



**PENENTUAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN
ANTIDIABETES EKSTRAK DAUN NDOK-NDOKAN
(*Xanthophyllum vitellinum*)**

SKRIPSI

Oleh

MILA NUR AZIZAH

142210101073

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS JEMBER**

2018



**PENENTUAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN
ANTIDIABETES EKSTRAK DAUN NDOK-NDOKAN**
(Xanthophyllum vitellinum)

SKRIPSI

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

oleh

MILA NUR AZIZAH

142210101073

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS JEMBER**

2018

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Allah Subhanahu Wa Ta'ala dan Nabi Muhammad Shallallahu'alaihi Wa Sallam;
2. Ayahanda Sugeng, Ibunda Tasri, dan seluruh keluarga yang senantiasa memberikan dukungan moril dan materiil serta doa;
3. Guru-guru dari mulai taman kanak-kanak sampai dengan perguruan tinggi yang telah membimbing dan tidak segan untuk memberikan ilmunya;
4. Almamater yang saya banggakan, Fakultas Farmasi Universitas Jember.

MOTTO

Sudah, Jangan Kejar Mimpi. Kejar Saja Allah. Biarkan Mimpi Yang Mengejar Kita
(Kartini Fastuti)

Sesungguhnya Bersama Kesulitan Ada Kemudahan
(94:8)

PERNYATAAN

Saya bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Mila Nur Azizah

NIM : 142210101073

Dengan ini menyatakan bahwa karya tulis ilmiah dengan judul “Penentuan Aktivitas Antioksidan dan Antidiabetes Ekstrak Daun Ndok-ndokan (*Xanthophyllum vitellinum*)” adalah benar karya sendiri, kecuali kutipan yang telah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada instansi manapun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

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

Jember, 13 November 2018

Yang menyatakan,

Mila Nur Azizah

NIM 142210101073

SKRIPSI
PENENTUAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN ANTIDIABETES
EKSTRAK DAUN NDOK-NDOKAN (*Xanthophyllum vitellinum*)

Oleh
Mila Nur Azizah
142210101073

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Lesty Wulandari, S.Si., M.Farm., Apt.
Dosen Pembimbing Anggota : Indah Purnama Sary, S.Si., M.Farm., Apt.

PENGESAHAN

Karya ilmiah skripsi berjudul “Penentuan Aktivitas Antioksidan dan Antidiabetes Ekstrak Daun Ndok-ndokan (*Xanthophyllum vitellinum*)” telah diuji dan disahkan pada:

Hari, tanggal : 13 November 2018

Tempat : Fakultas Farmasi Universitas Jember

Tim Penguji

Ketua,

Anggota I,

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

Nia Kristiningrum, S.Farm., Apt., M.Farm.
NIP 198204062006042001

Anggota II,

Anggota III,

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

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

Mengesahkan

Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember,

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

RINGKASAN

Penentuan Aktivitas Antioksidan dan Antidiabetes Ekstrak Daun Ndok-ndokan (*Xanthophyllum vitellinum*); Mila Nur Azizah, 142210101073; 2018: 100 halaman; Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Stres oksidatif adalah suatu keadaan dimana terjadi ketidakseimbangan antara jumlah radikal bebas dengan antioksidan. Produksi radikal bebas atau ROS yang melebihi kemampuan antioksidan intraseluler untuk menetralkannya berpotensi menyebabkan kerusakan sel pada perkembangan beberapa penyakit salah satunya diabetes melitus. Diabetes melitus (DM) adalah salah satu penyakit tidak menular yang menjadi perhatian secara global. Di Indonesia sendiri, penderita DM mencapai 10,3 juta jiwa dan diperkirakan pada tahun 2045 meningkat hingga 16,7 juta jiwa.

Penelitian ini memiliki tujuan untuk mengetahui kadar fenolat total dan flavonoid daun ndok-ndokan serta untuk mengetahui aktivitas antioksidan dan antidiabetes. Sampel daun diperoleh dari kawasan Taman Nasional Meru Betiri. Sampel yang diambil dikeringkan, diserbuk, kemudian diekstraksi dengan pelarut etil asetat dan metanol hingga diperoleh ekstrak kental. Rendemen ekstrak etil metanol dan etil asetat berturut-turut 13,54% dan 5,642%. Pada penelitian ini juga dilakukan skrining fitokimia dan didapatkan hasil bahwa daun ndok-ndokan mengandung golongan senyawa saponin, steroid, triterpenoid, flavonoid dan polifenol.

Ekstrak yang diperoleh kemudian ditentukan kadar fenolat totalnya dengan menggunakan reagen *Folin-Ciocalteu* dan digunakan asam galat sebagai standar. Kadar flavonoid ekstrak ditentukan menggunakan reagen $AlCl_3$ dengan standar kuersetin. Aktivitas antioksidan ditentukan dengan menggunakan metode peredaman radikal DPPH dengan vitamin C sebagai kontrol positif. Aktivitas antidiabetes ditentukan dengan penghambatan α -amilase menggunakan substrat pati dengan akarbosa sebagai kontrol positif.

Kadar fenolat total yang diperoleh pada metanol dan ekstrak etil asetat dan metanol adalah $250,7 \pm 0,712$ mg GAE/ g ekstrak dan $94,77 \pm 1,625$ mg GAE/ g ekstrak. Kadar flavonoid ekstrak yang diperoleh pada ekstrak metanol dan etil asetat dan metanol adalah $59,87 \pm 0,028$ mg QE/ g ekstrak dan $23,75 \pm 0,646$ mg QE/ g ekstrak. Aktivitas antioksidan vitamin C dan ekstrak memiliki nilai IC_{50} yaitu vitamin C $3,363 \pm 0,032$; ekstrak metanol $56,90 \pm 1,972$; dan ekstrak etil asetat $228,7 \pm 5,524$. Aktivitas penghambatan enzim α -amilase akarbosa dan ekstrak memiliki nilai IC_{50} yaitu $24,75 \pm 0,159$; ekstrak metanol $760,3 \pm 12,98$; ekstrak etil aetat $2827 \pm 15,62$. Ekstrak metanol memiliki aktivitas antioksidan dan antidiabetes yang lebih besar dibandingkan dengan ekstrak etil asetat. Hal ini sejalan dengan hasil pengukuran fenolat total dan flavonoid. Kemampuan ekstrak metanol dalam menghambat enzim α -amilase dan antioksidan diharapkan dapat menurunkan kadar glukosa darah dan mencegah komplikasi pada pasien diabetes melitus.

PRAKATA

Puji syukur kehadirat Allah Subhanahu Wa Ta'ala atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Penentuan Aktivitas Antioksidan dan Antidiabetes Ekstrak Daun Ndok-ndokan (*Xanthophyllum vitellinum*)”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Fakultas Farmasi Universitas Jember.

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

1. Ibu Lesty Wulandari, S.Si., M.Farm., Apt. selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember
2. Ibu Ema Racmawati, S.Farm., M.Sc., Apt. selaku Dosen Pembimbing Akademik
3. Ibu Lesty Wulandari, S.Si., M.Farm., Apt. selaku Dosen Pembimbing Utama dan Indah Purnama Sary, S.Si., M.Farm., Apt. selaku Dosen Pembimbing Anggota
4. Ibu Nia Kristiningrum S.Farm., Apt., M.Farm selaku Dosen Penguji I dan Bapak Dwi Koko Pratoko S.Farm., M.Sc., Apt. selaku Dosen Penguji II
5. Laboran Laboratorium Biologi dan Kimia Ibu Widi, Mbak Parka, Ibu Wayan, dan Mbak Hani yang banyak membantu peneliti
6. Bapak Sugeng, Ibu Tasri, Adik Khoirotul Inzani, dan Adik Muhammad Baihaqi yang selalu memberikan dukungan moril, materiil dan tak lupa doanya
7. Keluarga Besar “PHARMAGEN” yang mau berjuang bersama
8. Kelompok Belajar Desy Wulandari, Huuril Maula Ahdy, Feni Puspita Dewi, Desy Diana Sari yang selalu sabar dalam membimbingku
9. Teman yang memberiku semangat agar cepat lulus Mas’uliyatul Hukmiyah, Eva Wulandari, Monica Cinuradha A.S, dan Zahra Puspa. Tanpamu aku butiran debu

10. Bapak Beny, Bapak Budi, Bapak Hafid dan Bapak Aswi yang telah membantu dan meluangkan waktu bagi penulis untuk mengumpulkan sampel di Taman Nasional Meru Betiri
11. Anak Kost 41A Putri, Mia, Fikri, Mbak Anisa, Indri, Dinda, Intan, Umi, dkk.
12. Teman-teman skripsi kimia (Erika, Fitri, Laili, Yashinta, Ainun, Agus, Putu, Osi, Ari, Yanti, Rafli, Sheila) yang selalu membuat lab ramai
13. Semua pihak yang tidak bisa disebutkan satu per satu

Penulis sangat menerima segala kritik dan saran dari semua pihak demi kesempurnaan penulisan skripsi ini. Penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat. Aamiin.

Jember, 13 November 2018

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN JUDUL	ii
PERSEMBAHAN	iii
MOTTO	iv
PERNYATAAN	v
HALAMAN PEMBIMBING SKRIPSI	vi
PENGESAHAN	vii
RINGKASAN	viii
PRAKATA	ix
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	4
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Deskripsi <i>Xanthophyllum vitellinum</i>	5
2.1.1 Klasifikasi <i>Xanthophyllum vitellinum</i>	5
2.1.2 Nama Lain <i>Xanthophyllum vitellinum</i>	5
2.1.3 Morfologi <i>Xanthophyllum vitellinum</i>	5
2.1.4 Kandungan Fitokimia <i>Xanthophyllum vitellinum</i>	6
2.2 Metode Ekstraksi	6
2.3 Tinjauan Senyawa Fenolat dan Flavonoid	7
2.4 Tinjauan Uji Aktivitas Antioksidan	11
2.5 Tinjauan Uji Aktivitas Antidiabetes	12

BAB.3 METODE PENELITIAN	6
3.1 Jenis Penelitian.....	6
3.2 Waktu dan Tempat Penelitian.....	6
3.3 Sampel Penelitian.....	6
3.4 Variabel Penelitian	6
3.5 Definisi Operasional	15
3.6 Rancangan Percobaan.....	15
3.7 Alur Penelitian	16
3.8 Alat dan Bahan.....	17
3.8.1 Alat	17
3.8.2 Bahan.....	17
3.9 Prosedur Penelitian.....	17
3.9.1 Penyiapan Simplisia	17
3.9.2 Pembuatan Ekstrak	18
3.9.3 Skrining Fitokimia.....	18
3.9.4 Penetapan Kadar Fenolat Total	20
3.9.5 Penetapan Kadar Flavonoid Total	21
3.9.6 Pengujian Aktivitas Antioksidan dengan metode DPPH	22
3.9.7 Pengujian Aktivitas Antidiabetes	24
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	27
4.1 Hasil Determinasi.....	27
4.2 Ekstraksi Sampel	27
4.3 Skrining Fitokimia	29
4.4 Penetapan Kadar Fenolat Total	30
4.4.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum.....	31
4.4.2 Penentuan Waktu Inkubasi	32
4.4.3 Penetapan Kadar Fenolat Total	32
4.5 Penetapan Kadar Flavonoid Total	34
4.5.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum.....	34
4.5.2 Penentuan Waktu Inkubasi	35
4.5.3 Penetapan Kadar Flavonoid Total	35

4.6 Pengujian Aktivitas Antioksidan dengan DPPH	36
4.6.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum DPPH	36
4.6.2 Penentuan Waktu Inkubasi	37
4.6.3 Pengujian Aktivitas Antioksidan.....	38
4.7 Penentuan Aktivitas Antidiabetes	40
BAB 5. PENUTUP.....	43
5.1 Kesimpulan.....	43
5.2 Saran	43
DAFTAR PUSTAKA	44
LAMPIRAN.....	52

DAFTAR TABEL

	Halaman
2.1 Klasifikasi Senyawa Fenolat berdasarkan Jumlah Atom Karbon.....	8
3.1 Tabel Volume Larutan Uji Aktivitas Antidiabetes	25
4.1 Hasil Ekstraksi Sampel	28
4.2 Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Ndok-ndokan	30
4.3 Data Kadar Fenolat Total Daun Ndok-ndokan	33
4.4 Data Kadar Flavonoid Total Daun Ndok-ndokan	36
4.5 Hasil Pengujian Aktivitas Antioksidan	39
4.6 Hasil Penghambatan Enzim α -amilase	41

