu garam *trisodium* (Rayner & Raynel, 2011). Persamaan reaksinya ditampilkan pada Gambar 2.5 berikut.

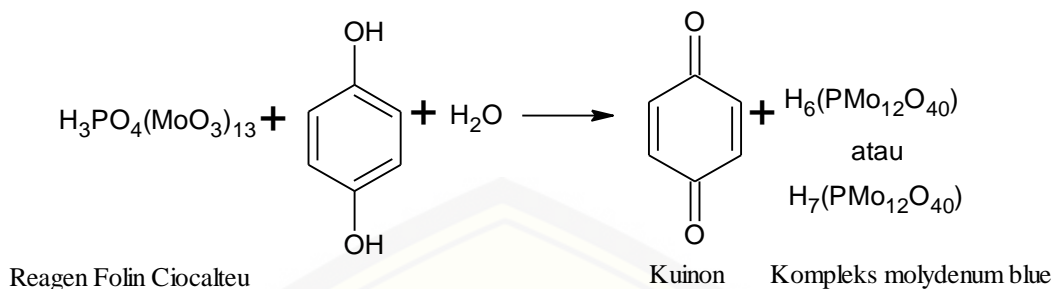


Gambar 2.5 Reaksi pembentukan ion fenolat dari asam galat (Rayner & Raynel, 2011)

Ion fenolat ini akan mereduksi satu atom atau lebih oksigen dari reagen Folin-Ciocalteu yang berwarna kuning menjadi biru menghasilkan senyawa baru yang memiliki panjang gelombang maksimum 750 nm. Reagen Folin-Ciocalteu sendiri merupakan campuran fosfomolibdat dan fosfotungstat dengan dua komposisi yang berbeda (Swamy *et al.*, 2014).

Reagen ini terbuat dari air, natrium tungstat, natrium molibdat, asam fosfat, asam klorida, litium sulfat, dan bromin. Reagen ini mengandung rangkaian polimerik yang memiliki bentukan umum dengan pusat unit tetrahedral fosfat

$(\text{PO}_4)^{3-}$ yang dikelilingi oleh beberapa unit oktahedral asam-oksi molibdenum.



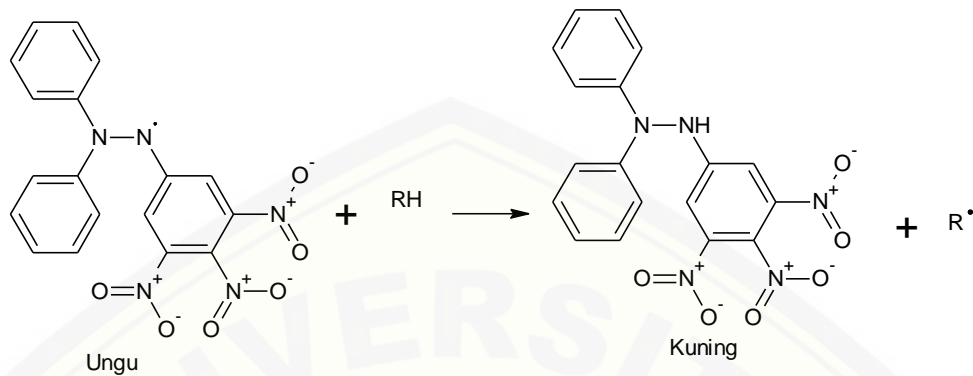
Gambar 2.6 Reaksi reagen folin ciocalteu dengan fenol (Singleton & Rossi, 1965)

Prinsip dari metode Folin-Ciocalteu adalah oksidasi gugus fenolik hidroksil. Pereaksi ini mengoksidasi fenolat (garam alkali), mereduksi asam heteropoli menjadi suatu kompleks molibdenum-tungsten (Mo-W). Fenolat hanya terdapat pada larutan basa, tetapi pereaksi Folin-Ciocalteu dan produknya tidak stabil pada kondisi basa. Gugus fenolik-hidroksil bereaksi dengan pereaksi Folin-Ciocalteu selama reaksi berlangsung, membentuk kompleks fosfotungstat-fosfomolibdat berwarna biru dengan struktur yang belum diketahui dan dapat dideteksi dengan spektrofotometer. Warna biru yang terbentuk akan semakin pekat setara dengan konsentrasi ion fenolat yang terbentuk, artinya semakin besar konsentrasi senyawa fenolik maka semakin banyak ion fenolat yang akan mereduksi asam heteropoli sehingga warna biru yang dihasilkan semakin pekat (Singleton dan Rossi, 1965).

2.8.2 Analisis Peredaman Radikal DPPH

Analisis peredaman radikal DPPH dianalisis secara spektrofotometri pada panjang gelombang maksimumnya. Panjang gelombang maksimum radikal DPPH dalam metanol adalah 515 nm (Soler-Rivas *et al.*, 2000). Analisis peredaman radikal DPPH didasarkan pada kemampuan senyawa fenolik mereduksi radikal buatan DPPH yang sifatnya lebih stabil daripada radikal alami. Senyawa antioksidan akan mereduksi radikal *2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl* (DPPH) menjadi *2,2-diphenyl-1-picrylhydrazine* (DPPH-H) yang berwarna kuning. Warna DPPH akan berubah menjadi kuning saat radikal DPPH berpasangan dengan atom

hidrogen dari antioksidan membentuk DPPH-H. Reaksi antara radikal DPPH dengan suatu antioksidan ditunjukkan pada Gambar 2.7 berikut.



Gambar 2.7 Reaksi radikal DPPH dengan antioksidan (Ciesla *et al.*, 2012)

Persamaan berikut dapat digunakan untuk menentukan persen peredaman radikal DPPH (Saeed *et al.*, 2012).

$$\text{Persen peredaman radikal} = \left[\frac{(A_0 - A_1)}{A_0} \right] \times 100\% \quad (\text{Persamaan 2.1})$$

Dimana A_0 adalah absorbansi kontrol dan A_1 adalah absorbansi sampel. Kontrol merupakan larutan yang tidak ditambahkan sampel (Hyun *et al.*, 2013).

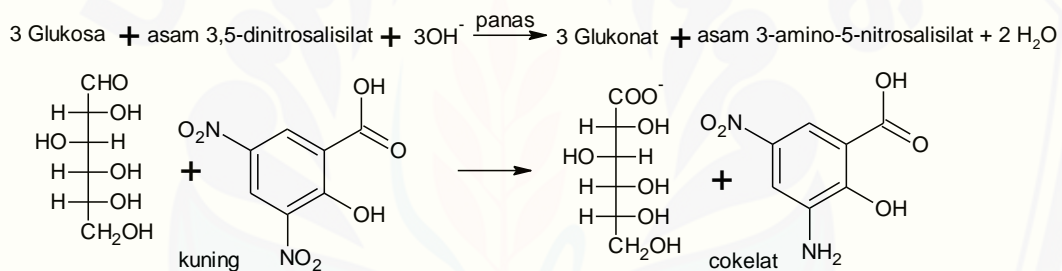
2.8.3 Analisis Penghambatan α -Amilase

Analisis penghambatan α -amilase didasarkan pada penurunan gula reduksi hasil reaksi hidrolisis pati terlarut oleh α -amilase dengan adanya senyawa inhibitor. Keberadaan senyawa inhibitor tertentu dapat menghambat aktivitas α -amilase. Hal ini menyebabkan substrat tidak dapat bereaksi dengan enzim sehingga produk tidak dapat terbentuk, sehingga terjadi penurunan absorbansi pada panjang gelombang maksimumnya. Semakin kecil absorbansi maka semakin besar persen penghambatannya, dan menandakan semakin baik potensinya sebagai inhibitor untuk α -amilase.

Pati terlarut akan dihidrolisis oleh α -amilase menjadi gula reduksi oligosakarida yang lebih pendek melalui pemutusan ikatan α -D-(1,4)-glikosida. Produk akhir reaksi hidrolisis pati terlarut oleh α -amilase yaitu masih campuran

oligosakarida seperti maltosa, maltotriosa, dan oligosakarida bercabang dengan 6-8 unit glukosa yang mengandung baik ikatan α -1,4 maupun α -1,6 (Sales *et al.*, 2012).

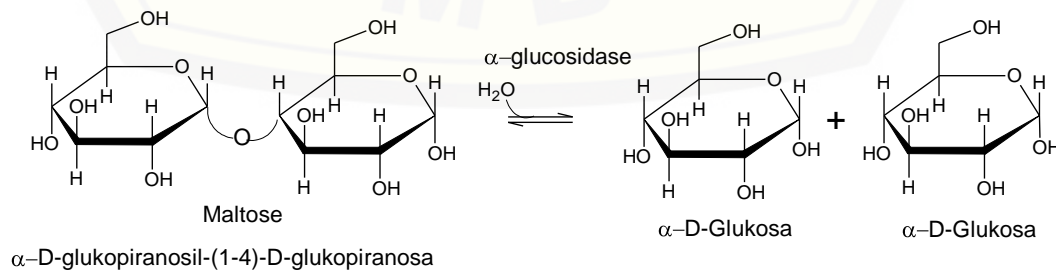
Pemanasan dapat menghentikan reaksi hidrolisis α -amilase. Pemanasan menyebabkan perubahan konfigurasi dari α -amilase sehingga aktivitasnya hilang. Konsentrasi produk hidrolisis setelah reaksinya dihentikan dapat ditentukan menggunakan reagen pewarna asam 3,5-dinitrosalisilat (DNS). Reagen DNS ini akan direduksi oleh setiap gula reduksi yang terdapat dalam larutan, sehingga produk campuran tersebut dapat ditentukan konsentrasinya. Senyawa asam 3-amino-5-nitrosalisilat yang dihasilkan dari reaksi tersebut akan memiliki warna oranye gelap dengan panjang gelombang maksimum 540 nm. Reaksi reduksi DNS oleh salah satu gula reduksi yaitu glukosa dapat dilihat pada Gambar 2.8.



Gambar 2.8 Reaksi reduksi DNS dengan gula pereduksi (Timerman, Tanpa Tahun)

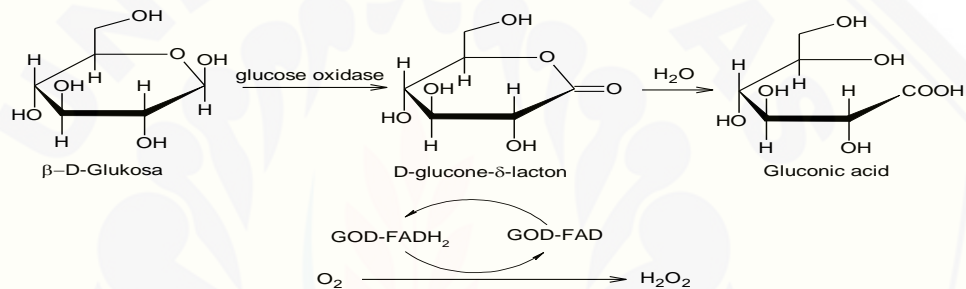
2.8.4 Analisis Penghambatan α -Glukosidase

Analisis penghambatan α -glukosidase dilakukan dengan reaksi enzimatik. Miyazawa *et al.* (2005), menggunakan maltosa sebagai substrat α -glukosidase. α -glukosidase akan menghidrolisis maltosa menjadi dua unit glukosa dapat dilihat pada Gambar 2.9.