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Tumbuhan <i>X. vitellinum</i>	6
2.2 Struktur Dasar Senyawa Fenolat	7
2.3 Struktur Dasar Senyawa Flavonoid dan Turunannya.....	9
2.4 Reaksi antara Reagen <i>Folin-Ciocalteu</i> dengan Senyawa Fenolat.....	10
2.5 Struktur Asam Galat.....	10
2.6 Mekanisme Penghambatan Radikal DPPH.....	11
2.7 Tahapan Reduksi Asam 3,5-dinitrosalisilat (DNS).....	13
3.1 Diagram Alur Penelitian	16
4.1 Spektrum UV-Vis Asam Galat	31
4.2 Penentuan Waktu Inkubasi Fenolat Total	32
4.3 Spektrum UV-Vis Kuersetin	34
4.4 Penentuan Waktu Inkubasi Flavonoid Total	35
4.5 Spektrum UV-Vis DPPH	37
4.6 Penentuan Waktu Inkubasi Aktivitas Antioksidan	38

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran Perhitungan % Rendemen Ekstrak	52
Lampiran Hasil Skrining Fitokimia	53
Lampiran Penetapan Kadar Fenolat Total.....	55
Lampiran Penetapan Kadar Flavonoid Total	63
Lampiran Pengujian Aktivitas Antioksidan	70
Lampiran Pengujian Aktivitas Antidiabetes	84
Lampiran Hasil Determinasi	100

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Stres oksidatif adalah suatu keadaan dimana terjadi ketidakseimbangan antara jumlah radikal bebas dengan antioksidan (Halliwell, 2006). Paravicini dan Touyz (2008), juga mendefinisikan stress oksidatif sebagai suatu keadaan dimana terjadi peningkatan *Reactive oxygen species* (ROS). Produksi radikal bebas atau ROS yang melebihi kemampuan antioksidan intraseluler untuk menetralkannya berpotensi menyebabkan kerusakan sel. ROS memainkan peran penting dalam perkembangan penyakit kardiovaskuler, termasuk penyakit hipertensi, aterosklerosis, hipertrofi jantung, gagal jantung, stroke dan diabetes melitus (Paravicini dan Touyz, 2008).

Diabetes melitus (DM) adalah salah satu penyakit tidak menular yang menjadi perhatian secara global. Penyakit tidak menular (PTM) merupakan penyakit kronis yang tidak ditularkan dari orang ke orang dan menjadi penyebab kematian hampir 70% kasus di dunia. Menurut hasil Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) tahun 2007 dan Survei Kesehatan Rumah Tangga (SKRT) tahun 1995, di Indonesia proporsi penyakit menular telah mengalami penurunan sepertiganya dari 44,2% menjadi 28,1%, akan tetapi proporsi penyakit tidak menular mengalami peningkatan cukup tinggi dari 41,7% menjadi 59,5% (Kemenkes RI, 2012). *World Health Organization* (WHO) menyebutkan bahwa pada tahun 2014 sebanyak 422 juta jiwa penduduk dunia menderita diabetes melitus. Di Indonesia sendiri, penderita DM mencapai 10,3 juta jiwa dan diperkirakan pada tahun 2045 meningkat hingga 16,7 juta jiwa (IDF, 2017).

Diabetes melitus merupakan penyakit gangguan metabolik yang ditandai dengan adanya hiperglikemia dan disebabkan kelainan sekresi insulin, kerja insulin maupun keduanya (ADA, 2014). Secara umum, diabetes dibagi menjadi dua tipe yaitu diabetes tipe 1 dan diabetes tipe 2. Di dunia, prevalensi diabetes tipe 2 lebih banyak dibandingkan dengan tipe 1. Pasien yang terkena DM akan memiliki gejala klinik poliuria, polidipsia, penurunan berat badan, kadang-kadang polifagia, dan penglihatan yang kabur. Gangguan metabolik yang kompleks pada DM tipe 2, menyebabkan terjadinya peningkatan stres oksidatif. Gangguan metabolisme ini

mengarah ke kondisi pathogen jangka panjang dan terjadinya komplikasi mikro dan makrovaskular, neuropati, retinopati, nefropati, penurunan kualitas hidup, dan peningkatan angka kematian (Bahadoran dkk., 2013).

Salah satu upaya yang dilakukan untuk mencegah perkembangan dan progresivitas penyakit DM tipe 2 yaitu dengan mengkonsumsi makanan yang kaya akan antioksidan. Antioksidan merupakan senyawa yang dapat mencegah atau menghambat oksidasi dengan cara mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif sehingga menghasilkan radikal bebas yang stabil. Saat ini telah banyak ditemukan antioksidan sintetis di pasaran. Menurut Lobo dkk. (2010), antioksidan sintetis seperti BHA (butilhidroksianisol) dan BHT (butilhidroksiltoluena) dapat menyebabkan karsinogenik. Penggunaan antioksidan sintetis yang menimbulkan efek samping, mendorong kembali penggunaan bahan alam dalam menghadapi permasalahan kesehatan. Menurut Oktora (2006), penggunaan bahan alam lebih aman dan memiliki efek samping relatif sedikit daripada obat modern.

Taman Nasional Meru Betiri (TNMB) merupakan kawasan yang memiliki tumbuhan obat yang melimpah. Potensi tumbuhan obat yang terdapat di TNMB mencakup 239 jenis tumbuhan obat yang terbagi dalam 78 famili (Pribadi, 2009). Salah satu tumbuhan TNMB yang belum banyak diteliti yaitu ndok-ndokan (*Xanthophyllum vitellinum*). Ndok-ndokan merupakan tumbuhan dari famili Polygalaceae. Penelitian Onyeche dan Kolawole (2005), menyebutkan bahwa ekstrak air daun *Securidaca longepedunculata* (Linn) yang berasal dari famili Polygalaceae dapat menurunkan konsentrasi glukosa darah dari 105,5 menjadi 80 mg/dL setelah 8 jam pemberian ekstrak. Penelitian Alagammal dkk. (2013), juga menyebutkan bahwa ekstrak *Polygala rosmarinifolia* yang masih satu famili dengan ndok-ndokan juga memiliki efek antihiperlikemik terhadap tikus albino yang diinduksi aloksan monohidrat. Menurut Pan dkk. (2013), suatu spesies yang berasal dari famili atau genus yang sama akan memiliki kandungan kimia yang sama atau mirip sehingga akan memiliki aktivitas farmakologis yang sama.

Tumbuhan merupakan salah satu sumber alam selain hewan dan bahan mineral yang dari segi teknis dan ekonomis dapat menyokong pengembangan bahan obat (Moko, 1987). Metabolit sekunder yang berfungsi sebagai antioksidan

adalah kandungan senyawa fenolatnya. Selain sebagai antioksidan, senyawa fenolat juga dilaporkan dapat menghambat enzim α -amilase dan α -glukosidase (McDougall dkk., 2005; Asgar, 2013). Penghambatan aktivitas enzim ini merupakan langkah efektif dalam memperlambat pencernaan karbohidrat dan penyerapan glukosa untuk menekan gula *post prandial* pada pasien DM tipe 2 (Tadera dkk., 2012).

Berdasarkan uraian di atas, pada penelitian ini dilakukan penetapan kadar fenolat dan flavonoid yang merupakan metabolit sekunder dan diduga dapat berfungsi sebagai antioksidan dan antidiabetes. Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstraksi ultrasonik dengan menggunakan pelarut etil asetat dan metanol. Pada penelitian ini juga ditentukan uji aktivitas antioksidan dan uji aktivitas penghambatan α -amilase ekstrak daun ndok-ndokan (*Xanthophyllum vitellinum*).

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, maka didapatkan rumusan masalah sebagai berikut:

1. Apa saja golongan senyawa yang terkandung dalam ekstrak etil asetat dan metanol daun ndok-ndokan (*X. vitellinum*)?
2. Berapa kadar fenol total dan flavonoid yang terkandung dalam ekstrak etil asetat dan metanol daun ndok-ndokan (*X. vitellinum*)?
3. Bagaimana aktivitas antioksidan dan penghambatan enzim α -amilase ekstrak etil asetat dan metanol daun ndok-ndokan (*X. vitellinum*)?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian yang dilakukan adalah sebagai berikut:

1. Untuk mengetahui golongan senyawa yang terkandung dalam ekstrak etil asetat dan metanol daun ndok-ndokan (*X. vitellinum*).
2. Untuk mengetahui banyaknya kadar fenol total dan flavonoid yang terkandung dalam ekstrak etil asetat dan metanol daun ndok-ndokan (*X. vitellinum*).

3. Untuk mengetahui aktivitas antioksidan dan penghambatan enzim α -amilase ekstrak etil asetat dan metanol daun ndok-ndokan (*X. vitellinum*).

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian yang dilakukan adalah sebagai berikut:

1. Memberikan informasi serta sumbangan pengetahuan dibidang kesehatan dan pengetahuan alam tentang potensi antioksidan dan antidiabetes daun ndok-ndokan (*X. vitellinum*).
2. Sebagai dasar peneliti lain untuk lebih menggali dan memanfaatkan tumbuhan sebagai alternatif pengobatan.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Deskripsi *Xanthophyllum vitellinum*

2.1.1 Klasifikasi *Xanthophyllum vitellinum*

Klasifikasi dari tumbuhan ndok-ndokan adalah sebagai berikut:

Kingdom : Plantae

Division : Magnoliophyta

Class : Magnoliopsida

Ordo : Fabales

Family : Polygalaceae

Genus : *Xanthophyllum*

Species : *Xanthophyllum vitellinum* D.Dietr (Malaysia Biodiversity Information System (MyBIS))

2.1.2 Nama Lain *Xanthophyllum vitellinum*

Sinonim dari *X. vitellinum* yaitu *X. hookerianum* King, *X. kunstleri* King, *X. robustum* Chodat (Sosef dkk., 1998).

2.1.3 Morfologi *Xanthophyllum vitellinum*

X. vitellinum adalah tumbuhan yang tersebar di wilayah Sumatra, Malaysia, Jawa, Borneo dan Filipina. Tumbuhan ini merupakan tumbuhan perdu atau pohon yang dapat tumbuh sampai 30 meter dengan ketebalan batang \pm 36 cm. Memiliki ketiak daun berbentuk kerucut dengan panjang 6-11 mm. Tangkai daun memiliki panjang 14-16 mm dengan sepasang kelenjar di apikal tengah. Mahkota bunga (petal) berwarna putih atau kuning dan ketika kering berwarna merah gelap atau hitam. Helai daun berwarna hijau dengan bentuk elips dan memiliki panjang 3,5-11 cm. Susunan bunga bercabang dengan panjang 8-30 cm. Pedikel memiliki panjang 1,5-5,5 mm dan jarang. Dasar sepal bunga kurang lebih tebal dan keriput, sepal luar 1,9-4 mm, sepal dalam 2,5-5 mm. benang sari berjumlah 8 kadang 9 dengan tangkal sari 0,7 mm dan kepala sari 0,4-0,7 mm. buah berbentuk bulat dengan diameter

mencapai 1,8 cm (Meijden, 1982). Gambar 2.1 menunjukkan penampakan dari *X.vitellinum*.



Gambar 2.1 Tumbuhan *X. vitellinum* (Sumber: Dokumen Pribadi).

2.1.4 Kandungan Fitokimia *Xanthophyllum vitellinum*

Penelitian mengenai kandungan fitokimia tumbuhan *X.vitellinum* masih belum ditemukan. Berdasarkan prinsip kemotaksonomi pada famili yang sama kemungkinan memiliki kandungan fitokimia yang sama. Menurut penelitian Hamburger dkk. (1985), bahwa pada tumbuhan *Securidaca diversifolia* yang satu famili dengan *X. vitellinum* mengandung senyawa glikosida flavonol. Pada penelitian lain menyebutkan bahwa famili Polygalaceae mengandung triterpene saponin terutama pada genus Polygala (Lacaille-Dubois dan Mitaine-Offer, 2005).

2.2 Metode Ekstraksi

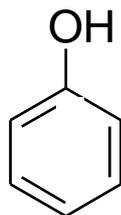
Ekstraksi adalah kegiatan penarikan kandungan bahan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut dengan pelarut tertentu yang sesuai (Depkes RI, 2000). Metode ekstraksi dibedakan menjadi tiga, yaitu ekstraksi dengan pelarut, ekstraksi destilasi uap dan ekstraksi lainnya. Metode ekstraksi lainnya terdiri dari, ekstraksi berkesinambungan, superkritikal karbondioksida, ekstraksi ultrasonik dan ekstraksi dengan energi listrik (Depkes RI, 2000).

Ekstraksi ultrasonik adalah ekstraksi yang menggunakan bantuan getaran ultrasonic (>20.000 Hz). Menurut McClement (1995), ultrasonik merupakan metode yang bersifat nondestruktif dan noninvasif, sehingga dapat diaplikasikan ke berbagai aplikasi. Ekstraksi senyawa pada tanaman dengan menggunakan pelarut organik dan bantuan ultrasonik berlangsung lebih cepat.

Prinsip ekstraksi ultrasonik adalah terbentuknya gelembung kavitasi ketika diberi perlakuan gelombang ultrasonik yang berfungsi untuk memecah dinding sel bahan. Gelembung-gelembung ini bersifat tidak stabil sehingga mudah pecah ketika gelembung tersebut sudah mencapai volume yang tidak mampu lagi menyerap energi. Pecahnya gelembung ini melibatkan energi yang besar dan menghasilkan efek panas yang membantu kontak antara pelarut dan bahan dalam ekstraksi sehingga hasil ekstraksi lebih maksimal (Sani dkk., 2014). Balachandran dkk. (2006), juga menyebutkan bahwa adanya gelombang ultrasonik menyebabkan terjadinya kerusakan dinding sel sehingga mempermudah perpindahan massa di dalam sel.

2.3 Tinjauan Senyawa Fenolat dan Flavonoid

Senyawa fenolat merupakan senyawa yang memiliki gugus hidroksil (OH) yang melekat pada cincin aromatis, sedangkan polifenol adalah senyawa yang memiliki lebih dari satu gugus hidroksil yang melekat pada satu atau lebih cincin aromatis (Vermerris dan Nicholson, 2006). Struktur dasar dari senyawa fenolat dapat dilihat pada Gambar 2.2. Senyawa fenolat merupakan senyawa yang paling banyak dan tersebar luas pada tumbuhan dengan struktur lebih dari 8000, mulai dari molekul sederhana seperti asam fenol sampai senyawa terpolarisasi tinggi seperti tanin (Dai dan Mumper, 2010). Salah satu klasifikasi senyawa fenolat berdasarkan jumlah atom karbon terdapat pada Tabel 2.1.



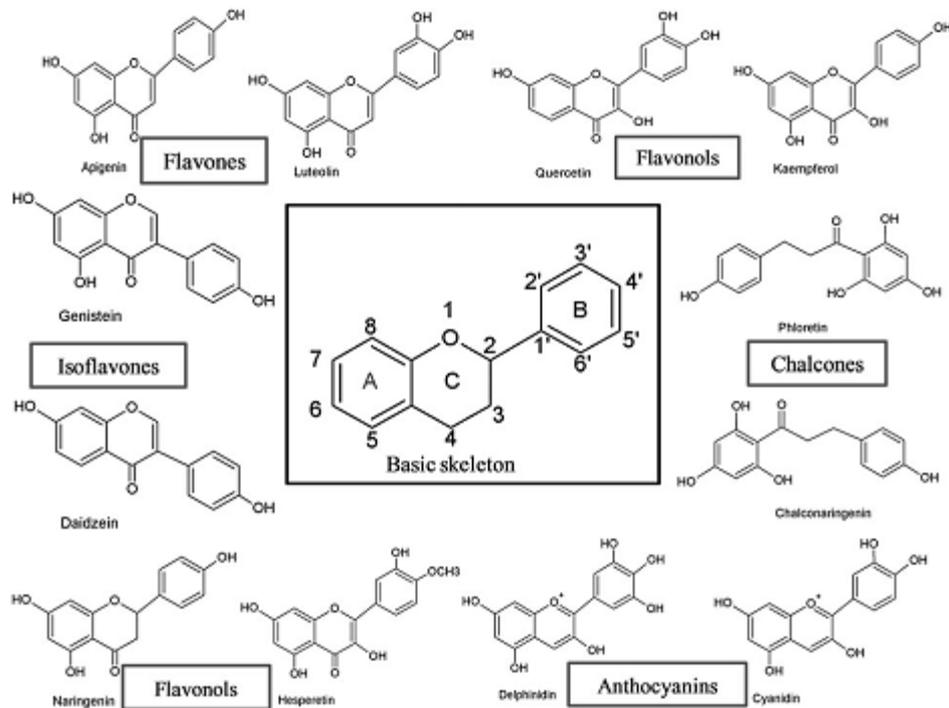
Gambar 2.2 Struktur dasar senyawa fenolat (Sumber: Vermerris dan Nicholson, 2006).

Tabel 2.1 Klasifikasi senyawa fenolat berdasarkan jumlah atom karbon.

Struktur	Kelas
C ₆	Fenolat sederhana
C ₆ -C ₁	Asam fenolat dan asam yang berhubungan lainnya
C ₆ -C ₂	Asetofenon dan asam fenilasetat
C ₆ -C ₃	Asam sinamat, sinamil aldehid, sinamil alcohol
C ₆ -C ₃	Kumarin, isokumarin, kromon
C ₁₅	Kalkon, auron, dihidrokalkon
C ₁₅	Flavan
C ₁₅	Flavon
C ₁₅	Flavanon
C ₁₅	Flavanonol
C ₁₅	Antosianidin
C ₁₅	Antosianin
C ₃₀	Biflavonil
C ₆ -C ₁ -C ₆ , C ₆ -C ₂ -C ₆	Benzofenon, xanton, stilbene
C ₆ , C ₁₀ , C ₁₄	Kuinon
C ₁₈	Betasianin
Lignan, neolignane	Dimer atau oligomer
Lignin	Polimer
Tanin	Oligomer atau polimer
Phlobaphene	Polimer

Sumber: Vermerris dan Nicholson, 2006.

Flavonoid merupakan golongan senyawa fenolat yang memiliki berat molekul rendah dan tersebar luas pada kingdom tumbuhan (Koes dkk., 1994). Flavonoid tersusun atas 15 karbon yang terdiri dari dua cincin aromatis dan dihubungkan 3 rantai karbon (C₆-C₃-C₆) (Ross dan Kasum, 2002). Berdasarkan struktur kimianya, lebih dari 4.000 flavonoid telah teridentifikasi dan diklasifikasikan ke dalam flavanol, flavanon, flavon, isoflavone, katekin, antosianin dan proantosianidin (Pham-Huy dkk., 2008). Struktur dasar flavonoid dan turunannya dapat dilihat pada Gambar 2.3.

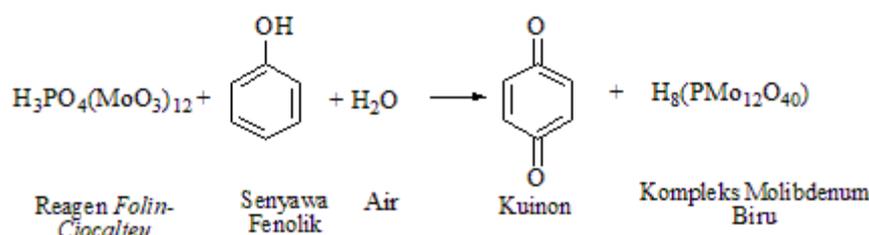


Gambar 2.3 Struktur dasar flavonoid dan turunannya (Sumber: Panche dkk, 2016).

Senyawa fenolat termasuk flavonoid merupakan senyawa yang dapat berperan sebagai antioksidan (Pietta, 2000; Lopez dkk., 2003). Aktivitas antioksidan senyawa fenolat (flavonoid, asam fenolat) dipengaruhi oleh jumlah dan posisi hidrogen dalam gugus hidroksil pada cincin aromatis senyawa fenol, glikosilasi aglikon dan grup pendonor hidrogen seperti (-NH, -SH) (Cai dkk., 2004). Selain sebagai antioksidan, senyawa fenolat juga dilaporkan memiliki efek antidiabetik. Polifenol terutama flavonoid, tanin dan asam fenolat memiliki sifat penting dalam menghambat α -amilase dan α -glukosidase yaitu enzim yang bertanggung jawab dalam pencernaan karbohidrat menjadi glukosa (Lin dkk., 2016).

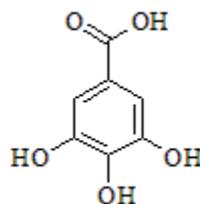
Metode penetapan senyawa fenolat total dalam tumbuhan dapat ditentukan dengan beberapa metode, diantaranya Folin-Denis, *Folin-Ciocalteu*, titrasi permanganat, kolorimetri dan absorbansi ultraviolet (Dai dan Mumper, 2010). *Folin-Ciocalteu* merupakan metode yang sering digunakan untuk menentukan kadar senyawa fenolat total. Reagen *Folin-Ciocalteu* akan bereaksi redoks dengan

senyawa fenolat. Reagen *Folin-Ciocalteu* merupakan campuran dari asam fosfomolibdat dengan asam fosfotungstat (heteropoli). Prinsip dari metode Folin-Ciocalteu adalah terbentuknya senyawa kompleks yang berwarna biru. Gugus hidroksi-fenolat akan mereduksi fosfomolibdat-fosfotungstat yang terdapat pada reagen *Folin-Ciocalteu* sehingga membentuk kompleks molibdenum-tungsten yang berwarna biru yang dapat dideteksi dengan spektrofotometer. Semakin besar senyawa fenolat dalam sampel, maka semakin banyak kompleks molibdenum-tungsten yang terbentuk sehingga warna biru yang dihasilkan akan semakin pekat (Alfian dan Susanti, 2012). Reaksi antara reagen *Folin-Ciocalteu* dengan senyawa fenolat dapat dilihat pada Gambar 2.4.



Gambar 2.4 Reaksi antara reagen *Folin-Ciocalteu* dengan senyawa fenolat (Sumber, Tursiman dkk., 2012).

Pada penetapan fenolat total, digunakan asam galat sebagai pembanding. Penggunaan asam galat memiliki beberapa keuntungan yaitu murah, larut air, mudah rekristalisasi dalam air, tersedia kering, dan stabil dalam bentuk kering (Singleton, 1999). Struktur asam galat dapat dilihat pada Gambar 2.5.



Gambar 2.5 Struktur Kimia Asam Galat

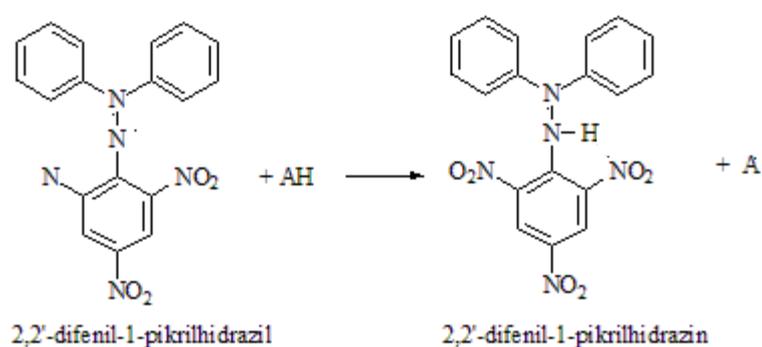
Penentuan kandungan senyawa flavonoid dalam ekstrak dapat ditentukan dengan metode kolorimetri menggunakan AlCl_3 . Prinsip penetapan kadar flavonoid dengan metode kolorimetri AlCl_3 adalah pembentukan kompleks sehingga terjadi pergeseran panjang gelombang ke arah visibel (tampak) yang ditandai larutan menghasilkan warna yang lebih kuning (Fadillah dkk., 2017). AlCl_3 membentuk

kompleks asam yang stabil dengan C-4 gugus keto dan pada C-3 atau C-5 gugus hidroksil dari flavon dan flavonol (Chang dkk., 2002).

2.4 Tinjauan Uji Aktivitas Antioksidan

Antioksidan adalah senyawa yang mampu menangkap atau meredam efek negatif dari oksidan dalam tubuh. Antioksidan bekerja dengan cara mendonorkan satu elektron kepada senyawa oksidan sehingga aktivitasnya bisa dihambat. Senyawa fenolat merupakan golongan senyawa yang memiliki aktivitas sebagai antioksidan.

Metode yang paling sering digunakan untuk menguji aktivitas antioksidan adalah metode DPPH. DPPH berfungsi sebagai radikal bebas, yang aktivitasnya akan diredam oleh aktivitas antioksidan dari sampel uji (Williams dkk.,1995). Prinsip dari metode DPPH adalah penangkapan atom hidrogen dari senyawa antioksidan oleh radikal bebas DPPH untuk mendapatkan elektron dan berubah menjadi difenilpikrilhidrazin (DPPH-H). Mekanisme penghambatan radikal DPPH dapat dilihat pada Gambar 2.6.



Gambar 2.6 Mekanisme Penghambatan Radikal DPPH (Sumber : Pyrzyńska dan Pekal, 2013)

Metode DPPH merupakan metode yang sederhana, cepat, dan tidak memerlukan banyak reagen. DPPH bereaksi dengan antioksidan melalui donasi atom hidrogen akan memberikan warna ungu yang absorbansinya dapat diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 515-520 nm dalam pelarut organik (metanol atau etanol) (Molyneux, 2004).