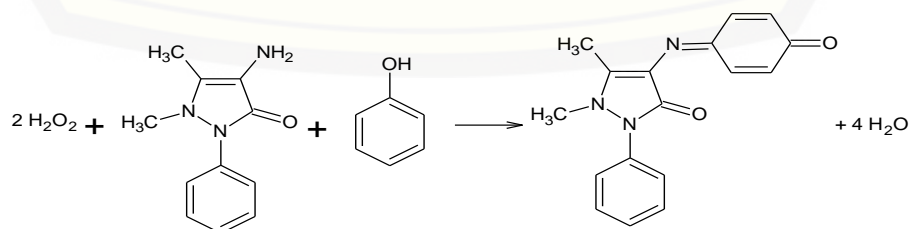
Gambar 2.9 Reaksi hidrolisis maltosa oleh α -glukosidase

Glukosa yang telah dilepaskan dari reaksi di atas dapat ditentukan konsentrasinya dengan metode spektrofotometri. Pertama, glukosa direaksikan dengan glukosa oksidase untuk menghasilkan asam glukonat dan hidrogen peroksida. Glukosa oksidase ini merupakan enzim yang mengkatalisis reaksi oksidasi dari β -D-glukosa dengan oksigen sebagai akseptor elektronnya. Hasil oksidasi ini adalah glukonolaktan, selanjutnya dihidrolisis menjadi asam glukonat. FAD yang merupakan kofaktor akan direduksi menjadi FADH_2 selama reaksi oksidasi glukosa berlangsung. Sisi katalitik dari glukosa oksidase dari *Penicillium amagasakiense* diketahui berupa Trp^{73} , Phe^{418} , Trp^{430} , Arg^{516} , Asn^{518} , His^{520} dan His^{563} (Bankar *et al.*, 2009). Reaksinya dapat dilihat pada Gambar 2.10.



Gambar 2.10 Reaksi oksidasi glukosa oleh glukosa oksidase (Bankar *et al.*, 2009)

Hidrogen peroksida yang dihasilkan dari reaksi diatas direaksikan dengan 4-aminoantipirin (AmNH_2), fenol (PhOH), dan *horseradish peroxidase* (HRP) untuk menghasilkan kompleks yang berwarna (Vinodu & Padmanabhan, 2001). Enzim ini memiliki residu katalitik His^{42} yang mengoksidasi substratnya. Produk dari reaksi ini menghasilkan *quinoneimine* yang berwarna merah muda dan memiliki panjang gelombang maksimum 500 nm. Reaksi oksidasi hidrogen peroksida oleh *horseradish peroxidase* dapat dilihat pada Gambar 2.11.



Gambar 2.11 Reaksi oksidasi hidrogen peroksida oleh *horseradish peroxidase* (Vinodu & Padmanabhan, 2001)

2.9 Spektrofotometri UV-Vis

Spektrofotometri UV-Vis adalah metode analisis berdasarkan interaksi antara radiasi elektromagnetik ultra violet dekat (190-380 nm) dan sinar tampak (380-780 nm) dengan memakai instrumen spektrofotometer dengan suatu materi (senyawa). Metode ini berdasarkan penyerapan sinar ultraviolet maupun sinar tampak yang menyebabkan terjadinya transisi elektron (perpindahan elektron dari tingkat energi yang rendah ke tingkat energi yang lebih tinggi) (Hendayana, 1994)

Pengukuran spektrofotometri menggunakan alat spektrofotometer yang melibatkan energi elektronik yang cukup besar pada molekul yang dianalisis, sehingga spektrofotometer UV-Vis lebih banyak dipakai untuk analisis kuantitatif dibandingkan kualitatif. Spektrum UV-Vis sangat berguna untuk pengukuran secara kuantitatif. Konsentrasi dari analit di dalam larutan bisa ditentukan dengan mengukur absorbansi pada panjang gelombang tertentu dengan menggunakan hukum Lambert-Beer. Adapun persamaan Lambert-Beer adalah sebagai berikut:

$$A = \epsilon bC \quad (\text{Persamaan 2.2})$$

Dimana A adalah absorbansi analit, ϵ adalah absorptivitas molar, b adalah ketebalan kuvet, dan C adalah konsentrasi dalam molaritas (Gandjar & Rohman, 2007).

BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan April 2017 sampai Juli 2017 di CDAST (*Central for Development Advanced Sciences and Technology*) Universitas Jember.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

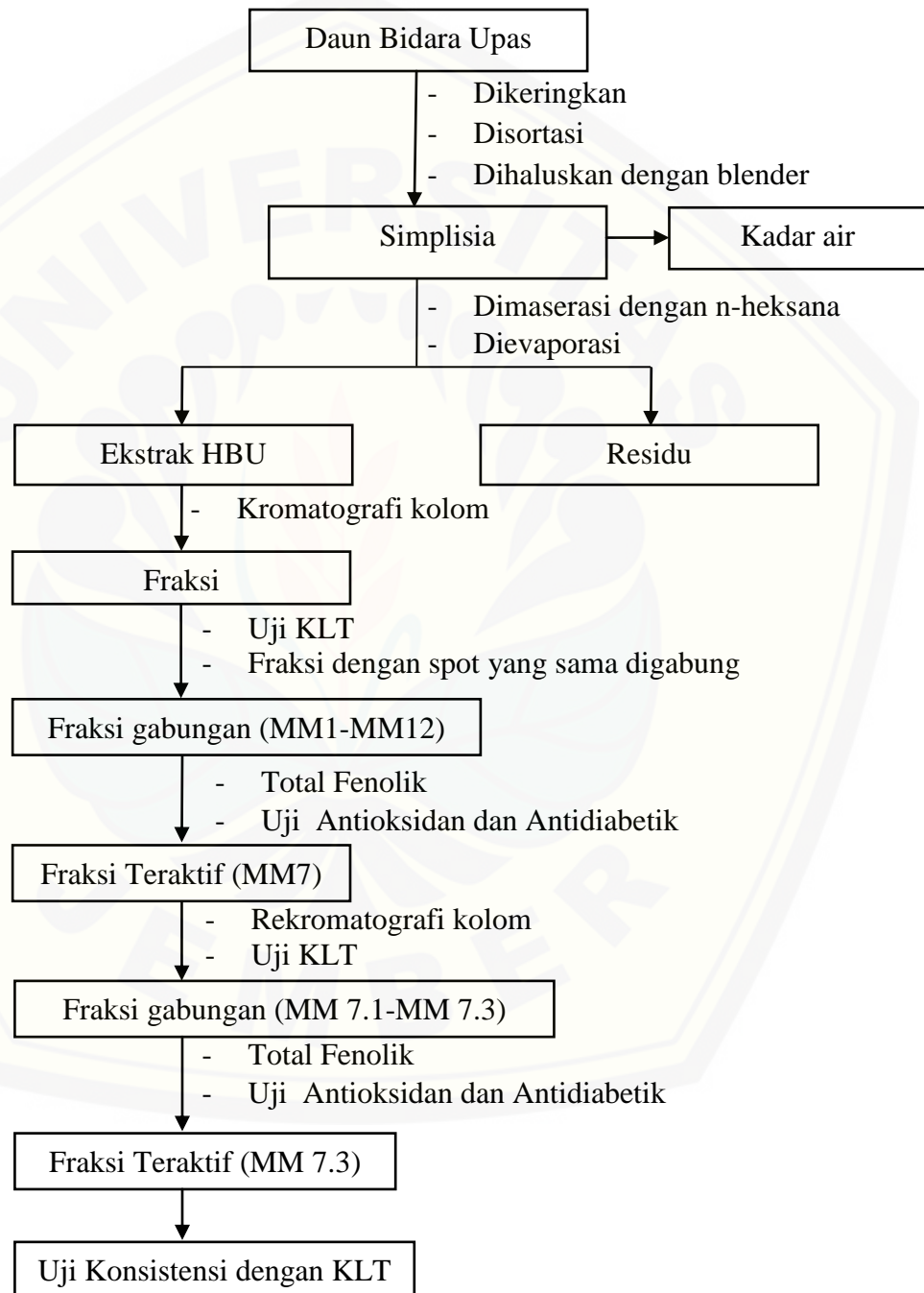
Peralatan yang digunakan dalam penelitian digolongkan menjadi peralatan gelas, instrumen, dan peralatan bukan gelas. Peralatan gelas meliputi erlenmeyer 1000 mL, gelas beaker, gelas ukur 50, 100, dan 250 mL, tabung reaksi, pipet tetes, pipet mohr, *96-well plates*, labu ukur 5, 10, dan 100 mL, dan kolom kromatografi diameter 2 cm; 1,4 cm dan tinggi 50 cm. Peralatan instrument meliputi blender, timbangan analitik, *vacuum evaporator*, *refrigator*, corong Buchner, pipet mikro, inkubator, lemari asam, satu set alat spektrofotometer UV-Vis, *microplate readers*, *shaker*, dan sentrifugator. Peralatan bukan gelas antara lain spatula, mistar, gunting, ayakan, plastik sampel, *ball pipet*, pinset, kertas label, kertas saring, aluminium foil, *eppendorf*, dan lempeng silika gel F₂₅₄.

3.2.2 Bahan

Daun Bidara upas (*Merremia mammosa* (Lour.) Hall. F.)); silika gel 60 G F₂₅₄ (45-75 μ m) (Wako); n-heksana teknis (Merck); etil asetat teknis (Merck); (Merck); diklorometana teknis (Merck); diklorometana pa (Merck); n-heksana pa (Merck); etil asetat pa (Merck); H₂SO₄ pa (Merck); ammonium molibdate (Merck); aquades; *1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazil* (DPPH) (nacalai tasque); metanol pa (Merck); vitamin C (nacalai tasque); DMSO (Merck); Na₂HPO₄ (nacalai tasque); fenol (Sigma-Aldrich); Natrium klorida (Merck); Kalium natrium tartat (Merck); Natrium hidroksida (Merck); Natrium sulfit (Merck); *Soluble starch* (Merck); 3,5-dinitrosalicylic acid (Merck); α -amilase (Sigma-Aldrich); kalium hidrogen fosfat (Merck); triton x-100 (Sigma-Aldrich); maltosa

(Merck); peroxidase (Sigma-Aldrich); α -glukosidase (Sigma-Aldrich); *glucose oxidase* (Sigma-Aldrich); 4-aminoaniphrine (Sigma-Aldrich); dan akarbosa (Glucobay).

3.3 Diagram Alir Penelitian



3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Pembuatan Simplisia Daun Bidara Upas

Sampel daun bidara upas yang diambil dari Taman Nasional Meru Betiri dan telah divalidasi oleh petugas dikeringkan selama 10 hari pada suhu ruang. Sampel daun yang telah kering disortir berdasarkan bentuk dan warnanya. Daun yang dipilih hanya daun yang utuh dan tidak berlubang. Daun yang telah dipilih dipotong kecil-kecil kemudian dihaluskan dengan blender. Hasil tersebut kemudian diseragamkan dengan ayakan 60 mesh yang mampu meloloskan partikel yang diameternya kurang dari 0.250 mm sehingga dihasilkan simplisia (serbuk) (Wongkar *et al.*, 2015).