2.5 Tinjauan Uji Aktivitas Antidiabetes

Diabetes melitus adalah gangguan metabolik yang ditandai dengan hiperglikemia dan terjadi gangguan metabolisme karbohidrat, lemak dan protein akibat kelainan insulin, kerja insulin atau keduanya. Pengobatan diabetes melitus biasanya menggunakan insulin atau agen hipoglikemik oral. Menurut Kamtekar dkk. (2014), penggunaan insulin atau agen hipoglikemik oral dalam jangka panjang dapat meningkatkan glukosa darah, resistensi obat, efek samping dan komplikasi yang akan mempengaruhi sistem kekebalan tubuh. Polifenol dan flavonoid adalah agen antidiabetik alami yang mengganggu radikal bebas, stress oksidatif dan menghambat enzim pencernaan.

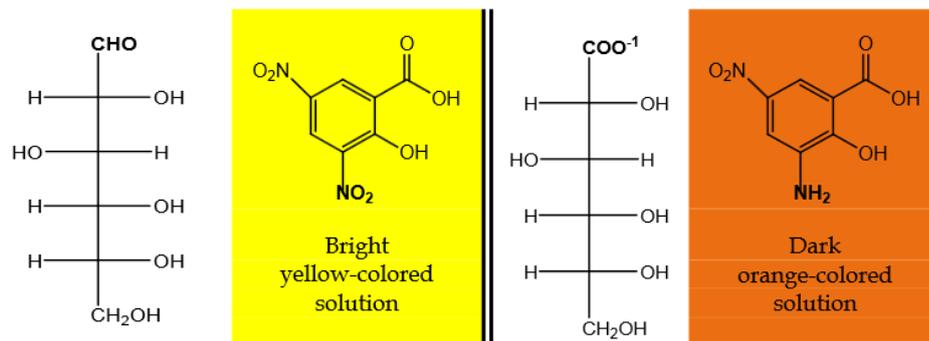
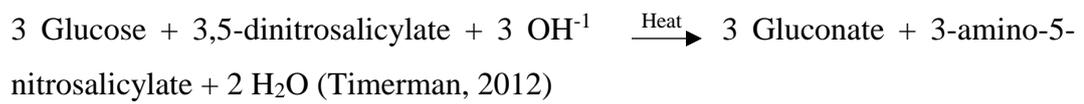
Pada penderita DM, penghambatan enzim α -amilase akan menunda proses hidrolisis karbohidrat sehingga kadar gula postprandial berkurang. α -amilase merupakan salah satu produk sekretori utama pankreas yang berperan dalam pencernaan pati dan glikogen. α -amilase merupakan enzim dari famili endoamylase yang mengkatalisis hidrolisis pati menjadi oligosakarida pendek melalui pemutusan ikatan glikosidik α -D-(1-4) (Sales dkk., 2012).

Aktivitas penghambatan enzim α -amilase dapat ditentukan dengan pengukuran gula pereduksi yang terbentuk akibat hidrolisis pati oleh enzim α -amilase. Terdapat dua pereaksi yang umum digunakan dalam pengukuran gula pereduksi, yaitu reagen DNS (Fossum dan Whitaker, 1972; Xiao dkk., 2007) dan alkaline copper (Fuwa, 1954; Roychan dan Chaudhari, 2001). Kedua pereaksi ini dapat bereaksi dengan gula pereduksi yang terbentuk dan menghasilkan kompleks warna yang juga dapat dikuantifikasi dengan pengukuran menggunakan spektrofotometer. Adanya penghambatan aktivitas enzim α -amilase dapat diamati oleh perbedaan nilai absorbansi yang dihasilkan.

Pengujian inhibitor enzim α -amilase secara *in vitro* yang umum ialah dengan menggunakan reagen asam 3,5-dinitrosalisilat (DNS) yang didasarkan pada penurunan jumlah gula pereduksi hasil reaksi hidrolisis pati terlarut oleh α -amilase dengan adanya senyawa inhibitor. Reagen pewarna asam 3,5-dinitrosalisilat (DNS) yang awalnya berwarna kuning cerah akan direduksi oleh gula reduksi yang ada di dalam larutan sehingga berubah menjadi senyawa asam 3-amino-5-nitrosalisilat

yang berwarna orange gelap yang selanjutnya diukur pada panjang gelombang 540 nm. Reaksi reduksi asam 3,5-dinitrosalisilat (DNS) oleh salah satu gula reduksi yaitu glukosa (Timerman, 2012).

Reaksinya yaitu:



Gambar 2.7 Tahapan reaksi reduksi asam 3,5-dinitrosalisilat (DNS) (Sumber: Timerman, 2012).

BAB.3 METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan adalah *True Experimental Laboratories*.

3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Biologi Farmasi dan Kimia Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Jember dan dimulai pada bulan Maret 2018-selesai.

3.3 Sampel Penelitian

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah daun ndok-ndokan (*X. vitellinum*) yang diambil secara acak dari Taman Nasional Meru Betiri (TNMB). Sampel dideterminasi di Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) UPT Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi, Pasuruan.

3.4 Variabel Penelitian

1. Variabel bebas

Variabel bebas yang digunakan dalam penelitian ini adalah jenis ekstrak daun ndok-ndokan.

2. Variabel terikat

Variabel terikat yang digunakan dalam penelitian ini adalah fenolat total, flavonoid total, aktivitas antioksidan, dan aktivitas penghambatan enzim α -amilase.

3. Variabel terkontrol

Variabel terkontrol pada penelitian ini adalah metode ekstraksi, metode penentuan fenolat total, metode penentuan flavonoid total, metode pengujian aktivitas antioksidan dan metode pengujian aktivitas penghambatan enzim α -amilase

3.5 Definisi Operasional

Definisi operasional dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

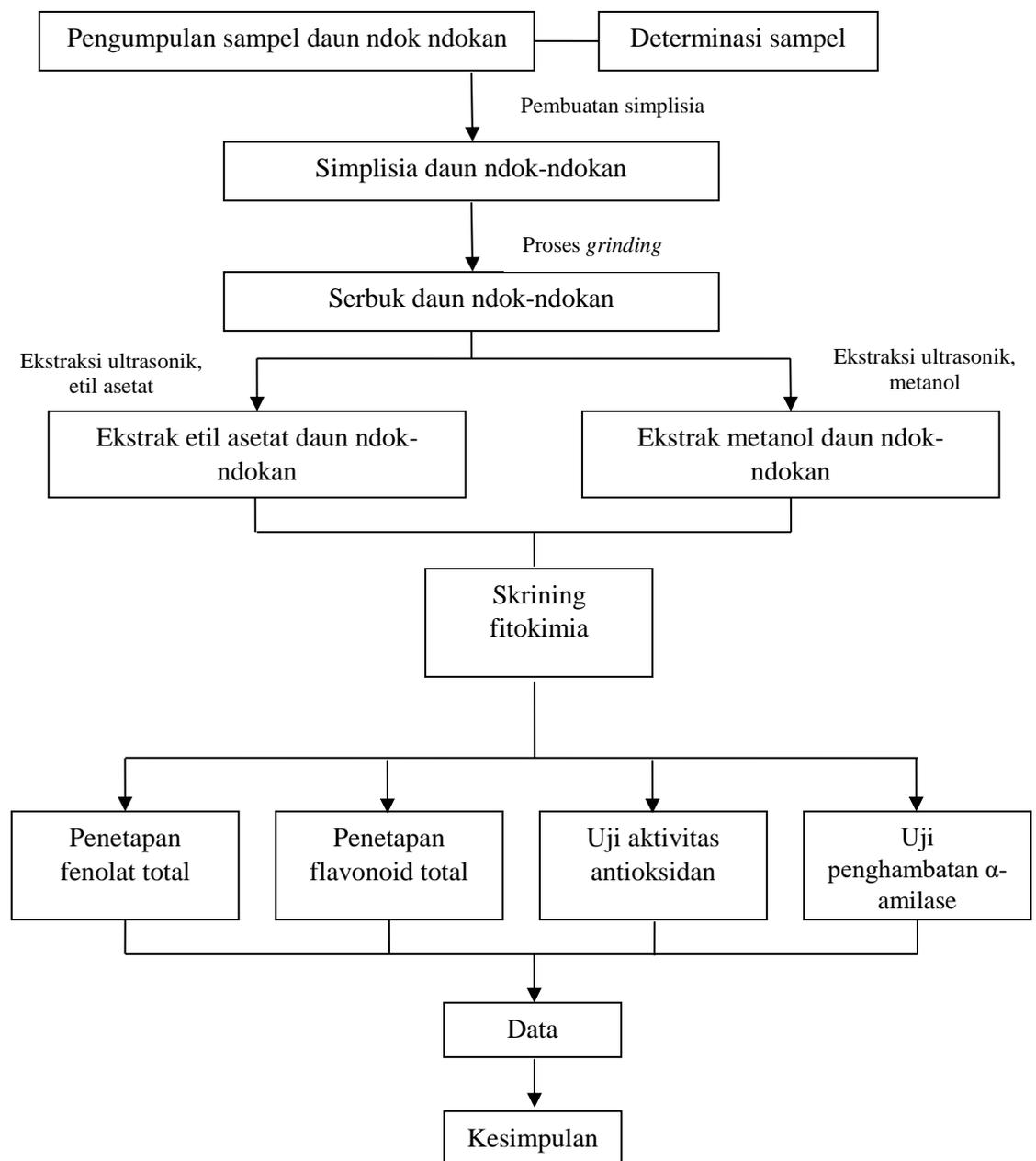
1. Daun ndok-ndokan diperoleh dari Taman Nasional Meru Betiri dan sudah divalidasi oleh Balai Taman Nasional Meru Betiri dengan nomor surat: S.02/T.15/TU/SATS-DN/02/1018. Daun kemudian dideterminasi di Kebun Raya Purwodadi (LIPI).
2. Daun ndok-ndokan yang digunakan berasal dari tumbuhan yang telah besar dan berbunga. Pengambilan daun dilakukan secara acak tanpa membedakan daun muda dan daun tua.
3. Analisis kandungan fenolat total menggunakan Folin-Ciocalteu 1:10 dan Na_2CO_3 7,5% dengan standar asam galat. Kandungan total fenolat yang diukur setara dengan asam galat atau mg galic acid equivalent (GAE) per gram ekstrak.
4. Analisis kandungan flavonoid total menggunakan AlCl_3 dan kalium asetat dengan standar kuersetin. Kandungan total flavonoid yang diukur setara dengan kuersetin atau mg quersetin equivalent (QE) per gram ekstrak.
5. Uji aktivitas antioksidan adalah kemampuan suatu senyawa untuk meredam warna DPPH yang dinyatakan dengan nilai IC_{50} .
6. Uji penghambatan enzim α -amilase menggunakan substrat pati dengan kontrol positif akarbosa.

3.6 Rancangan Percobaan

Tahap awal penelitian ini yaitu pengambilan sampel (daun ndok-ndokan) di TNMB. Kemudian tahap selanjutnya pembuatan simplisia dan dilakukan ekstraksi dengan metode ultrasonik menggunakan dua pelarut etil asetat (semi polar) dan metanol (polar) yang berbeda tingkat kepolarannya. Ekstrak caik yang didapat kemudian dihilangkan pelarutnya dengan menggunakan rotary evaporator untuk memperoleh ekstrak kental. Selanjutnya dilakukan penentuan kadar fenolat total, flavonoid total, aktivitas antioksidan, dan uji aktivitas antidiabetes dengan penghambatan enzim α -amilase.

3.7 Alur Penelitian

Alur penelitian yang dilakukan dapat dilihat pada Gambar 3.1



Gambar 3.1 Diagram Alur Penelitian

3.8 Alat dan Bahan

3.8.1 Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain: grinder, rotary evaporator (Steroglass Strike 300), spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu), mikropipet (Socorex), tip, pH meter (Denver Instrument), hot plate, kuvet disposable, timbangan analitik (Sartorius), ultrasonic cleaner (Elmasonic), corong Buchner, oven, stopwatch, dan seperangkat alat gelas.

3.8.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain : daun ndok-ndokan (*X. vitellinum*), etil asetat, metanol , akuades, reagen *Folin-Ciocalteu* (Merck), kertas saring, aluminium foil, difenilpicrilhidrazil/DPPH (Sigma-Aldrich), vitamin C (PT Brataco), Na_2CO_3 (Bratako Ermika), asam galat (Sigma-Aldrich), aluminium klorida (Merck), kuersetin (Sigma-Aldrich), buffer fosfat (Merck), pati (Merck KGaA), akarbosa (Glucobay), enzim α -amilase (dari porcine, Sigma Aldrich), asam 3,5-dinitrosalisilat (Sigma-Aldrich No katalog D0550), natrium kalium tartrat (Na-K Tartrat), natrium hidroksida (NaOH), natrium dihidrogen fosfat (NaHPO_4), akuabides, lempeng KLT (kiesel gel GF 254), pereaksi Dragendorf, kapas, amonia, heksana, anisaldehyda asam sulfat, etanol, butanol, asam asetat glasial, toluena, aseton, asam formiat, FeCl_3 , gelatin.

3.9 Prosedur Penelitian

3.9.1 Penyiapan Simplisia

Sampel daun ndok-ndokan diambil dari Taman Nasional Meru Betiri dan disortasi basah. Kotoran-kotoran yang terdapat pada daun kemudian dicuci dengan air mengalir. Daun lalu dikeringkan dengan cara diangin-anginkan di bawah AC tanpa terkena sinar matahari langsung selama 5 hari hingga diperoleh bahan kering. Simplisia kemudian disortasi kering untuk menghilangkan bagian yang tidak diperlukan. Selanjutnya simplisia diserbuk dengan grinder kemudian diayak untuk memperoleh ukuran yang homogen. Serbuk simplisia yang diperoleh kemudian diekstrak dengan metode ultrasonik.

3.9.2 Pembuatan Ekstrak

Serbuk simplisia daun ndok-ndokan diekstraksi menggunakan ultrasonik dengan dua pelarut yang berbeda tingkat kepolarannya yaitu etil asetat (semi polar), metanol (polar) perbandingan 1:10 b/v. Sebanyak 50 gram serbuk ditimbang dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer kemudian ditambah pelarut sebanyak 500 mL. Serbuk kemudian diultrasonik selama 60 menit. Kemudian dilakukan penyaringan dengan bantuan corong buchner untuk memisahkan filtrat dengan residu. Filtrat kemudian dikumpulkan dan dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental. Ekstrak kental lalu dikeringkan dalam oven pada suhu $\pm 40^{\circ}\text{C}$. Perhitungan rendemen ditentukan berdasarkan persentase bobot (b/b) antara rendemen dengan bobot serbuk simplisia yang digunakan dalam penimbangan (Kemenkes RI, 2000).

$$\% \text{ Rendemen ekstrak} = \frac{\text{berat ekstrak yang diperoleh}}{\text{berat bahan yang diekstrak}} \times 100\%$$

3.9.3 Skrining Fitokimia

a. Identifikasi Golongan Senyawa Alkaloid

Penyiapan sampel dalam identifikasi golongan senyawa alkaloid yaitu ekstrak sebanyak 0,3 gram ditambah dengan 5 mL HCl 2 N, sampel diaduk dan didinginkan pada temperatur ruang. Setelah dingin ditambah 0,3 gram NaCl, diaduk rata kemudian disaring. Filtrat yang diperoleh ditambah 5 mL HCl 2 N.

Selanjutnya dilakukan identifikasi golongan senyawa alkaloid dengan kromatografi lapis tipis (KLT) yaitu larutan hasil penyiapan sampel ditambah NH_4OH 28% sampai larutan menjadi basa dan didiamkan selama 30 menit, kemudian diekstraksi dengan 5 mL kloroform bebas air, lalu disaring. Filtrat diuapkan sampai kering, kemudian dilarutkan dalam metanol dan siap untuk pemeriksaan dengan KLT pada kondisi:

Fase diam : kiesel gel GF 254

Fase gerak : etil asetat:metanol:air (9:2:2)

Penampak noda : pereaksi Dragendorf

Jika timbul warna jingga menunjukkan adanya alkaloid dalam ekstrak.

b. Identifikasi Golongan Senyawa Glikosida Saponin, Steroid dan Triterpenoid

Ekstrak sebanyak 0,5 gram ditambah 5 ml HCl 2 N, dididihkan dan tutup dengan corong berisi kapas basah selama 2 jam untuk menghidrolisis saponin. Setelah dingin dinetralkan dengan amonia, kemudian diekstraksi dengan 3 mL heksana sebanyak 3 kali, lalu larutan diuapkan sampai tinggal 0,5 mL, kemudian ditotolkan pada pelat KLT dengan kondisi:

Fase diam : kiesel gel GF 254

Fase gerak : heksana:etil asetat (4:1)

Penampak noda : anisaldehyda asam sulfat (dipanaskan)

Jika terjadi perubahan warna merah ungu menunjukkan adanya saponin triterpenoid dan steroid.

c. Identifikasi Golongan Senyawa Flavonoid

Penyiapan sampel dalam identifikasi senyawa golongan flavonoid yaitu 0,3 gram ekstrak dikocok dengan 3 mL heksana berkali-kali sampai ekstrak heksana tidak berwarna kemudian filtrat dilarutkan dalam etanol.

Selanjutnya dilakukan identifikasi senyawa golongan flavonoid dengan kromatografi lapis tipis (KLT) yaitu larutan hasil penyiapan sampel ditotolkan pada fase diam, uji KLT dengan kondisi:

Fase diam : kiesel gel GF 254

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

Penampak noda : sitrat borat (dipanaskan)

Adanya flavonoid ditunjukkan dengan timbulnya noda berwarna kuning intensif.

d. Identifikasi Golongan Senyawa Polifenol

Penyiapan sampel dalam identifikasi golongan senyawa polifenol yaitu 0,3 gram ekstrak ditambah 10 mL akuades panas, diaduk dan dibiarkan sampai temperatur kamar, lalu ditambahkan 3-4 tetes 10% NaCl, diaduk, dan disaring.

Selanjutnya dilakukan identifikasi golongan senyawa polifenol dengan kromatografi lapis tipis (KLT) yaitu larutan hasil penyiapan sampel ditotolkan pada fase diam. Uji KLT dengan kondisi:

Fase diam : kiesel gel GF 254

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

Penampakan noda : pereaksi FeCl_3

Jika timbul noda warna hitam menunjukkan adanya polifenol dalam ekstrak.

e. Identifikasi Golongan Senyawa Tanin

Penyiapan sampel dalam identifikasi golongan senyawa tanin yaitu ekstrak ditambahkan beberapa tetes FeCl_3 , kemudian diamati perubahan warna yang terjadi. Jika terjadi perubahan warna hijau, ungu, biru atau hitam menunjukkan adanya tanin (Mamta dkk., 2012).

3.9.4 Penetapan Kadar Fenolat Total

Penetapan kadar fenolat total ekstrak daun ndok-ndokan dilakukan berdasarkan Lim dan Murtijaya (2007) dengan modifikasi:

a. Pembuatan Baku Standar Asam Galat

Larutan induk asam galat dibuat dengan menimbang 25 mg asam galat kemudian dimasukkan labu ukur 25 mL lalu dilarutkan dalam metanol sampai tanda batas sehingga diperoleh konsentrasi larutan baku 1000 $\mu\text{g/mL}$. Larutan baku kemudian diencerkan sehingga diperoleh konsentrasi 20-120 $\mu\text{g/mL}$.

b. Pembuatan Larutan Uji

Ekstrak metanol dan etil asetat masing-masing ditimbang sebanyak 25 mg dan dilarutkan dalam metanol hingga volume 25 mL dalam labu ukur sehingga diperoleh konsentrasi ekstrak 1000 $\mu\text{g/mL}$. Kemudian larutan ekstrak diencerkan sehingga diperoleh konsentrasi ekstrak 200 $\mu\text{g/mL}$.

c. Penentuan Panjang Maksimal

Asam galat diambil sebanyak 150 μL , kemudian ditambah 750 μL reagen *Folin-Ciocalteu* (1:10) dan didiamkan selama 6 menit. Larutan selanjutnya ditambah 600 μL larutan Na_2CO_3 7,5%. Campuran dikocok sampai homogen dan diinkubasi pada suhu ruang selama 50 menit. Serapan diukur dengan spektrofotometer UV-Vis yang diatur panjang gelombang 400-800 nm.

d. Penentuan Waktu Inkubasi

Larutan uji dan larutan standar asam galat masing-masing diambil sebanyak 150 μL kemudian ditambah dengan 750 μL reagen *Folin ciocalteu* (1:10) dan didiamkan selama 6 menit. Selanjutnya ditambah 600 μL larutan Na_2CO_3 7,5%.

Campuran dikocok sampai homogen dan diamati absorbansinya pada panjang gelombang maksimumnya mulai menit ke 0 sampai menit ke 70 dengan selang waktu 5 menit.

e. Penetapan Kadar Fenolat Total

Dipipet 150 μL larutan uji dan larutan standar asam galat, lalu ditambah 750 μL reagen Folin-Ciocalteu (1:10) dan didiamkan selama 6 menit. Kemudian ditambahkan 600 μL Na_2CO_3 7,5 % dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 762 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Nilai absorbansi yang diperoleh dimasukkan ke dalam persamaan regresi larutan standar asam galat sehingga diperoleh kadar fenol total yang ditunjukkan dengan milligram asam galat ekuivalen per gram ekstrak (mgGAE/g ekstrak).

3.9.5 Penetapan Kadar Flavonoid Total

a. Pembuatan Larutan Standar

Ditimbang 25 mg standar kuersetin dan dimasukkan labu ukur 25 mL lalu dilarutkan dalam etanol sampai tanda batas sehingga diperoleh konsentrasi larutan baku 1000 $\mu\text{g/mL}$. Selanjutnya dilakukan pengenceran larutan induk kuersetin dengan memipet sejumlah tertentu larutan induk, kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur dan ditambah etanol sampai tepat tanda, dan diperoleh konsentrasi pada rentang 20-120 $\mu\text{g/mL}$.

b. Pembuatan Larutan Uji

Ditimbang sebanyak 20 mg sampel dan dilarutkan dalam etanol hingga volume 10 mL dalam labu ukur sehingga diperoleh konsentrasi ekstrak 2000 $\mu\text{g/mL}$.

c. Penentuan Panjang Gelombang Maksimal

Penentuan panjang gelombang maksimum dilakukan dengan memipet 500 μL standar kuersetin dengan 1500 μL etanol. Kemudian ditambah 100 μL aluminium klorida 10%, 100 μL kalium asetat 1M dan akuades sampai batas 5 mL. Campuran dikocok sampai homogen dan diinkubasi selama 20 menit. Serapan diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 200-600 nm.

d. Penentuan Waktu Inkubasi

500 μ L larutan uji dan larutan standar dipipet, lalu dilarutkan dengan etanol 1500 μ L. Kemudian ditambah 100 μ L aluminium klorida 10%, 100 μ L kalium asetat 1M dan akuades sampai batas 5 mL. Campuran dikocok sampai homogen dan diamati absorbansinya pada panjang gelombang maksimumnya mulai menit ke-0 sampai ke-60 dengan selang waktu 5 menit.

e. Penetapan kadar flavonoid Total

Penetapan kadar flavonoid total dilakukan dengan cara memipet 500 μ L larutan uji ekstrak kemudian dimasukkan labu ukur 5 mL. Lalu ditambahkan 500 μ L etanol, 100 μ L aluminium klorida 10%, 100 μ L kalium asetat 1M dan akuades sampai batas 5 mL. Diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum dan waktu optimumnya. Nilai absorbansi yang diperoleh dari masing-masing konsentrasi larutan ekstrak dimasukkan ke dalam persamaan regresi larutan standar kuersetin sehingga diperoleh kadar flavonoid total yang ditunjukkan dengan milligram kuersetin ekuivalen per gram ekstrak (mgQE/ekstrak).