3.4.2 Penentuan Kadar Air

Sampel ditimbang sebanyak ± 1 gram diletakkan pada wadah yang telah diketahui massanya. Kemudian dikeringkan dalam oven dengan suhu 105° C selama 3-5 jam. Sampel selanjutnya didinginkan dalam desikator selama 30 menit lalu ditimbang. Perlakuan ini dilakukan beberapa kali sampai diperoleh berat yang konstan. Kadar air dihitung menggunakan persamaan:

$$\% \text{ Kadar air} = \frac{\text{berat awal} - \text{berat akhir}}{\text{berat awal}} \times 100 \% \quad (\text{Persamaan 3.1})$$

(Sudarmadji *et al.*, 1989).

3.4.3 Ekstraksi dari Simplisia Daun Bidara Upas

Simplisia basah diambil sebanyak 250 gram dan ditambahkan sebanyak 750 mL pelarut n-heksana dalam erlenmeyer 1000 mL kemudian *dishaker* dengan kecepatan 150 rotasi per menit (rpm) selama 2x24 jam pada suhu ruang, setiap 1x24 jam ekstrak disaring menggunakan corong *buchner* dan diperoleh filtrat dan residu. Residu diekstraksi dengan menggunakan pelarut n-heksana baru. Filtrat dievaporasi dengan *rotary evaporator* pada suhu 40° C sehingga diperoleh ekstrak kental heksana daun bidara upas (HBU). Ekstrak disimpan dalam pendingin untuk analisis selanjutnya.

3.4.4 Isolasi dan Pemurnian Senyawa

Isolasi senyawa dilakukan dengan menggunakan kromatografi kolom. Kolom kromatografi yang digunakan memiliki diameter 2 cm dan tinggi 50 cm. Kolom ditegakkan dengan statif kemudian sejumlah kapas dimasukkan ke dalam bagian paling bawah dari kolom, tidak terlalu padat dan longgar lalu ditambah dengan sejumlah pasir di atasnya. Dibuat bubuk silika gel sebanyak 90 cm³. Silika gel yang telah basah atau sudah menjadi bubuk dimasukkan ke dalam kolom dengan hati-hati, kemudian diketok agar diperoleh susunan yang rata di dalam kolom.

Preparasi sampel dilakukan dengan mencampur 2 gram ekstrak HBU dilarutkan dalam 3 mL n-heksana untuk melarutkan sampel dan 0.5 mL diklorometana untuk menambah kelarutan sampel terhadap silika, kemudian ditambahkan silika gel 60 G F₂₅₄ untuk menambah kelarutan terhadap pelarut sambil terus diaduk sampai terbentuk *powder*. Sampel kemudian dituang ke dalam kolom yang sudah berisi bubuk silika gel dan ditambahkan sedikit pasir secukupnya. Setelah kolom siap eluen dilewatkan secara gradien ke dalam kolom. Elusi dilakukan secara gradient dimulai dari eluen non polar 1) heksana, 2) heksana-diklorometana, 3) diklorometana, 4) diklorometana-etil asetat, 5) etil asetat dan pergantian eluen dilakukan setiap 75 mL dengan menambah konsentrasinya per 20 %. Tetesan kolom ditampung dalam tabung reaksi per 15 mL sampel dan diberi nomor. Hasil kromatografi kolom akan diperoleh beberapa fraksi yang mana masing-masing fraksi akan diidentifikasi dengan kromatografi lapis tipis (KLT), kemudian diletakkan di dalam lemari asam untuk menguapkan pelarutnya.

3.4.5 Identifikasi dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

KLT dilakukan untuk melihat pola kromatogram komponen senyawa yang terkandung dalam fraksi. Setiap fraksi hasil kromatografi kolom di KLT. Plat silika gel dibuat dengan ukuran lebar 4 cm, panjang 5 cm dan diberi garis batas awal dan batas akhir elusi yaitu 0,5 cm. Jarak antar titik penotolan pada plat

adalah 0,75 cm. Fraksi yang akan diuji ditotolkan pada garis awal elusi lalu dikeringkan dengan *heat gun* dan setelah totolan mengering, lempengan dimasukkan ke dalam *chamber* yang sudah dijenuhkan oleh fase geraknya dan tertutup berisi pelarut pengembang. Fase geraknya yaitu digradien sesuai dengan eluen yang digunakan pada kromatografi kolom. Fase gerak dibiarkan mengelusi sampel sampai 4 cm dari titik awal penotolan. Setelah eluen mencapai garis akhir elusi, lempengan dikeluarkan dan dikeringkan.

Bercak yang dihasilkan diamati di bawah lampu UV pada panjang gelombang 254 nm dan untuk menampakkan bercak yang tidak berwarna dapat diamati dengan menggunakan reagen *molybdate* dimana reagen ini di disemprotkan ke lempengan lalu dikeringkan. Reagen *molybdate* ini digunakan untuk visualisasi plat, fraksi yang memiliki pola spot dan nilai Rf yang sama pada uji KLT digabungkan dalam satu tabung.

3.4.6 Analisa Total Fenolik

Analisa total fenolik mengikuti metode Taga *et al.* (1984) dengan menggunakan standar dari asam galat. Fraksi sebanyak 50 μL dimasukkan dalam tabung reaksi yang berbeda. Setiap tabung reaksi ditambahkan 1 mL Na_2CO_3 2% (*w/v*) lalu diinkubasi selama 2 menit. Setelah diinkubasi ditambahkan 50 μL reagen Folin-Ciocalteu 50% (*v/v*) dan diinkubasi kembali selama 30 menit. Larutan diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 750 nm. Total fenolik dari fraksi tersebut ditentukan dalam mg asam galat *equivalent* (AGE) per gram dengan menggunakan hasil persamaan dari kurva standar asam galat.

3.4.7 Analisis Peredaman Radikal DPPH oleh Fraksi Heksana Daun Bidara upas

Analisis peredaman radikal DPPH mengacu pada metode yang dikemukakan Soler-Rivas *et al.* (2000). Sebanyak 200 μL fraksi dimasukkan ke dalam 96-*well plates*. Setelah itu, ditambahkan 100 μL reagen DPPH 90 μM (dalam metanol) dan diinkubasi selama 30 menit. Absorbansi masing-masing larutan diukur dengan *Microplate reader* pada panjang gelombang 515 nm setelah 30 menit

inkubasi. Persen peredaman radikal DPPH pada masing-masing konsentrasi fraksi dihitung menggunakan persamaan berikut:

$$\text{Persen peredaman} = \left[\frac{A_0 - A_1}{A_0} \right] \times 100\% \quad (\text{Persamaan 3.2})$$

A_0 adalah absorbansi kontrol dan A_1 adalah absorbansi fraksi. Kontrol adalah larutan uji tanpa sampel. Standar yang digunakan adalah vitamin C.

3.4.8 Analisis Inhibisi α -Amilase oleh Fraksi Heksana Daun Bidara Upas

Analisis penghambatan α -amilase dilakukan berdasarkan metode Hashim *et al.* (2013) yang dimodifikasi. Sebanyak 100 μL fraksi dimasukkan ke dalam dua *ependorf* yang diberi label S^+ dan S^- . Sebagai kontrol, 100 μL larutan DMSO juga dimasukkan ke dalam dua *ependorf* yang diberi label C^+ dan C^- . Sebagai standar 100 μL akarbosa dimasukkan ke dalam dua *ependorf* yang diberi label A^+ dan A^- . *Eppendorf* yang berlabel S^+ , C^+ , dan A^+ ditambahkan 150 μL α -amilase (0,1 u/mL) sedangkan yang berlabel S^- , C^- , dan A^- ditambahkan 150 μL buffer fosfat pH 6,9. Larutan di preinkubasi selama 15 menit pada 37°C setelah dihomogenkan. Setelah itu, ditambahkan 250 μL *soluble starch* 1% (w/v) ke dalam semua *ependorf*. Larutan diinkubasi selama 15 menit pada 37°C setelah dihomogenkan. Reaksi hidrolisis dihentikan dengan mendidihkan selama 1 menit. Setelah dingin, larutan diambil sebanyak 160 μL dari masing-masing *ependorf* kemudian dimasukkan ke *ependorf* lain dengan label yang sama. Sebanyak 80 μL reagen DNS ditambahkan ke dalam tiap-tiap *ependorf* lalu dididihkan selama 15 menit untuk menentukan total gula reduksinya. Setelah itu diencerkan dengan 720 μL akuades dan dipipet 200 μL ke dalam *96-well plates* untuk diukur absorbansinya menggunakan *microplate reader* pada panjang gelombang 540 nm. Persen penghambatan α -amilase pada masing-masing fraksi dihitung dengan persamaan berikut:

$$\text{Persen inhibisi} = \left(\frac{(C^+ - C^-) - (S^+ - S^-)}{(C^+ - C^-)} \right) \times 100\% \quad (\text{Persamaan 3.3})$$

Dimana C^+ adalah kontrol sampel dengan enzim dan C^- adalah kontrol sampel tanpa enzim, sedangkan S^+ adalah sampel dengan enzim dan S^- adalah sampel tanpa enzim. Standar yang digunakan adalah Akarbosa.

3.4.9 Analisis Inhibisi α -Glukosidase oleh Fraksi Heksana Daun Bidara Upas

Analisis penghambatan α -glukosidase dilakukan dengan mengacu pada metode yang dikemukakan Miyazawa *et al.* (2005) yang dimodifikasi. Sebanyak 100 μ L maltosa 0,125 M dimasukkan ke dalam *eppendorf* yang berlabel C^+ , C^- , S^+ , S^- , A^+ , dan A^- . Sebanyak 100 μ L fraksi dimasukkan ke dalam *eppendorf* S^+ dan S^- , sedangkan C^+ dan C^- ditambahkan dengan 100 μ L larutan DMSO, dan A^+ dan A^- ditambahkan dengan 100 μ L Akarbosa. Setelah itu, 190 μ L buffer fosfat pH 7 ditambahkan ke dalam setiap *eppendorf*. Campuran dihomogenkan lalu ditambahkan 10 μ L α -glukosidase (1 u/mL) ke dalam *eppendorf* C^+ , S^+ , dan A^+ sedangkan C^- , S^- , dan A^- ditambahkan akuabides. Campuran diinkubasi pada suhu 37 °C selama 1 jam setelah dihomogenkan. Reaksi dihentikan dengan mendidihkannya selama 3 menit. Setelah dingin, Larutan diambil 235 μ L dari masing-masing *eppendorf* untuk dimasukkan ke *eppendorf* lain dengan label yang sama setelah dicosmosil. Sebanyak 750 μ L buffer fenol pH 7 ditambahkan ke dalam setiap *eppendorf*, dilanjutkan dengan penambahan 5 μ L peroksidase (0,5 unit/ μ L), 5 μ L aminoantipirin (4 mg/mL), dan 5 μ L glukosa oksidase (0,8 unit/ μ L). Larutan dihomogenkan dan diinkubasi lagi selama 10 menit pada suhu 37 °C. Hasil inkubasi dipipet 200 μ L dan dimasukkan ke dalam 96-well plates untuk diukur absorbansinya pada 500 nm dengan *microplate reader*. Persen penghambatan α -glukosidase pada masing-masing fraksi dihitung dengan persamaan 3.3.