3.9.6 Pengujian Aktivitas Antioksidan dengan metode DPPH

Pengujian aktivitas antioksidan ekstrak etil asetat dan metanol daun ndokndokan dengan DPPH dilakukan berdasarkan Molyneux (2004) dengan beberapa modifikasi:

a. Pembuatan Larutan Vitamin C

Ditimbang sebanyak 25 mg vitamin C kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 25 mL dan dilarutkan dengan metanol sampai tanda batas sehingga diperoleh konsentrasi vitamin C sebesar 1000 μ g/mL. Larutan kemudian dipipet lalu dimasukkan labu ukur dan ditambah metanol sejumlah tertentu sehingga konsentrasi vitamin C 5-30 μ g/mL.

b. Pembuatan larutan DPPH

Sebanyak 1 mg serbuk DPPH dimasukkan ke dalam labu ukur 25 mL lalu dilarutkan dengan metanol sampai batas volume sehingga diperoleh konsentrasi 0,1 mM. Larutan ini kemudian disimpan dalam botol gelap dan untuk setiap pengujian dibuat ulang.

c. Pembuatan Larutan Uji Ekstrak

Masing-masing ekstrak ditimbang sejumlah 20 mg dan 30 mg kemudian dimasukkan dalam labu ukur 10 mL. Ekstrak kemudian dilarutkan dengan metanol sampai tanda batas sehingga diperoleh konsentrasi 2000 µg/mL dan 3000 µg/mL. Kemudian dilakukan pengenceran dengan memipet sejumlah tertentu larutan sehingga diperoleh konsentrasi 20-1300 µg/mL.

d. Penentuan Panjang Gelombang Maksimal DPPH

Panjang gelombang maksimum ditentukan dengan mengambil 300 µL larutan DPPH 0,1 mM kemudian ditambahkan 1200µL metanol. Campuran dikocok hingga homogen dan diinkubasi selama 30 menit pada suhu ruang dalam tempat gelap. Serapan diukur dengan spektrofotometer UV-Vis yang telah diatur panjang gelombangnya dari 400-600 nm (Molyneux, 2004).

e. Penentuan waktu inkubasi

Penentuan waktu inkubasi dilakukan dengan memipet 300µL larutan sampel dan vitamin C ditambahkan dengan 1200µL larutan DPPH 0,1 mM. Larutan diamati pada panjang gelombang maksimum mulai menit ke-0 sampai menit ke-60 selang 5 menit.

f. Penetapan Aktivitas Antioksidan Larutan Uji dan Vitamin C

Penetapan aktivitas antioksidan dilakukan dengan cara memipet 300µL larutan uji dan vitamin C lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan kemudian ditambah 300µL larutan DPPH 0,1 mM. Campuran selanjutnya dikocok dan diinkubasi. Larutan ini selanjutnya diukur pada panjang gelombang maksimumnya.

g. Perhitungan

Perhitungan untuk menentukan persen peredaman larutan uji dan vitamin C digunakan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{peredaman} = \frac{\text{Abs DPPH} - \text{Abs larutan uji}}{\text{Abs DPPH}} \times 100\%$$

Setelah diperoleh %peredaman kemudian dibuat kurva baku antara konsentrasi larutan uji sebagai x dengan peredaman DPPH sebagai y, setelah itu persamaan regresi dibuat, yaitu :

$$y = Bx + A$$

Dari persamaan tersebut kemudian dihitung IC_{50} dengan memasukkan nilai 50 pada y (Zuhra dkk, 2008). IC_{50} dari larutan uji yang merupakan konsentrasi efektif untuk meredam aktivitas radikal bebas larutan DPPH sebesar 50%.

3.9.7 Pengujian Aktivitas Antidiabetes

a. Penyiapan larutan

Larutan pereaksi yang digunakan dalam pengujian aktivitas antidiabetes antara lain:

1. Larutan dapar fosfat pH 6,9

Larutan dapar fosfat pH 6,9 dibuat dengan cara mencampurkan 245 mL Na_2HPO_4 0,1 M (15,84 gram dalam akuabides 600 mL) dengan 255 mL NaH_2PO_4 0,1 M (6,90 gram dalam akuabides 500 mL).

2. Larutan natrium hidroksida (NaOH) 2 M

Larutan natrium hidroksida 2 M dibuat dengan cara menimbang 2 gram NaOH kemudian ditambahkan akuabides ad labu ukur 25 mL.

3. Reagen 3,5-dinitrosalisilat (DNS)

Reagen DNS dibuat dengan cara melarutkan 30 gram potassium sodium tartrate dalam 20 mL NaOH 2M dan dipanaskan sampai larut. Kemudian melarutkan 1,095 gram 3,5-dinitrosalisilat (DNS) dengan akuabides dalam labu ukur 50 mL. Larutan potassium sodium tartrate dan larutan DNS kemudian dicampur dan ditambah akuabides dalam labu ukur 100 mL.

4. Larutan enzim α -amilase

Larutan enzim α -amilase dibuat dengan cara menimbang 20 gram enzim kemudian dilarutkan dalam dapar fosfat 6,9 sampai 10 mL untuk mendapatkan konsentrasi enzim 20 U/mL.

5. Larutan substrat pati 0,5%

Larutan substrat pati 0,5% dibuat dengan cara menimbang 0,05 gram pati kemudian ditambah larutan dapar fosfat pH 6,9 dalam labu ukur 10 mL. Larutan pati kemudian dipanaskan di atas hotplate \pm 5-10 menit sampai larut.

b. Penentuan Aktivitas Antidiabetes

Metode penentuan aktivitas antidiabetes dilakukan dengan kontrol positif (akarbosa), kontrol negatif (tanpa sampel atau standar), dan larutan sampel (ekstrak ndok-ndokan). Masing-masing larutan ditambah larutan dapar, ekstrak, dan enzim dengan jumlah berbeda. Kemudian diinkubasi pada suhu 25°C selama 10 menit. Kemudian ditambah substrat pati 0,5% b/v ke dalam campuran dan diinkubasi kembali selama 10 menit pada suhu yang sama. Setelah itu ditambahkan reagen pewarna DNS dan dipanaskan dalam air mendidih selama 15 menit di atas hot plate. Campuran kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang 540 nm dengan replikasi 3x. Jumlah larutan yang digunakan dalam masing-masing campuran, dapat dilihat pada Tabel 3.1

Tabel 3.1 Tabel Volume Larutan Uji Aktivitas Antidiabetes

Larutan	Dapar (μL)	Ekstrak (μL)	Enzim (μL)	Substrat (pati) (μL)	Akarbosa (μL)	DNS (μL)
A	375	-	25	100	100	400
B	400	-	-	100	100	400
C	475	-	25	100	-	400
D	500	-	-	100	-	400
E	375	100	25	100	-	400
F	400	100	-	100	-	400

Keterangan :

Larutan A = kontrol positif dengan akarbosa

Larutan B = blanko kontrol positif

Larutan C = kontrol negatif

Larutan D = blanko kontrol negatif

Larutan E = larutan uji

Larutan F = blanko larutan uji

c. Perhitungan IC_{50}

Nilai penghambatan IC_{50} enzim α -amilase pada masing-masing ekstrak dihitung dengan persamaan di bawah ini

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

Keterangan :

K = Absorbansi kontrol negatif

S = Absorbansi sampel/ kontrol positif

IC_{50} dihitung menggunakan persamaan regresi linier dengan konsentrasi sampel sebagai sumbu x dan % inhibisi sebagai sumbu y. persamaan regresi linier $y=bx+a$ kemudian digunakan untuk menentukan IC_{50} dengan persamaan berikut

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

BAB 5. PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa :

1. Ekstrak metanol daun ndok-ndokan positif mengandung golongan senyawa saponin, steroid, triterpenoid, flavonoid, polifenol dan tanin. Ekstrak etil asetat positif mengandung mengandung saponin, steroid, triterpenoid, flavonoid dan polifenol. Kedua ekstrak negatif mengandung alkaloid.
2. Kadar fenolat total dalam ekstrak metanol dan etil asetat daun ndok-ndokan yaitu sebesar $250,7 \pm 0,712$ mg GAE/g ekstrak dan $94,77 \pm 1,625$ mg GAE/g ekstrak. Kadar flavonoid total dalam ekstrak metanol dan etil asetat yaitu sebesar $59,87 \pm 0,028$ mg QE/g ekstrak dan $23,75 \pm 0,646$ mg QE/g ekstrak.
3. Nilai IC_{50} uji antioksidan ekstrak metanol daun ndok-ndokan $56,90 \pm 1,972$ $\mu\text{g/mL}$ dan etil asetat $228,7 \pm 5,524$ $\mu\text{g/mL}$. Nilai IC_{50} uji antidiabetes dengan penghambatan enzim α -amilase untuk ekstrak metanol $760,3 \pm 12,98$ $\mu\text{g/mL}$ dan ekstrak etil asetat $2827 \pm 15,62$ $\mu\text{g/mL}$.

5.2 Saran

Berdasarkan penelitian ini, ekstrak yang memiliki aktivitas tertinggi sebagai antioksidan dan penghambat enzim α -amilase adalah ekstrak metanol sehingga perlu dilakukan pengujian lebih lanjut untuk mengetahui senyawa aktif yang berperan dalam ekstrak tersebut serta penentuan kinetika penghambatan enzim α -amilase. Selain itu perlu dilakukan penentuan aktivitas penghambatan α -glukosidase.

DAFTAR PUSTAKA

- Alagammal M, Nishanthini A, Mohan VR. 2012. Antihyperglycemic and antihyperlipidaemic effect of *Polygala rosmarinifolia* wright & arn on alloxan induced diabetic rats. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. 2: 143-148.
- Alfian, R. dan H. Susanti. 2012. Penetapan kadar fenolat total ekstrak metanol kelopak bunga rosella merah (*Hibiscus sabdariffa* Linn) dengan variasi tempat tumbuh secara spektrofotometri. *Jurnal Ilmiah Kefarmasian*. 2(1): 73-80.
- Al-rifai, A. 2018. Identification and evaluation of *in-vitro* antioioxidant phenolic compounds from *Calendula tripterocarpa* Rupr. *South African Journal of Botany*. 238-244.
- Arseculeratne, S.N., A.A Leslie Gunatilaka, dan Ralph G.Panabokke. 1985. Studies on medicinal plants of sri lanka part 14: toxicity of some traditional medicinal herbs. *Journal of Ethnopharmacology*. 13(1): 3323-335.
- Asgar, Md Ali. 2013. Antidiabetic potential of phenolic compound: a review. *International Journal of Food Properties*. 16(1): 91-103.
- Azizah, D.N., E. Kumolowati, dan F. Faramayuda. 2012. Penetapan flavonoid metode $AlCl_3$ pada ekstrak metanol kulit buah kako (*Theobroma cacao* L.). *Kartika Jurnal Ilmiah Farmasi*. 2(2): 45-49.
- American Diabetic Association's. 2014. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*. 37(1):81-90.
- Bahadoran, Zahra; Mirmiran, Parvin; Azizi, F. 2013. Dietary polyphenols as potential nutraceuticals in management of diabetes: a review. *Journal of Diabetes & Metabolic Disorders*. 12:1-9.
- Cai, Y., Q. Luo, M. Sun, dan H. Corke. 2004. Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional chinese medicinal plants associated with anticancer. *Life Sciences*. 74(17):2157-2184.

- Chandra, S., S. Khan, B. Avula, H. Lata, M. H. Yang, M. A. Elsohly, dan I. A. Khan. 2014. Assessment of total phenolic and flavonoid content, antioxidant properties, and yield of aeroponically and conventionally grown leafy vegetables and fruit crops: a comparative study. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2014.
- Chang, C.-C., M.-H. Yang, dan H.-M. Wen. 2002. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of Food and Drug Analysis*. 10(3):178–182.
- Dai, J. dan R. J. Mumper. 2010. Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules*. 15(10):7313–7352.
- Daisy, P., R. Jasmine, S. Ignacimuthu, E.Murugun. 2009. A novel steroid from *Elephantopus scaber* L. an ethnomedicinal plant with antidiabetic activity. *Phytomedicine*. 252-257.
- da Silva, L.A.L., B.R. Pezzini, dan L. Soares. 2015. Spectrophotometric determination of the total flavonoid content in *Ocimum basilicum* L. (Lamiaceae) leaves. *Pharmacognosy Magazine*. 11(41): 96-101.
- Depkes RI. 2000. *Parameter standar umum ekstrak tumbuhan obat*. Jakarta: Depkes RI.
- Effendy. 2007. *Perspektif Baru Kimia Koordinasi*. Malang: Bayumedia Publishing.
- Elya, B. Handayani, R. Sauriasari, R. Azizahwati. Hasyati, U.S. Permana, I.T, dan Permatasari, Y.I. 2015. Antidiabetic activity and phytochemical scearing of extract from indonesian by inhibition of aplha amylase, alpha glucosidase and dipeptidyl peptidase IV. *Pakistan Journal of Biological Sciences*. 16(6): 279-284.
- Fadillah, Arief. Agung Rahmadani. Laode Rijai. 2017. Analisis kadar total flavonoid dan uji aktivitas antioksidan ekstrak daun kelubut (*Passiflora foetida* L.). Proceeding of the 5th Mulawarman Pharmaceuticals Conferences. 23-24 April 2017. 28-37.

- Firdiyani, F., T.W. Agustini, dan W.F. Ma'ruf. 2015. Ekstraksi senyawa bioaktif sebagai antioksidan alami *Spirulina plantesis* segar dengan pelarut berbeda. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 18(1): 28-37.
- Fossum, K. dan J. R. Whitaker. 1972. Simple method for detecting alpha-amylase inhibitors in biological materials. 3:930–936.
- Fuwa, H. 1954. A new method for microdetermination of amylase activity by the use of amylose as the substrat. *The Journal of Biochemistry*.
- Gurav, S., N. Deshkar, V. Gulkari, N. Duragkar, dan A. Patil. 2007. Free radical scavenging activity of *Polygala chinensis* Linn. *Pharmacologyonline*. 245-253.
- Halliwell, B. 2006. Reactive species and antioxidants. redox biology is a fundamental theme of aerobic life. *Plant Physiology*. 141(2):312–322.
- Hamburger, M., M.Gupta, dan K. Hostettmann. 1985. Flavonol glycosides from *Securidaca diversifolia*. *Phytochemistry*. 24(11): 2689-2692.
- Handayani, Hana., F. H. Sriherfyna, Yunianta. 2016. Ekstraksi antioksidan daun sirsak metode ultrasonic bath (kajian rasio bahan: pelarut dan lama ekstraksi). *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. 4(1): 262-272.
- Harborne, J. B. 1998. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan. Diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata dan Imam Sudiro, Edisi II*. Hal 4-7:69-76. Bandung: ITB.
- Houhgton, P.J dan A.Raman. 1998. *Laboratory Handbook of the Fractination of Natural Extracts*.
- Kamtekar, S., V. Keer, dan V. Patil. 2014. Estimation of phenolic content, flavonoid content, antioxidant and alpha amylase inhibitory activity of marketed polyherbal formulation. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. 4(9):61–65.
- Khairunnisa, P. 2017. Pengembangan dan Validasi Metode Uji Aktivitas Inhibitor

α -amilase dari Ekstrak Metanol Daun Kopi Secara in Vitro. *Skripsi*. Jember: Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Koes, Ronald E., Quottrochio, Francesca, Mol, J. N. M. 1994. Flavonoid biosynthesis. *BioEssays*. 16(2):123–132.

Lacaille-Dubois, M dan A. Mitaine-Offer. 2005. Triterpene saponins from polygalaceae. *Phytochemistry Reviews*. 4(1):139-149.

Lin, D., M. Xiao, J. Zhao, Z. Li, B. Xing, X. Li, M. Kong, L. Li, Q. Zhang, Y. Liu, H. Chen, W. Qin, H. Wu, dan S. Chen. 2016. An overview of plant phenolic compounds and their importance in human nutrition and management of type 2 diabetes. *Molecules*. 21(10).

Lee SE, Hwang HJ, Ha JS, Jeong HS dan Kim JH. 2003. Screening of medicinal plant extract for antioxidant activity. *Life Sci*. 73:167-169.

Lim, Y.Y dan Murtijaya. 2007. Antioxidant properties of *Phyllanthus amarus* extracts as affected by different drying methods. *LWT*. 1664-1669.

Lobo, V., A. Patil, A. Phatak, dan N. Chandra. 2010. Free radicals, antioxidants and functional foods: impact on human health. *Pharmacognosy Reviews*. 4(8):118.

Lopez, M., F. Martinez., C. Del Valle., M. Ferrit., R. Luque. 2003. Study o phenolic compounds as natural antioxidants by a luorescence method. *Talanta*. 609-616.

Mahboubi, M., G. Hagi, N. Kazempour, dan A. R. Hatemi. 2013. Total phenolic content, antioxidant and antimicrobial activities of *Blepharis edulis* extracts. *Songklanakar J. Sci. Technol*. 35(1): 11-16.

Maselev, D., dan V.Kuntic. 2007. Investigation of metal-flavonoid chelates and the determination of flavonoids via metal-flavonoid complexing reactions. *Journal of the Serbian chemical society*: 72(10): 921-939.

McClements, D Julian. 1995. Advances in the application of ultrasound in food analysis and processing. *Trends in Food Science & Technology*. 6(9): 292-

299.

McDougall, G. J., F. Shpiro, P. Dobson, P. Smith, A. Blake, dan D. Stewart. 2005. Different polyphenolic components of soft fruits inhibit α -amylase and α -glycosidase. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53(7):2760–2766.

Meijden, R Van Der. 1982. Systematics and evolution of Xanthophyllum (Polygalaceae). Leiden: Leiden University Press.

Minarno, E. B. 2015. Skrining fitokimia dan kandungan total flavonoid pada buah *Carica pubescens* Lenne & K.Koch di kawasan bromo, cangar, dan dataran tinggi dieng. *El-Hayah*. 5(2): 73-82.

Moein, S. Pimoradloo, E. Moein, M, dan Vessal. 2017. Evaluation of antioxidant potentials and α -amylase inhibition of different fractions of Labiatae Plants Extracts: as a model of antidiabetic compounds properties. *BioMed Research International*. 7(1): 1-8.

Moldovan, Z., M. Buleandra, E. Oprea, dan Z. Minea. 2017. Studies on chemical composition and antioxidant activity of *Rudbeckia triloba*. *Journal of Analytical Methods in Chemistry*. 1-8.

Molyneux, P. 2004. The use on the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin Journal of Science and Tecnology*. 26(2): 211-219.

Oktora, L., R. Kumala, S. 2006. Pemanfaatan obat tradisional dan keamanannya. *Majalah Ilmu Kefarmasian*. 3(1):1–7.

Paravicini, T. M. dan R. M. Touyz. 2008. NADPH oxidases, reactive oxygen species, and hypertension: clinical implications and therapeutic possibilities. *Diabetes Care*. 31(2).

Payan, F. 2004. Structural basis for the inhibition of mammalian and insect α -amylases by plant protein inhibitors. *Biochimica et Biophysica Acta* 1696. 171-180.

- Pham-Huy, L. A., H. He, dan C. Pham-Huy. 2008. Free radicals, antioxidants in disease and health. *International Journal of Biomedical Science : IJBS*. 4(2):89–96.
- Pietta, P. G. 2000. Flavonoids as antioxidants. *Journal of Natural Products*. 63(7):1035–1042.
- Prangdimurti, E. dan A. R. Julian. 2013. *Inhibisi Alfa-amilase dan Alfa-glukosidase Teh Hijau dipengaruhi oleh Cara Penyeduhan dan Proses Pencernaan. Prosiding Seminar Nasional PATPI*. 26-29 Agustus 2013. 29-37.
- Pribadi, E. 2009. Pasokan dan permintaan tanaman obat indonesia serta arah penelitian dan pengembangannya. *Perspektif*. 8(1):52–64.
- Purwaningsih, S. 2012. Aktivitas antioksidan dan Komposisi Kimia Keong Matah Merah (*Cerithidia obtusa*). *Ilmu Kelautan*. 17(1): 39-48.
- Renhoran N. 2012. Aktivitas Antioksidan dan Antimikroba Ekstrak *Sargassum polycystum*. *Skripsi*. Institut Pertanian Bogor.
- Robinso, T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Terjemahan Kokasih Padmawinata. Bandung: ITB Press.
- Robyt, J. F. 2005. Inhibition, activation, and stabilization of α -amylase family enzymes. *Biologia, Bratislava*. 17-26.
- Ross, J. A. dan C. M. Kasum. 2002. Dietary Flavonoid : bioavailability, metabolic effects, and safety. *Annual Review of Nutrition*. 22(1):19–34.
- Roychan, K. J. dan A. Chaudhari. 2001. Purification and some properties of α -amylase from indian major carp catla catla. *Asian Fisheries Science*. 14:269–277.
- Sales, P. M. De, P. M. De Souza, L. A. Simeoni, dan P. D. O. Magalhães. 2012. α -amylase inhibitors : a review of raw material and isolated compounds from plant source. *Journal of Pharm Pharmaceutical Scilence*. 15(1):141–183.

- Saifudin, A. 2014. *Senyawa Alam Metabolit Sekunder Teori, Konsep, dan Teknik Permuanian*. Yogyakarta: Deepublish.
- Samudra, G. Nugroho, A.E. Husni, A. 2015. Aktivitas inhibisi α -amilase ekstrak karagenan dan senyawa polifenol dari *Eucheuma denticulatum*. *Media Farmasi*. 12(1):83-92.
- Sani, R. N., F. C. Nisa, R. D. Andriani, dan J. M. Maligan. 2014. Analisis rendemen dan skrining fitokimia ekstrak etanol mikroalga laut (*tetraselmis chuii*). *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. 2(2):121–126.
- Sosef, M.S.M, L.T.Hong dan S. Prawirohatmodjo. 1998. PROSEA (Plants Resources of South-East Asia) No 5 (3).
- Subramanian, R. Asmawi, M.Z. Sadikun, A. 2008. In vitro α -glucosidase and α -amylase enzyme inhibitory effects of *Andrographis paniculata* extract and andrographolide. *Acta Biochimica Polonica*. 55(2): 391-398.
- Sumczynski, D., Z. Bubelova, J. Sneyd, S. Erb-Webwr, dan J. Mlcek. 2015. Total phenolics, flavonoidc, antioxidant activity, crude fibre and digestibility in non-traditional wheat flakes and muesli. *Food Chemistry*. 319-325.
- Tadera, K., Y. Minami, K. Takamatsu, Dan T. Matsuoka. 2006. Inhibition of .alpha.-glucosidase and .alpha.-amylase by flavonoids. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*. 52(2):149–153.
- Timerman, A. P. 2012. Protein Purification: The Isolation of Invertase from Baker's Yeast – An Introduction to Protein Purification Strategies. USA: InTech.
- Ukhty N. 2011. Kandungan senyawa fitokimia total fenol dan aktivitas antioksidan Lamun (*Syringodium isoetifolium*). *Skripsi*. Bogor: Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Institut Pertanian Bogor.
- Wang, T., H. Lin, Q. Tu, J. Liu, dan X. Li. 2016. Fisetin protects DNA againts oxidative damage and its possible mechanism. *Advanced Pharmaceutical Bulletin*. 6(2): 267-270.

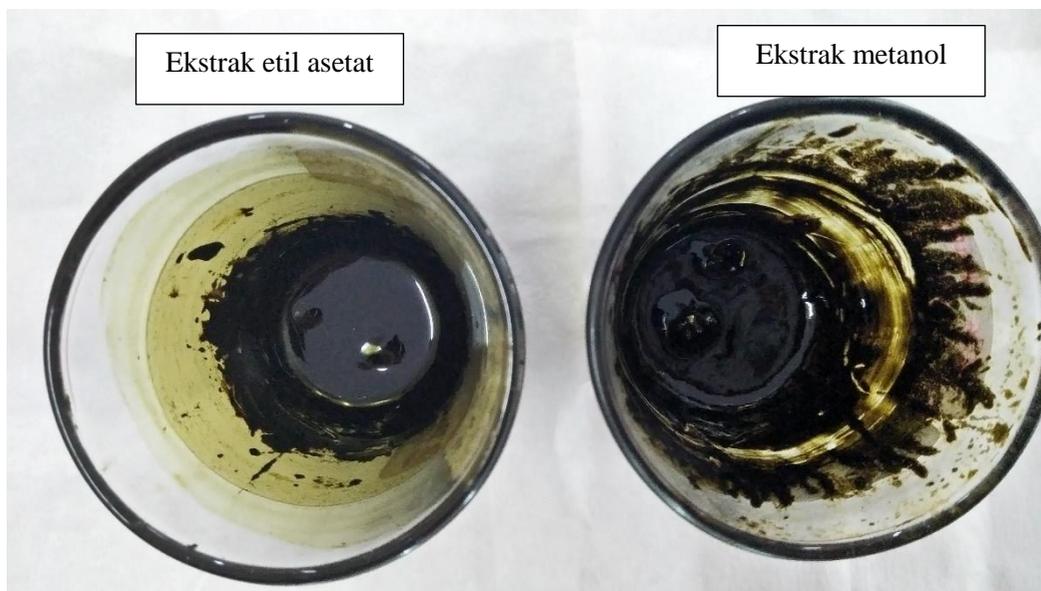
- Wardhani, L. K. dan N. Sulistyani. 2012. Uji aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat daun binahong (*Anredera scandens* (L.) Moq.) terhadap *Shigella flexneri* beserta profil kromatografi lapis tipis. *Jurnal Ilmiah Kefarmasian*. 2(1):1-16.
- Wen, L., Y. Zhao, Y. Jiang, L. Yu, X. Zeng, J. Yang, M.Tian H. Liu, dan B. Yang. 2017. *Free Radical Biology and Medicine*. 110: 92-101.
- Wolfe, K., R. Wu dan R.H. Liu. 2003. Antioxidant activity of apple peels. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 51(3): 609-614.
- Xiao, Z., R. Storms, dan A. Tsang. 2007. A quantitative starch-iodine method for measuring alpha-amylase and glucoamylase activities. *Analytical Biochemistry*. 362(1):154.
- Zuhra, C.F., J.B. Tarigan, dan H.Sitoang. 2008. Aktivitas antioksidan senyawa flavonoid dari daun katuk (*Sauropus androgynus* (L.) Merr.). *Jurnal Biologi Sumatra*. 3(1): 7-10
- Zuraida, Sulistiyani, D. Sajuthi, dan I. H. Suparto. 2017. Fenol, flavonoid, dan aktivitas antioksidan pada ekstrak kulit batang pulai (*Alstonia scholaris* R. Br). *Jurnal Penelitian Hasil Hutan*. 35(3): 211-219.