3.4.10 Rekromatografi

Fraksi yang memiliki aktivitas tertinggi sebagai antioksidan dan antidiabetik, tapi masih memiliki pola spot yang banyak pada plat KLT dilakukan rekromatografi kolom. Fraksi ditimbang sebanyak 100 mg. Disiapkan kolom kromatografi dengan diameter 1,4 cm dan tinggi 50 cm. kolom kemudian diisi

dengan kapas pada bagian paling bawah, kemudian ditambahkan pasir di atasnya. Dibuat bubur silika gel untuk mengisi kolom setinggi 25 cm. Preparasi sampel dilakukan dengan mencampurkan 100 mg fraksi dalam n-heksana sebanyak 3 mL dan diklorometana sebanyak 0,5 mL kemudian ditambahkan silika gel 60 G F₂₅₄ sambil terus diaduk sampai berbentuk *powder*. Eluen dilewatkan secara gradient ke dalam kolom, dimulai dari eluen diklorometana 70% dalam n-heksana sampai ke eluen etil asetat 5% dalam diklorometana dan pergantian eluen dilakukan setiap 50 mL dengan menambah konsentrasinya per 5%. Tetesan kolom ditampung dalam tabung reaksi per 2 ml sampel dan diberi nomor. Hasil kromatografi kolom akan diperoleh beberapa fraksi yang mana masing-masing fraksi akan diidentifikasi dengan kromatografi lapis tipis (KLT). Fraksi-fraksi yang mempunyai spot dan nilai R_f yang sama pada uji KLT digabungkan menjadi satu fraksi, kemudian diletakkan di dalam lemari asam untuk menguapkan pelarutnya. Lalu diuji total fenolik, aktivitas antioksidan dan antidiabetiknya.

3.4.11 Uji konsistensi dengan KLT

Fraksi paling aktif dari hasil rekromatografi dikarakterisasi dengan KLT. Disiapkan plat dengan ukuran 5 x 2 cm sebanyak 3 plat, ditotolkan fraksi teraktif pada plat sebanyak 3 totalan. Masing-masing plat dielusi menggunakan 3 pelarut yang berbeda yakni metanol:diklorometana: n-heksana (2:1:7); diklorometana:n-heksana (1:1); etil asetat:metanol:n-heksana (1:1:8). Plat dimasukkan ke dalam chamber yang telah diisi eluen, dilewatkan sampai tanda batas, kemudian dikeringkan pelarutnya dan divisualisasikan menggunakan lampu UV. R_f dihitung menggunakan persamaan:

$$R_f = \left(\frac{\text{Jarak yang ditempuh sampel (J_s)}}{\text{Jarak yang ditempuh pelarut (J_p)}} \right) \dots\dots\dots \text{(Persaman 3.4)}$$

BAB 5. PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Ekstrak n-heksana daun Bidara upas (*Merremia mammosa* (Lour.) Hallier f.) yang telah dimurnikan dengan cara kromatografi kolom dan menghasilkan fraksi teraktif yang memiliki aktivitas tertinggi sebagai antioksidan dan antidiabetik. Fraksi teraktif dari proses kromatografi kolom yaitu fraksi MM 7.3.

1. Aktivitas antioksidan (peredaman radikal DPPH) dari fraksi MM 7.3 cukup tinggi dibandingkan dengan standar vitamin C maupun fraksi lainnya. Semakin tinggi persen peredaman maka dianggap semakin tinggi aktivitas antioksidan. Fraksi MM 7.3 memiliki nilai persen peredaman radikal DPPH yaitu sebesar 94.02 % lebih besar dibandingkan standar vitamin C yaitu 67.81%.
2. Aktivitas antidiabetik (penghambatan α -amilase dan α -glukosidase) dari fraksi MM 7.3 cukup tinggi dibandingkan dengan standar akarbosa maupun fraksi lainnya. Semakin tinggi persen penghambatan maka dianggap semakin tinggi aktivitas antidiabetik. Fraksi MM 7.3 memiliki nilai persen penghambatan α -amilase dan α -glukosidase sebesar 90.03 % dan 90.11 % yang mana nilai ini lebih besar dibandingkan standar akarbosa yaitu sebesar 88.79 % dan 86.81%.

5.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap karakteristik fraksi MM 7.3 untuk mengetahui struktur senyawa aktif yang terkandung di dalam fraksi tersebut.

DAFTAR PUSTAKA

- Adnyana, I.W.L & Sutanegara, I.N.D. 2004. Obesitas dan Resistensi Insulin. *Majalah Penyakit Dalam Udayana*. 5 (3): 235-245.
- Agil, M., Purwitasari, N., Sugianto, N.E., Widyowati, R. 2010. Uji Daya Hambat Mycobacterium tuberculosis dari Umbi Bidara Upas (*Merremia mammosa Hall*). *Skripsi*. Surabaya: Universitas Airlangga.
- American Diabetes Association. 2005. *Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus*. Diabetes Care.
- Ames, B. N., Shigenaga, M. K., Hagen, T. M. 1993. Oxidants, antioxidants, and the generative diseases of aging. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 90: 7915-7922.
- Aniq, L., Yuliawati, K.M., dan Sadiyah, E.R. 2014. *Telaah Fitokimia Daun Bidara Upas (Merremia mammosa (Lour.) Hallier f.)*. Bandung: Universitas Islam Bandung.
- Aslan, M.D., Orhan, D., Orhan, N., Sezik, E., dan Yesilada, E. 2007. A Study of Antidiabetic and Antioxidant Effects of *Helichrysum graveolens capitulum* in Streptozotocin-induced Diabetic Rats. *Journal of Medicinal Food*. 10 (2): 396-400.
- Atun, S. 2014. Metode Isolasi dan Identifikasi Struktur Senyawa Organik Bahan Alam. *Jurnal Konservasi Cagar Budaya Borobudur*. 8 (2): 53-61.
- Bankar, S. B., Blue, M. V., Singhal, R. S., & Ananthanarayan, L. 2009. Glucose oxidase-An overview. *Biotechnology Advances*. 27: 489-501.
- Bidkar A.A, A.P. Sherje, K.N. Gujar, U.S. Bagul, P.B. Miniyar, S.A. Aphale. 2009. Phytochemical and pharmacological investigation of extracts of *Merremia tridentata* Linn. (Convolvulaceae). Sinhgad Institute of Pharmacy, Narhe, Pune-411 041 (M.S). *Journal of Natural Remedies*. 9: 79-84.
- Bott, R. 2014. Column Chromatography. *Igarss 2014*. (1): 1-5.
- Bösenberg, L.H. 2008. The Mechanism of Action of oral Antidiabetic Drugs : a Review of Recent Literature. *The Journal of Endocrinology, Metabolism and Diabetes f South Africa*. 13(3): 80-88.
- Burrant, CF. 2006. Medical Management of Diabetes 5th Ed. Alexandria, VA, American Diabetes Association. *Journal of Diabetes*. 5: 87-93.

- Cairns, D. 2003. *Essential of Pharmaceutical Chemistry*. Terjemahan oleh Puspita, R.M. 2008. *Intisari Kimia Farmasi*. Edisi II. Jakarta: EGC.
- Champe, P.C., Harvey, R.A. & Ferrier D.R. 2005. *Lippincott's Illustrated reviews: Biochemistry*. New York: Lippincott Williams & Wilkins.
- Ciesla, L., Karyszen, J., Stochmal, A., Oleszek, W., & Waksmundzka-Hajnos, M. 2012. Approach to develop a standardized TLC-DPPH• test for assessing free radical scavenging properties of selected phenolic compounds. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 70: 126-135.
- Depkes RI. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI.
- Departemen Kesehatan RI. 2005. *Pharmaceutical Care untuk Penyakit Diabetes Mellitus*. Jakarta: Direktorat Bina Farmasi Komunitas dan Klinik Depkes RI.
- Deshpande, A.D., Harris-Hayes, M., Schootman, M. 2008. Epidemiology of diabetes-related complications. *Physical Therapy*. 88: 1254-1264.
- Fessenden, R.J dan Fessenden, J.S. 1986. *Kimia Organik*. Edisi Ketiga. Terjemahan oleh A.H. Pudjaatmaka. Jakarta: Erlangga.
- Gandjar, I.G & Rohman, A. 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar Yogyakarta, 353-355.
- Harborne, J.B. 1987. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Terjemahan oleh Kosasih Padmawinata. Bandung: ITB.
- Harborne, J.B. 1996. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Terbitan Kedua. Terjemahan oleh Kosasih Padmawinata. Bandung: ITB.
- Hashim, A., Khan, M. S., Khan, M. S., Baig, M. H., & Ahmad, S. 2013. Antioxidant and α -Amylase Inhibitory Property of *Phyllanthus virgatus* L.: An *In Vitro* and Molecular Interaction Study. *BioMed Research International*. 2013.
- Hattapaki, B.C., Hukkeri, V., Patil, D.N., & Chavan M.J. 2004. Wound Healing Activity of Aerial Parts of *Merremia tridentata*. *Indian Drugs*. 41: 532.
- Hendayana, S. 1994. *Kimia Analitik Instrumen*. Semarang: IKIP Semarang.

- Houghton, P.J & Raman. 1998. *Laboratory Handbook for The Fractination of Natural Extract*. London: Chapman and Hall.
- Hyun, T. K., Kim, M. O., Lee, H., Kim, Y., Kim, E., & Kim, J. S. 2013. Evaluation of anti-oxidant and anti-cancer properties of *Dendropanax morbifera* Léveille. *Food Chem.* 141: 1947–1955.
- Juge, N & Svensson, B. 2006. Review Proteinaceous Inhibitor of Carbohydrate Active Enzymes in Cereals: Implication in Agriculture, Cereal Processing and Nutrition. *Journal Science Food Agriculture.* 86 (11): 1573-1586.
- Langseth, L. 1995. *Oxidants, Antioxidants and Disease Prevention*. Belgium: ILSI Europe.
- Lasmadiwati dan Setyowati, R. 2003. *Bidara Upas*. Edisi 1. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Lee S.K., Hwang, J.Y., Song, J.H., Jo, J.R., Kim, M.J., Kim, M.E., and Kim, J.I. 2007. *Inhibitory Activity of Euonymus alatus Against alpha-glucosidase In vitro and In vivo*. *Nutrition Research and Practice.* 1(3) : 184-188.
- Malviya, N., Jain, S., and Malviya, S. 2010. Antidiabetic Potential of Medicinal Plant. *Acta Poloniae Pharmaceutica-Drug Research.* 67 (2):113-118.
- Matsumoto, K., Takemata, K., Takayama, K., Abesundara, K.J.M., Matsui, T., & Katayama, H. 2002. A Novel Method for he Assay of α -glucosidase Inhibitory Activity Using a Multi-channel Oxygen Sensor. *J. Analytical Sci.* 18: 1315-1319.
- Meloan, C. E. 1999. *Chemical Separations: Principles, Techniques and Experiments*. New York: Jhon Willey and Sons, Inc.
- Miyazawa, M., Yagi, N., & Taguchi, K. 2005. Inhibitory Compounds of α -Glucosidase Activity from *Arctium lappa* L. *J. Oleo Sci.* 54 (11): 589-594.
- Moller P, Wallin H, Knudsen LE. 1996. Oxidative stress associated with exercise, psychological stress and lifestyle factors. *Chem Biol Intercat.* 120:17-36.
- Murray, R. K., Granner, D. K., Mayes, P.A., & Rodwell, V.W. 2003. *Harper's Illustrated Biochemistry*. Twenty-sixth Edition. New York: McGraw-Hill.
- Nadheesha, M. K. F., Bamunuarachichi, A., Edirisinghe, E. M. R. K. B. M., & Weerasinghe W. M. S. K. 2007. Studies on Antioxidant Activity of Indian Gooseberry Fruit and Seed. *J. Sci.* 3: 83-92.


- Nakamura, S., Takahira, K., Tanabe, G., Muraoka, O., & Nakanishi, I. 2012. Homology Modeling of Human Alpha-Glucosidase Catalytic Domains and SAR Study of Salacinol Derivatives. *Open Journal of Medicinal Chemistry*. 2: 50-60.
- Nelson, D. L & Cox, M. M. 2004. *Principles of Biochemistry*. Fourth Edition. New York: W. H. Publisher.
- Ngwe, H., Kyin, S., & Nyo, H. H. 2011. Chemical Analysis and α -Glucosidase Inhibitory Effect of Bizat Leaves (*Eupatorium odoratum* L.). *Universitas Research Journal*. 4(3): 1-11.
- Padmawinata, K. dan I. Soediro. 1996. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Cetakan Kedua. Bandung: Penerbit ITB.
- Peng, Sheng, Liu, Tong, dan Liu. 2004. Comparison of Different Extraction Methods: Steam Distillation, Simultaneous Distillation and Extraction and headspace Co-distillation, Used For Analysis of the Volatile Components in Aged Flue Cured Tobacco Leaves. *J Chromatogram*. 1040(1) : 1-17.
- Plantamor, Plant Database. 2012. Bidara upas (*Merremia mammosa*). <http://www.plantamor.com/index.php?plant=840>. [Diakses pada 29 Mei 2016].
- Rayner, C. M & Raynel, G. R. J. F. 2011. *Process for the capture of carbon dioxide*. <http://www.google.com/patents/WO2011135378A1?cl=en> [25 mei 2017].
- Redaksi Agromedia. 2008. *Buku Pintar Tanaman Obat : 431 Jenis Tanaman Penggempur Penyakit*. Jakarta: Agromedia Pustaka.
- Riyani, S.W. 2013. *Modul Kimia Organik Bahan Alam*. Bengkulu: Universitas Bengkulu.
- Saeed, N., Khan, M. R., and Shabbir, M. 2012. Antioxidant Activity, Total Phenolic and Total Flavonoid Contents of Whole Plants Extracts *Torilis leptophylla* L. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 12 (221): 1-12.
- Sales, P. M. D., Souza, P. M. D., Simeoni, L. A., Magalhaes, P. D. O., & Silveria, D. 2012. α -Amylase Inhibitors: A Review of Raw Material and Isolated Compounds from Plant Source. *J Pharm Pharmaceut Sci*. 15 (1): 141-183.
- Sarker, S. D & Nahar, L. 2007. *Chemistry for Pharmacy Students: General, Organic and Natural Product Chemistry*. England: John Willey & Sons Ltd.

- Sastrohamidjojo, H. 2002. *Kromatografi*. Yogyakarta: Liberty.
- Selawa, W., Runtuwene, M.R.J., Citraningtyas, G. 2013. Kandungan Flavonoid dan Kapasitas Antioksidan Total Ekstrak Etanol daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten) Steenis). *Jurnal Ilmiah Farmasi Pharmacon*. 2 (1).
- Setiana, A.H.A., Rasyid, N., Fitriani, N. Nurfan., & R Kristian. 2011. *Pembentukan Senyawa Alkaloid dan Terpenoid*. Sukabumi: Universitas Muhammadiyah Sukabumi.
- Singleton, V.L and Rossi, J.A. 1965. Colorimetry of Total Phenolic with Phosphomolybdc-Phosphotungstic Acid Reagent. *American Journal of Enology and Viticulture*. 16: 147-158.
- Soler-Rivas, C., Espín, J. C., & Wichers, H. J. 2000. An easy and fast test to compare total free radical scavenger capacity of food stuffs. *Phytochem. Anal.* 11: 330–338.
- Stahl, E. 1969. *Thin-Layer Chromatography: A Laboratory Handbook*. Second Edition. Berlin: Springer-Verlag.
- Stahl, E. 1985. *Analisis Obat Secara Kromatografi dan Mikroskopi*. Terjemahan oleh Kosasih Padmawinata. Bandung: ITB.
- Suarsana, N., Prioseryanto, BP., Bintang, M., Wresdiyati, T. 2008. Aktivitas Daya Hambat Enzim α -Glukosidase dan Efek Hipoglikemik Ekstrak Tempe Pada Tikus Diabetes. *Jurnal Veteriner*. 9 (3):122-127.
- Sudarmadji, S., Haryono, B., dan Suhardi. 1989. *Prosedur Analisis untuk Bahan Makanan dan Pertanian*. Yogyakarta: Liberty.
- Swamy, N., Prashanth, K. N., & Basavaish, K. 2014. Redox-Reaction Based Spectrophotometric Assay of Isoniazid in Pharmaceuticals. *ISRN Analytical Chemistry*.
- Taga, M. S., Miller, E. E., and Prat, D. E. 1984. Chia seeds as a source of nature lipid antioxidants. *J. Am. Oil. Chem. Soc.* 61: 928-931.
- Timerman, A. P. Tanpa Tahun. *The Isolation of Invertase from Baker's Yeast – An Introduction to Protein Purification Strategies*. USA: University of Wisconsin-Stevens Point.
- Utami, P & Mardiana, L. 2013. *Umbi Ajaib Tumpas Penyakit*. Jakarta: Penebar Swadaya.

- Vinodu, M.V & Padmanabhan, M. 2001. Peroxide-like catalytic activities of ionic metalloporphyrins supported on functionalized polystyrene surface. *Proc. Indian Acad. Sci. (Chem. Sci.)*. 113(1): 1-9.
- Wade, L. G. 2006. *Organic Chemistry*. Sixth Edition. United States of America: Pearson Prentice Hall.
- Wahyudi, L.D. 2015. Potensi Ekstrak Fenolik Tanaman Obat Taman Nasional Meru Betiri: Bidara Upas (*Merremia mammosa*) dan Kayu Kuning (*Arcangelisia flava*) Sebagai Antidiabetik dan Antioksidan. *Skripsi*. Jember: Universitas Jember.
- Winarno, F.G. 1989. *Kimia Pangan dan Gizi*. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.
- Winarsi, H. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas Potensi dan Aplikasinya dalam Kesehatan*. Yogyakarta: Kanisius.
- Wongkar, J.H., Max, R.J.R., and Jemmy, A. 2015. Uji Toksisitas Ekstrak Daun Benalu Langsung dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) LC50. *Jurnal MIPA UNSRAT Online*. 4 (2): 157-160.
- Wu, C., Shen, J., He, P., Chen, Y., Li, L., Zhang, L., Li, Ye., Fu, Y., Dai, R., Meng, W., and Deng, Y. 2012. The alpha-glucosidase Inhibiting Isoflavones Isolated from *Belamcanda Chinensis* Leaf Extract. *Records of Natural Products*. 6 (2): 110-120.
- Wuryastuti, H. 2000. *Stres Oksidatif dan Implikasinya Terhadap Kesehatan*. Pidato Pengukuhan Guru Besar UGM, Yogyakarta.
- Youngson, R. 2005. *Antioksidan: Manfaat Vitamin C & E Bagi Kesehatan*. Jakarta: Arcan.

LAMPIRAN

LAMPIRAN 4.1 Validasi Tanaman Bidara upas



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

BERITA ACARA PEMERIKSAAN PENGAMBILAN SAMPEL TUMBUHAN
 Nomor : BA. /BTNMB-1/2017

-----Pada hari ini Kamis, tanggal Dua bulan Maret tahun Dua ribu Tujuh Belas, berdasarkan SIMAKSI Nomor : SI.2996/BTNMB/TU/PPI/2/2017 tanggal 28 Februari 2017 dan Surat Mahasiswa Peneliti Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember Nomor : 596/UN25.1.9./PI/2017 tanggal 21 Februari 2017 yang bertanda tangan di bawah ini -----

1. Nama/NIP : Nur Rohmah Syarif S.Si. MP. / 197209051999032001-----
 Pangkat / Gol. : Penata Tk. I / (III/d) -----
 Jabatan : PEH Muda -----


2. Nama/NIP : Iva Tri Lindsari / 198310222002122002 -----
 Pangkat / Gol. : Pengatur Tk. I / (II/d) -----
 Jabatan : PEH Pelaksana Lanjutan -----

Dengan ini telah melakukan pemeriksaan sampel tumbuhan untuk keperluan penelitian oleh Mahasiswa Peneliti Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember, dengan hasil sebagai berikut :


No.	Nama / Jenis	Jumlah (sampel)	Keterangan
1.	Sampel Tumbuhan Sintok (<i>Cinnamomum sintoc</i>)	1 kg	-
2.	Sampel Tumbuhan Garu (<i>Antidesma montanum</i>)	1 kg	-
3.	Sampel Tumbuhan Kragean (<i>Litsea cubeba</i>)	1 kg	-
4.	Sampel Tumbuhan Bidara upas (<i>Merremia mamosa</i>)	1 kg	-
	Jumlah	4 kg	


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

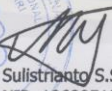
Jember, 2 Maret 2017


Yang diperiksa,
 Pemohon,

 Ardine Kumalasari

Yang memeriksa,

1. Nur Rohmah Syarif S.Si MP
 NIP. 197209051999032001 ()

2. Iva Tri Lindsari
 NIP. 198310222002122002 ()

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

 Sulistrianto S.Si M.Si
 NIP. 196805101995031002



LAMPIRAN 4.2 Kadar Air Tanaman Bidara upas

$$\text{Kadar air} = \frac{\text{massa awal} - \text{massa akhir}}{\text{massa awal}} \times 100\%$$

Bahan	Pengulangan	Massa Awal (g)	Massa Akhir (g)	Kadar Air (%)
Simplisia	x1	4,00	3,32	17,0
	x2	4,00	3,34	16,5
	x3	4,00	3,38	15,5
		\bar{x}		16,3±0,76

LAMPIRAN 4.3 Perhitungan Rendemen Ekstrak Maserasi

Massa simplisia basah yang dimaserasi adalah 250 gram

Massa simplisia kering = massa simplisia basah x kadar air

$$= 250,05 \text{ g} \times 16,3 \%$$

$$= 40,75 \text{ g}$$


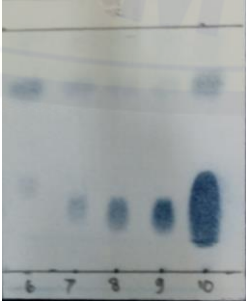
Massa simplisia = 250,05 g – 40,75 g

$$= 209,30 \text{ g}$$

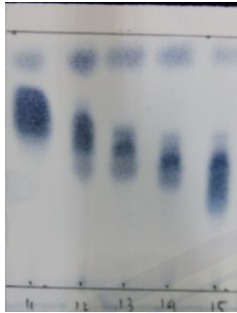
$$\% \text{ Rendemen} = \left(\frac{\text{Massa Ekstrak}}{\text{Massa Simplisia}} \right) \times 100\%$$

Pelarut	Massa Simplisia (g)	Massa ekstrak (g)	Rendemen (%)
n-heksana	209,30	7,31	3,49

LAMPIRAN 4.4 Foto KLT Hasil Kolom Kromatografi

Tabung Ke	KLT	Rf	Eluen
1-2-3-4-5		1. (a) 0,7/4=0,18 2. (a) 0,7/4=0,18 3. (a) 0,7/4=0,18 4. (a) 0,7/4=0,18 (b) 1,6/4=0,4 5. (a) 0,7/4=0,18 (b) 1,6/4=0,4	N-heksana 100%
6-7-8-9-10		6. (a) 1,35/4=0,34 (b) 2,9/4=0,73 7. (a) 1,0/4=0,25 (b) 2,9/4=0,73 8. (a) 1,0/4=0,25 (b) 2,9/4=0,73 9. (a) 1,0/4=0,25 (b) 2,9/4=0,73 10. (a) 1,0/4=0,25 (b) 2,9/4=0,73	Diklorometana:n-heksana (20:80)

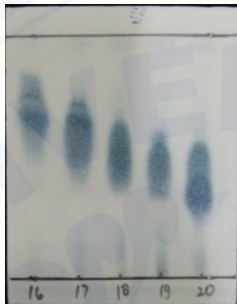
11-12-13-14-15



- 11. (a) $2,7/4=0,68$
(b) $3,5/4=0,88$
- 12. (a) $2,3/4=0,58$
(b) $3,5/4=0,88$
- 13. (a) $2,0/4=0,5$
(b) $3,5/4=0,88$
- 14. (a) $2,0/4=0,5$
(b) $3,55/4=0,89$
- 15. (a) $1,95/4=0,49$
(b) $3,55/4=0,89$

Diklorometana:n-heksana (40:60)

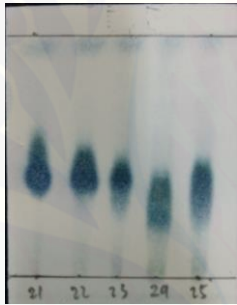
16-17-18-19-20



- 16. (a) $2,75/4=0,69$
- 17. (a) $2,5/4=0,63$
- 18. (a) $2,45/4=0,61$
- 19. (a) $2,3/4=0,58$
- 20. (a) $2,2/4=0,55$

Diklorometana:n-heksana (60:40)

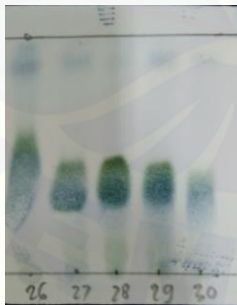
21-22-23-24-25



- 21. (a) $1,7/4=0,43$
(b) $3,7/4=0,93$
- 22. (a) $1,7/4=0,43$
(b) $3,7/4=0,93$
- 23. (a) $1,7/4=0,43$
(b) $3,7/4=0,93$
- 24. (a) $1,3/4=0,33$
(b) $3,7/4=0,93$
- 25. (a) $1,5/4=0,38$
(b) $3,7/4=0,93$

Diklorometana:n-heksana (80:20)

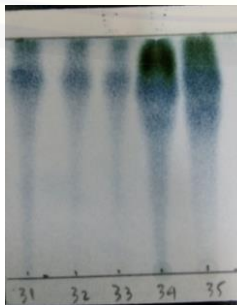
26-27-28-29-30



- 26. (a) $1,6/4=0,4$
(b) $3,3/4=0,83$
- 27. (a) $1,6/4=0,4$
(b) $3,3/4=0,83$
- 28. (a) $1,6/4=0,4$
(b) $3,3/4=0,83$
- 29. (a) $1,6/4=0,4$
(b) $3,3/4=0,83$
- 30. (a) $1,6/4=0,4$
(b) $3,3/4=0,83$

Diklorometana 100 %

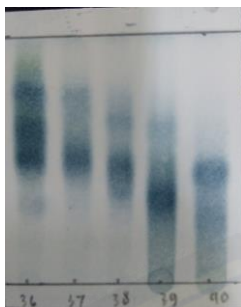
31-31-33-34-35



- 31. (a) $3,3/4=0,83$
- 32. (a) $3,3/4=0,83$
- 33. (a) $3,25/4=0,81$
- 34. (a) $3,25/4=0,81$
- 35. (a) $3,25/4=0,81$

Diklorometana:Etil Asetat (80:20)

36-37-38-39-40



36. (a) $2,6/4=0,65$
 37. (a) $2,5/4=0,63$
 38. (a) $2,45/4=0,61$
 39. (a) $1,4/4=0,35$
 40. (a) $1,35/4=0,34$

Diklorometana:Etil Asetat (60:40)

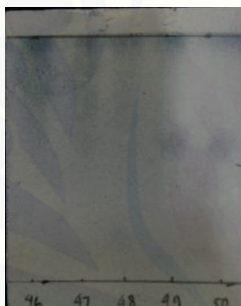
41-42-43-44-45



41. (a) $2,8/4=0,7$
 42. (a) $2,8/4=0,7$
 43. (a) $2,8/4=0,7$
 44. (a) $2,8/4=0,7$
 45. (a) $2,8/4=0,7$

Diklorometana:Etil Asetat (40:60)

46-47-48-49-50



46. (a) $2,85/4=0,71$
 47. (a) $2,85/4=0,71$
 48. (a) $2,85/4=0,71$
 49. (a) $2,85/4=0,71$
 50. (a) $2,85/4=0,71$

Diklorometana:Etil Asetat (20:80)

51-52



51. –
 52. –

Etil Asetat 100%

LAMPIRAN 4.5 Perhitungan Rendemen Fraksi

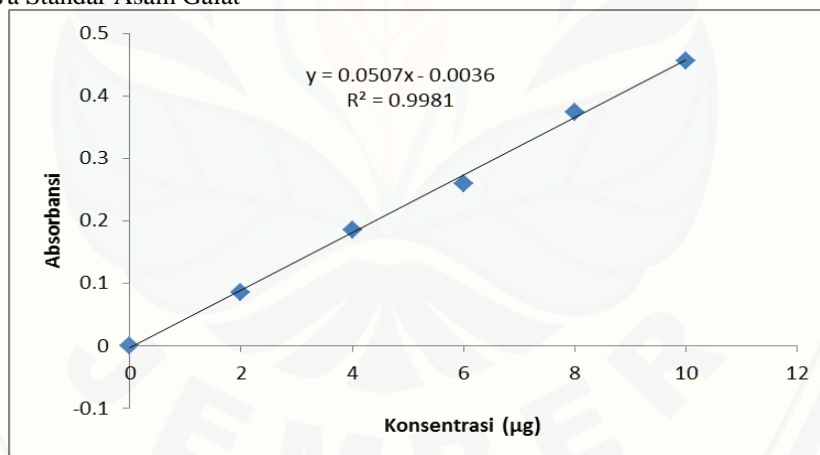
Ekstrak daun Bidara upas yang digunakan sebanyak 2000 mg sehingga rendemen fraksi:

$$\% \text{ Rendemen} = \left(\frac{\text{Massa Fraksi}}{\text{Massa Ekstrak}} \right) \times 100\%$$

Sampel	Fraksi	Warna	Massa (mg)	Rendemen (%)
MM-1	1-3	Putih kekuningan	70	3.5
MM-2	4-5	Tidak berwarna	60	3.0
MM-3	6-10	Kuning	400	20
MM-4	11-15	Orange	200	10
MM-5	16-20	Orange kecoklatan	160	8.0
MM-6	21-25	Coklat pudar	250	12.5
MM-7	26-30	Hijau tua	380	19.0
MM-8	31-35	Hijau kehitaman	100	5.0
MM-9	36-38	Coklat kehitaman	40	2.0
MM-10	39-40	Coklat pudar	40	2.0
MM-11	41-45	Kuning kecoklatan	80	4.0
MM-12	46-50	Hijau pudar	40	2.0
Total Fraksi	-	-	1820	91.0

LAMPIRAN 4.6 Perhitungan Total Fenolik Fraksi Hasil Kromatografi Kolom Pertama

4.6.1 Kurva Standar Asam Galat



4.6.2 Total Fenolik

$$y = 0,0507x - 0,0036$$

$$x_1 = \left(\frac{\text{Abs} + 0.0036}{0.0507} \right) : \text{v yg diujikan} \rightarrow \mu\text{g GAE}/\mu\text{L}$$

$$x_2 = x_1 \times \text{FP} \rightarrow \mu\text{g GAE}/\mu\text{L}$$

$$x_3 = \frac{x_2}{[\text{Fraksi}]} \rightarrow \text{mg GAE}/\text{g}$$

Sampel	Absorbansi	X1	Fp	X2	[Fenolik] Fraksi ($\mu\text{gGAE}/\mu\text{L}$)	Total Fenolik Fraksi (mg GAE/g)
MM-1	0.252	0.126	22	2.773	2.784	39.77
	0.255	0.128	22	2.805		
	0.252	0.126	22	2.773		
MM-2	0.251	0.126	22	2.762	2.813	46.88
	0.257	0.129	22	2.827		
	0.259	0.129	22	2.849		
MM-3	0.241	0.121	22	2.653	2.675	6.69
	0.247	0.124	22	2.719		
	0.241	0.121	22	2.653		
MM-4	0.267	0.133	22	2.936	2.921	14.61
	0.269	0.134	22	2.957		
	0.261	0.130	22	2.870		
MM-5	0.092	0.047	22	1.037	1.041	6.50
	0.094	0.048	22	1.059		
	0.091	0.047	22	1.026		
MM-6	0.109	0.056	22	1.221	1.250	5.00
	0.112	0.057	22	1.254		
	0.114	0.058	22	1.276		
MM-7	0.132	0.162	22	3.565	3.604	9.49
	0.139	0.164	22	3.608		
	0.137	0.165	22	3.641		
MM-8	0.325	0.067	22	1.471	1.514	15.14
	0.329	0.070	22	1.547		
	0.332	0.069	22	1.525		
MM-9	0.179	0.090	22	1.981	2.024	50.61
	0.183	0.092	22	2.024		
	0.187	0.094	22	2.068		
MM-10	0.075	0.039	22	0.853	0.896	22.40
	0.083	0.043	22	0.939		
	0.079	0.041	22	0.896		
MM-11	0.165	0.083	22	1.829	1.851	23.13
	0.169	0.085	22	1.872		
	0.167	0.084	22	1.851		
MM-12	0.147	0.075	22	1.655	1.677	41.93
	0.153	0.077	22	1.699		
	0.151	0.076	22	1.677		

LAMPIRAN 4.7 Perhitungan Persen Peredaman Radikal DPPH Fraksi Hasil Kromatografi Kolom Pertama

Sampel	Abs Blank	Abs	% Peredaman	% Peredaman
MM-1	0.395	0.264	33.16	33.00±0.77
		0.262	33.67	
		0.268	32.15	
MM-2	0.395	0.242	38.73	38.06±0.64
		0.247	37.47	
		0.245	37.97	
MM-3	0.395	0.255	35.44	35.61±0.29
		0.253	35.95	
		0.255	35.44	
MM-4	0.395	0.174	55.95	56.54±0.53
		0.17	56.96	
		0.171	56.71	
MM-5	0.395	0.162	58.99	58.73±0.44
		0.165	58.23	
		0.162	58.99	
MM-6	0.395	0.145	63.29	63.21±0.15
		0.145	63.29	
		0.146	63.04	
MM-7	0.395	0.128	67.59	68.10±0.51
		0.124	68.61	
		0.126	68.10	
MM-8	0.395	0.161	59.24	58.48±0.76
		0.164	58.48	
		0.167	57.72	
MM-9	0.395	0.159	59.75	60.34±0.53
		0.155	60.76	
		0.156	60.51	
MM-10	0.395	0.128	67.59	67.00±0.53
		0.131	66.84	
		0.132	66.58	
MM-11	0.395	0.184	53.42	52.83±0.64
		0.186	52.91	
		0.189	52.15	
MM-12	0.395	0.253	35.95	35.27±0.64
		0.256	35.19	
		0.258	34.68	
Vitamin C	0.395	0.122	69.11	69.28±0.29
		0.120	69.62	
		0.122	69.11	

LAMPIRAN 4.8 Perhitungan Persen Penghambatan α -Amilase oleh Fraksi Hasil Kromatografi Kolom Pertama

$$SA = S^+ - S^-$$

$$K = C^+ - C^-$$

$$\% \text{ penghambatan} = \left(\frac{(C^+ - C^-) - (S^+ - S^-)}{(C^+ - C^-)} \right) \times 100\%$$

C ⁺	C ⁻	k	k (rata-rata)
0.294	0.169	0.125	0.134
0.289	0.149	0.140	
0.275	0.137	0.138	

Sampel	k	S ⁺	S ⁻	SA	Penghambatan (%)	Penghambatan (%)
MM-1	0.134	0.123	0.082	0.041	69.403	72.14±2.40
	0.134	0.122	0.086	0.036	73.134	
	0.134	0.119	0.084	0.035	73.881	
MM-2	0.134	0.189	0.129	0.06	55.224	52.24±3.95
	0.134	0.195	0.125	0.07	47.761	
	0.134	0.177	0.115	0.062	53.731	
MM-3	0.134	0.133	0.113	0.02	85.075	86.82±1.88
	0.134	0.129	0.111	0.018	86.567	
	0.134	0.124	0.109	0.015	88.806	
MM-4	0.134	0.187	0.115	0.072	46.269	43.78±3.11
	0.134	0.184	0.110	0.074	44.776	
	0.134	0.18	0.100	0.08	40.299	
MM-5	0.134	0.257	0.207	0.05	62.687	63.68±0.86
	0.134	0.253	0.205	0.048	64.179	
	0.134	0.249	0.201	0.048	64.179	
MM-6	0.134	0.249	0.222	0.027	79.851	80.85±0.86
	0.134	0.244	0.219	0.025	81.343	
	0.134	0.242	0.217	0.025	81.343	
MM-7	0.134	0.278	0.253	0.025	81.343	88.81±6.51
	0.134	0.262	0.251	0.011	91.791	
	0.134	0.258	0.249	0.009	93.284	
MM-8	0.134	0.22	0.120	0.1	25.373	36.07±9.33
	0.134	0.198	0.118	0.08	40.299	
	0.134	0.191	0.114	0.077	42.537	
MM-9	0.134	0.185	0.150	0.035	73.881	72.89±1.72
	0.134	0.187	0.152	0.035	73.881	
	0.134	0.194	0.155	0.039	70.896	
MM-10	0.134	0.177	0.138	0.039	70.896	71.14±0.43
	0.134	0.181	0.142	0.039	70.896	
	0.134	0.184	0.146	0.038	71.642	

MM-11	0.134	0.231	0.129	0.102	23.881	23.63±0.43
	0.134	0.233	0.131	0.102	23.881	
	0.134	0.237	0.134	0.103	23.134	
MM-12	0.134	0.207	0.110	0.097	27.612	26.37±2.83
	0.134	0.204	0.108	0.096	28.358	
	0.134	0.201	0.098	0.103	23.134	
Akarbosa	0.134	0.231	0.210	0.021	84.328	83.33±0.86
	0.134	0.238	0.215	0.023	82.836	
	0.134	0.243	0.220	0.023	82.836	

LAMPIRAN 4.9 Perhitungan Persen Penghambatan α -Glukosidase oleh Fraksi Hasil Kromatografi Kolom Pertama

$$SA = S^+ - S^-$$

$$k = C^+ - C^-$$

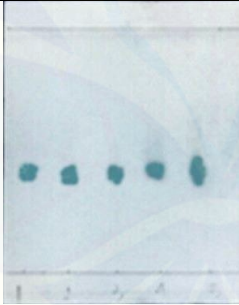

$$\% \text{ penghambatan} = \left(\frac{(C^+ - C^-) - (S^+ - S^-)}{(C^+ - C^-)} \right) \times 100\%$$

C ⁺	C ⁻	k	k (rata-rata)
0.49	0.311	0.179	0.178
0.496	0.309	0.187	
0.483	0.316	0.167	

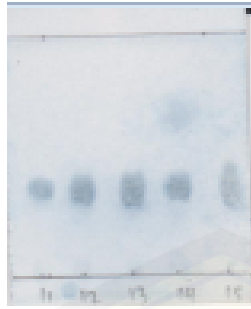
Sampel	k	S ⁺	S ⁻	SA	Penghambatan (%)	Penghambatan (%)
MM-1	0.178	0.268	0.212	0.056	68.54	64.42±6.66
	0.178	0.275	0.218	0.057	67.98	
	0.178	0.287	0.21	0.077	56.74	
MM-2	0.178	0.355	0.281	0.074	58.43	59.36±1.17
	0.178	0.357	0.284	0.073	58.99	
	0.178	0.359	0.289	0.07	60.67	
MM-3	0.178	0.337	0.268	0.069	61.24	61.80±0.56
	0.178	0.342	0.274	0.068	61.80	
	0.178	0.346	0.279	0.067	62.36	
MM-4	0.178	0.309	0.255	0.054	69.66	71.72±4.78
	0.178	0.312	0.261	0.051	71.35	
	0.178	0.32	0.274	0.046	74.16	
MM-5	0.178	0.306	0.261	0.045	74.72	72.47±2.25
	0.178	0.313	0.264	0.049	72.47	
	0.178	0.321	0.268	0.053	70.22	
MM-6	0.178	0.334	0.294	0.04	77.53	77.34±7.02
	0.178	0.332	0.304	0.028	84.27	
	0.178	0.343	0.312	0.031	82.58	
MM-7	0.178	0.465	0.431	0.034	80.90	82.77±3.24
	0.178	0.456	0.422	0.034	80.90	
	0.178	0.453	0.429	0.024	86.52	

MM-8	0.178	0.345	0.304	0.041	76.97	76.97±2.25
	0.178	0.356	0.311	0.045	74.72	
	0.178	0.353	0.316	0.037	79.21	
MM-9	0.178	0.382	0.293	0.089	50.00	48.31±1.69
	0.178	0.391	0.296	0.095	46.63	
	0.178	0.399	0.307	0.092	48.31	
MM-10	0.178	0.38	0.338	0.042	76.40	70.41±6.51
	0.178	0.385	0.334	0.051	71.35	
	0.178	0.402	0.337	0.065	63.48	
MM-11	0.178	0.335	0.245	0.09	49.44	51.12±2.03
	0.178	0.34	0.252	0.088	50.56	
	0.178	0.347	0.264	0.083	53.37	
MM-12	0.178	0.34	0.247	0.093	47.75	47.38±0.65
	0.178	0.346	0.253	0.093	47.75	
	0.178	0.351	0.256	0.095	46.63	
Akarbosa	0.178	0.397	0.339	0.058	67.42	72.10±4.06
	0.178	0.392	0.346	0.046	74.16	
	0.178	0.395	0.35	0.045	74.72	

LAMPIRAN 4.10 KLT Hasil Rekromatografi Kolom

Tabung Ke	KLT	Rf	Eluen
1-2-3-4-5		1. (a) 1,6/4=0,4 2. (a) 1,6/4=0,4 3. (a) 1,6/4=0,4 4. (a) 1,6/4=0,4 5. (a) 1,6/4=0,4	Diklorometana:n-heksan (75:25)
6-7-8-9-10		6. (a) 1,6/4=0,4 7. (a) 1,6/4=0,4 8. (a) 1,6/4=0,4 9. (a) 1,6/4=0,4 10. (a) 1,6/4=0,4	Diklorometana:n-heksan (75:25)

11-12-13-14-15



- 11. (a) $1,55/4=0,38$
- 12. (a) $1,55/4=0,38$
- 13. (a) $1,55/4=0,38$
- 14. (a) $1,55/4=0,38$
- 15. (a) $1,55/4=0,38$

Diklorometana:n-heksan (75:25)

16-17-18-19-20



- 16. (a) $1,55/4=0,38$
- 17. (a) $1,5/4=0,37$
- 18. (a) $1,55/4=0,38$
- 19. (a) $1,55/4=0,38$
- 20. (a) $1,55/4=0,38$

Diklorometana:n-heksan (75:25)

21-22-23-24-25



- 21. (a) $1,6/4=0,4$
- 22. (a) $1,6/4=0,4$
- 23. (a) $1,6/4=0,4$
- 24. (a) $1,65/4=0,41$
- 25. (a) $1,65/4=0,41$

Diklorometana:n-heksan (75:25)

26-27-28-29-30



- 26. (a) $0,5/4=0,125$
- 27. (a) $0,5/4=0,125$
- 28. (a) $0,5/4=0,125$
- 29. (a) $0,5/4=0,125$
- 30. (a) $0,5/4=0,125$

Diklorometana:n-heksan (80:20)

31-31-33-34-35



- 31. (a) $0,5/4=0,125$
- 32. (a) $0,5/4=0,125$
- 33. (a) $0,5/4=0,125$
- 34. (a) $0,5/4=0,125$
- 35. (a) $0,5/4=0,125$

Diklorometana:n-heksana (80:20)

36-37-38-39-40



36. (a) $0,5/4=0,125$
 37. (a) $0,5/4=0,125$
 38. (a) $0,5/4=0,125$
 39. (a) $0,5/4=0,125$
 40. (a) $0,5/4=0,125$

Diklorometana:n-
heksana (80:20)

41-42-43-44-45



41. (a) $0,55/4= 0,14$
 42. (a) $0,55/4= 0,14$
 43. (a) $0,55/4= 0,14$
 44. (a) $0,55/4= 0,14$
 45. (a) $0,55/4= 0,14$

Diklorometana:n-
heksana (80:20)

46-47-48-49-50



46. (a) $0,55/4= 0,14$
 47. (a) $0,55/4= 0,14$
 48. (a) $0,55/4= 0,14$
 49. (a) $0,55/4= 0,14$
 50. (a) $0,55/4= 0,14$

Diklorometana:n-
heksana (80:20)

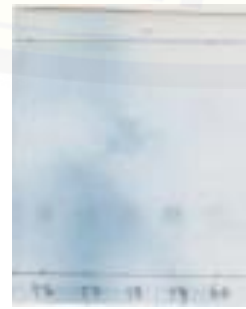
51-52-53-54-55



51. (a) $0,5/4=0,125$
 52. (a) $0,5/4=0,125$
 53. (a) $0,5/4=0,125$
 54. (a) $0,5/4=0,125$
 55. (a) $0,5/4=0,125$

Diklorometana:n-
heksana (85:15)

56-57-58-59-60



56. (a) $0,5/4=0,125$
 57. (a) $0,5/4=0,125$
 58. (a) $0,5/4=0,125$
 59. (a) $0,5/4=0,125$
 60. (a) $0,5/4=0,125$

Diklorometana:n-
heksana (85:15)

61-62-63-64-65



- 61. (a) $0,5/4=0,125$
- 62. (a) $0,5/4=0,125$
- 63. (a) $0,5/4=0,125$
- 64. (a) $0,5/4=0,125$
- 65. (a) $0,5/4=0,125$

Diklorometana:n-heksana (85:15)

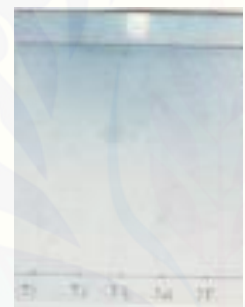
66-67-68-69-70



- 66. (a) $3,6/4=0,9$
- 67. (a) $3,6/4=0,9$
- 68. (a) $3,6/4=0,9$
- 69. (a) $3,6/4=0,9$
- 70. (a) $3,6/4=0,9$

Diklorometana:n-heksana (85:15)

71-72-73-74-75



- 71. (a) $3,6/4=0,9$
- 72. (a) $3,6/4=0,9$
- 73. (a) $3,6/4=0,9$
- 74. (a) $3,6/4=0,9$
- 75. (a) $3,6/4=0,9$

Diklorometana:n-heksana (85:15)

76-77-78-79-80



- 76. (a) $3,6/4=0,9$
- 77. (a) $3,6/4=0,9$
- 78. (a) $3,6/4=0,9$
- 79. (a) $3,6/4=0,9$
- 80. (a) $3,6/4=0,9$

Diklorometana:n-heksana (90:10)

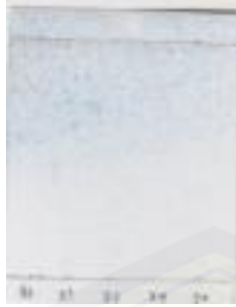
81-82-83-84-85



- 81. (a) $3,6/4=0,9$
- 82. (a) $3,6/4=0,9$
- 83. (a) $3,6/4=0,9$
- 84. (a) $3,6/4=0,9$
- 85. (a) $3,6/4=0,9$

Diklorometana:n-heksana (90:10)

86-87-88-89-90



- 86. (a) 3,6/4=0,9
- 87. (a) 3,6/4=0,9
- 88. (a) 3,6/4=0,9
- 89. (a) 3,6/4=0,9
- 90. (a) 3,6/4=0,9

Diklorometana:n-heksana (90:10)

91-92-93-94-95



- 91. (a) 3,6/4=0,9
- 92. (a) 3,6/4=0,9
- 93. (a) 3,6/4=0,9
- 94. (a) 3,6/4=0,9
- 95. (a) 3,6/4=0,9

Diklorometana:n-heksana (90:10)

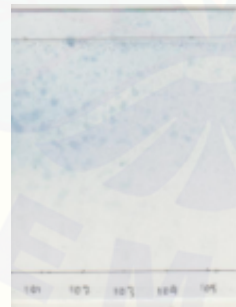
96-97-98-99-100



- 96. (a) 3,6/4=0,9
- 97. (a) 3,6/4=0,9
- 98. (a) 3,6/4=0,9
- 99. (a) 3,6/4=0,9
- 100. (a) 3,6/4=0,9

Diklorometana:n-heksana (90:10)

101-102-103-104-105



- 101. (a) 3,6/4=0,9
- 102. (a) 3,6/4=0,9
- 103. (a) 3,6/4=0,9
- 104. (a) 3,6/4=0,9
- 105. (a) 3,6/4=0,9

Diklorometana:n-heksana (95:5)

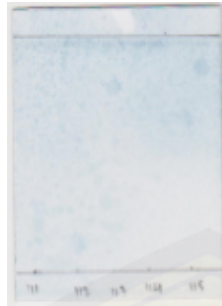
106-107-108-109-110



- 106. (a) 3,6/4=0,9
- 107. (a) 3,6/4=0,9
- 108. (a) 3,6/4=0,9
- 109. (a) 3,6/4=0,9
- 110. (a) 3,6/4=0,9

Diklorometana:n-heksana (95:5)

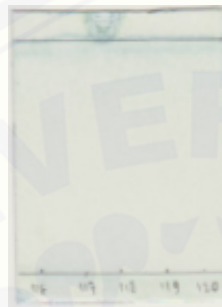
111-112-113-114-115



111. (a) $3,6/4=0,9$
 112. (a) $3,6/4=0,9$
 113. (a) $3,6/4=0,9$
 114. (a) $3,6/4=0,9$
 115. (a) $3,6/4=0,9$

Diklorometana:n-heksana (95:5)

116-117-118-119-120



116. (a) $3,6/4=0,9$
 117. (a) $3,6/4=0,9$
 118. (a) $3,6/4=0,9$
 119. (a) $3,6/4=0,9$
 120. (a) $3,6/4=0,9$

Diklorometana:n-heksana (95:5)

121-122-123-124-125



121. (a) $3,6/4=0,9$
 122. (a) $3,6/4=0,9$
 123. (a) $3,6/4=0,9$
 124. (a) $3,6/4=0,9$
 125. (a) $3,6/4=0,9$

Diklorometana:n-heksana (95:5)

126-128-130-132-134



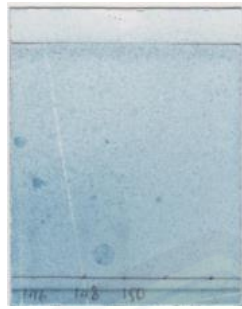
Diklorometana 100%

136-138-140-142-144



Diklorometana 100%

146-148-150



Diklorometana 100%

151-153-155-157-159



Diklorometana:etil
asetat (95:5)

161-163-165-167-169



Diklorometana:etil
asetat (95:5)

171-173-175



Diklorometana:etil
asetat (95:5)

LAMPIRAN 4.11 Fraksi Hasil Rekromatografi Kolom



LAMPIRAN 4.12 Rendemen Fraksi Hasil Rekromatografi Kolom

$$\% \text{ Rendemen} = \left(\frac{\text{Massa Fraksi yang diperoleh}}{\text{Massa Fraksi yang dimasukkan}} \right) \times 100\%$$

Sampel	Fraksi	Warna	Massa (mg)	Rendemen (%)
MM 7.1	1-25	Tidak berwarna	20	20
MM 7.2	26-65	Hijau tua	30	30
MM 7.3	66-125	Hijau muda	20	20
Total Fraksi	-	-	70	70

LAMPIRAN 4.13 Perhitungan Total Fenolik Fraksi Hasil Rekromatografi Kolom

$$y = 0,0507x - 0,0036$$

$$x_1 = \left(\frac{\text{Abs} + 0.0036}{0.0507} \right) : v \text{ yg diujikan} \rightarrow \mu\text{g GAE}/\mu\text{L}$$

$$x_2 = x_1 \times \text{FP} \rightarrow \mu\text{g GAE}/\mu\text{L}$$

$$x_3 = \frac{x_2}{[\text{Fraksi}]} \rightarrow \text{mg GAE}/\text{g}$$

Sampel	Absorbansi	X1	Fp	X2	[Fenolik] Fraksi ($\mu\text{gGAE}/\mu\text{L}$)	Total Fenolik Fraksi (mg GAE/g)
MM 7.1	0.178	0.072	22	1.567	1.619	161.94
	0.186	0.075	22	1.645		
	0.185	0.074	22	1.637		
MM 7.2	0.276	0.110	22	2.427	2.473	164.85
	0.284	0.113	22	2.496		
	0.284	0.113	22	2.496		
MM 7.3	0.214	0.086	22	1.888	1.897	187.71
	0.220	0.088	22	1.941		
	0.211	0.085	22	1.862		

LAMPIRAN 4.14 Perhitungan Persen Peredaman Radikal DPPH Fraksi Hasil Rekromatografi Kolom

Sampel	Abs Blank	Abs	% Peredaman	% Peredaman
MM 7.1	0.234	0.051	78.21	78.06 \pm 5.34
		0.039	83.33	
		0.064	72.65	
MM 7.2	0.234	0.023	90.17	86.32 \pm 5.25
		0.046	80.34	
		0.027	88.46	

MM 7.3	0.234	0.023	90.17	94.02±3.85
		0.014	94.02	
		0.005	97.86	
Vitamin C	0.234	0.062	73.50	67.81±9.14
		0.100	57.26	
		0.064	72.65	

LAMPIRAN 4.15 Perhitungan Persen Penghambatan α -Amilase Fraksi Hasil Rekromatografi Kolom

$$SA = S^+ - S^-$$

$$k = C^+ - C^-$$

$$\% \text{ penghambatan} = \left(\frac{(C^+ - C^-) - (S^+ - S^-)}{(C^+ - C^-)} \right) \times 100\%$$

C ⁺	C ⁻	K	k (rata-rata)
0.19	0.081	0.109	0.107
0.184	0.079	0.105	
0.171	0.064	0.107	

Sampel	K	S ⁺	S ⁻	Penghambatan (%)	Penghambatan (%)
MM 7.1	0.107	0.18	0.165	85.98	87.23±1.08
	0.107	0.179	0.166	87.85	
	0.107	0.176	0.163	87.85	
MM 7.2	0.107	0.187	0.164	78.50	85.98±6.74
	0.107	0.176	0.167	91.59	
	0.107	0.179	0.166	87.85	
MM 7.3	0.107	0.155	0.139	85.05	90.03±4.42
	0.107	0.149	0.14	91.59	
	0.107	0.146	0.139	93.46	
Akarbosa	0.107	0.086	0.073	87.85	88.79±1.62
	0.107	0.079	0.069	90.65	
	0.107	0.076	0.063	87.85	

LAMPIRAN 4.16 Perhitungan Persen Penghambatan α -Glukosidase Fraksi Hasil Rekromatografi Kolom

$$SA = S^+ - S^-$$

$$k = C^+ - C^-$$

$$\% \text{ penghambatan} = \left(\frac{(C^+ - C^-) - (S^+ - S^-)}{(C^+ - C^-)} \right) \times 100\%$$

C ⁺	C ⁻	K	k (rata-rata)
0.265	0.179	0.086	0.091
0.258	0.164	0.094	
0.249	0.157	0.092	

Sampel	K	S ⁺	S ⁻	Penghambatan (%)	Penghambatan (%)
MM 7.1	0.091	0.202	0.174	69.23	69.60±4.96
	0.091	0.199	0.176	74.73	
	0.091	0.215	0.183	64.84	
MM 7.2	0.091	0.22	0.21	89.01	88.64±1.68
	0.091	0.215	0.206	90.11	
	0.091	0.22	0.208	86.81	
MM 7.3	0.091	0.123	0.118	94.51	90.11±5.04
	0.091	0.121	0.107	84.62	
	0.091	0.118	0.11	91.21	
Akarbosa	0.091	0.101	0.09	87.91	86.81±1.90
	0.091	0.098	0.087	87.91	
	0.091	0.097	0.083	84.62	

LAMPIRAN 4.17 Perhitungan Nilai Rf KLT Fraksi Teraktif

$$Rf = \left(\frac{\text{Jarak yang ditempuh sampel (Js)}}{\text{Jarak yang ditempuh pelarut (Jp)}} \right)$$

Eluen Sampel	Jp (cm)	Js (cm)	Rf
Metanol:DCM:n-heksan (2:1:7)	4.00	2.20	0.55
DCM:n-heksan (1:1)	4.00	2.30	0.57
Etil asetat:metanol:n-heksan (1:1:8)	4.00	2.90	0.72

DCM=diklorometana