LAMPIRAN**LAMPIRAN 1****Lampiran 1.1 Perhitungan % Rendemen Ekstrak**

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{bobot ekstrak}}{\text{bobot simplisia}} \times 100\%$$

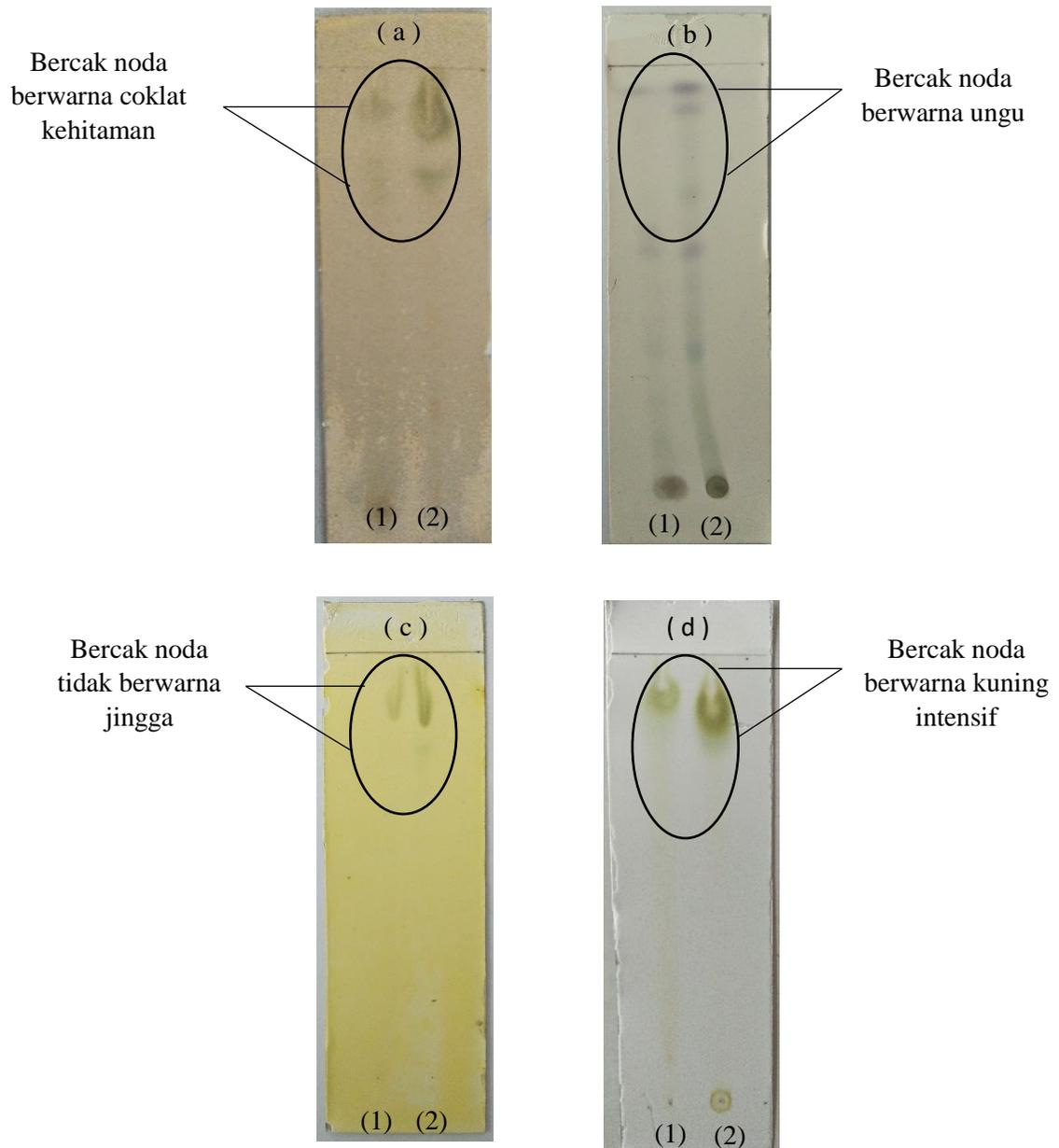
$$\text{Ekstrak metanol daun ndok-ndokan} = \frac{6,770}{50} \times 100\% = 13,54\%$$

$$\text{Ekstrak etil asetat daun ndok-ndokan} = \frac{2,821}{50} \times 100\% = 5,642\%$$



LAMPIRAN 2
HASIL SKRINING FITOKIMIA

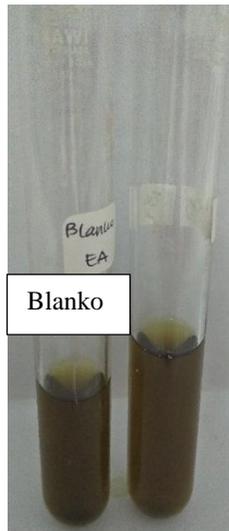
Lampiran 2.1 Hasil Uji Skrining Fitokimia dengan KLT



(a) KLT-polifenol; (b) KLT-saponin, steroid, triterpenoid;
(c) KLT-alkaloid; (d) KLT-flavonoid
(1) Ekstrak etil asetat; (2) Ekstrak metanol

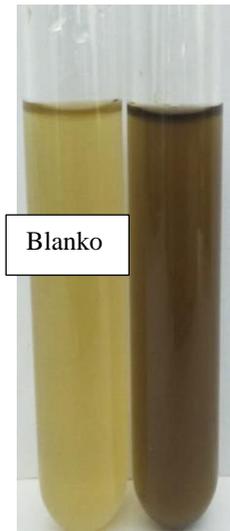
Lampiran 2.2 Hasil Uji Skrining Golongan Senyawa Tanin

Ekstrak etil asetat



Ekstrak ketika ditambah beberapa tetes FeCl_3 → tidak berwarna hijau kehitaman

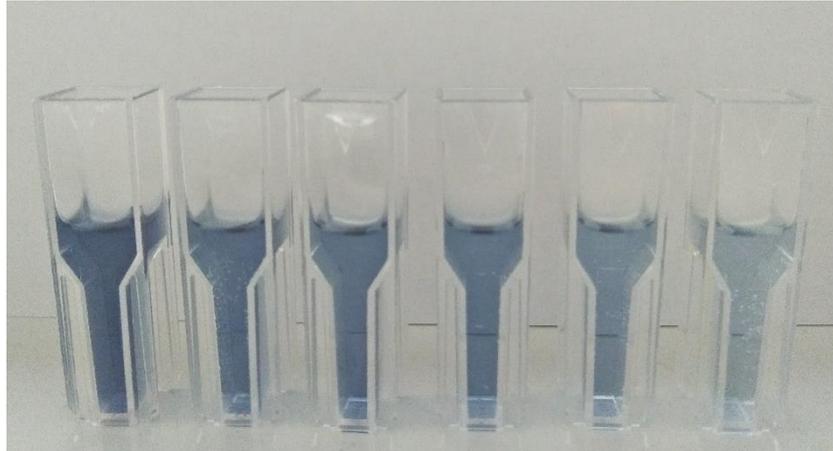
Ekstrak metanol



Ekstrak ketika ditambah beberapa tetes FeCl_3 → ekstrak berwarna hijau kehitaman

LAMPIRAN 3

Lampiran 3.1 Gambar Penetapan Kadar Fenolat Total



Lampiran 3.2 Pembuatan Reagen Folin dan Larutan Na_2CO_3 7,5%

a) *Folin-Ciocalteu* (1:10)

1 mL reagen *Folin-Ciocalteu* dilarutkan dalam 10 mL akuades

b) Larutan Na_2CO_3 7,5%

Ditimbang 7,5 gram Na_2CO_3 dilarutkan dalam akuades ad 100 mL

Lampiran 3.3 Data Absorbansi Panjang Gelombang Maksimum Asam Galat

U-1800 Spectrophotometer

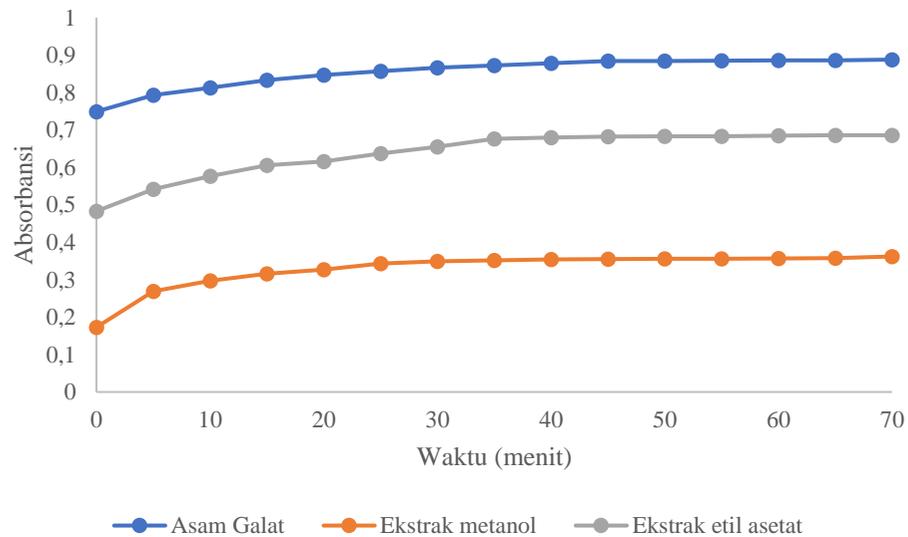
Serial NUM: 5730116
 ROM Version: 07
 Sample Name:
 Date:
 Operator:

Wavelength Scan ABS
 Data Mode: 800.0-400.0nm
 Scan Range:
 Slit Width: 4nm
 Speed(nm/min): 800nm/min
 Lamp Change Wavelength: 340.0nm
 Path Length:

ALL Data							
WL(nm)	ABS	WL(nm)	ABS	WL(nm)	ABS	WL(nm)	ABS
800.0	0.570	799.0	0.570	798.0	0.570	797.0	0.572
796.0	0.575	795.0	0.575	794.0	0.575	793.0	0.575
792.0	0.577	791.0	0.578	790.0	0.580	789.0	0.582
788.0	0.584	787.0	0.585	786.0	0.586	785.0	0.587
784.0	0.588	783.0	0.589	782.0	0.590	781.0	0.591
780.0	0.593	779.0	0.595	778.0	0.596	777.0	0.597
776.0	0.598	775.0	0.598	774.0	0.599	773.0	0.599
772.0	0.598	771.0	0.599	770.0	0.599	769.0	0.599
768.0	0.599	767.0	0.600	766.0	0.601	765.0	0.602
764.0	0.603	763.0	0.604	762.0	0.605	761.0	0.604
760.0	0.603	759.0	0.600	758.0	0.599	757.0	0.599
756.0	0.600	755.0	0.599	754.0	0.598	753.0	0.596
752.0	0.595	751.0	0.594	750.0	0.592	749.0	0.589
748.0	0.587	747.0	0.586	746.0	0.585	745.0	0.583
744.0	0.582	743.0	0.583	742.0	0.582	741.0	0.583
740.0	0.587	739.0	0.593	738.0	0.597	737.0	0.601
736.0	0.605	735.0	0.606	734.0	0.605	733.0	0.604
732.0	0.602	731.0	0.601	730.0	0.600	729.0	0.600
728.0	0.599	727.0	0.598	726.0	0.598	725.0	0.597
724.0	0.596	723.0	0.595	722.0	0.595	721.0	0.594
720.0	0.593	719.0	0.593	718.0	0.592	717.0	0.591
716.0	0.590	715.0	0.589	714.0	0.588	713.0	0.587
712.0	0.586	711.0	0.585	710.0	0.584	709.0	0.584
708.0	0.584	707.0	0.584	706.0	0.582	705.0	0.581
704.0	0.580	703.0	0.579	702.0	0.577	701.0	0.575
700.0	0.573	699.0	0.572	698.0	0.572	697.0	0.572
696.0	0.571	695.0	0.570	694.0	0.568	693.0	0.567
692.0	0.565	691.0	0.564	690.0	0.563	689.0	0.561
688.0	0.560	687.0	0.559	686.0	0.558	685.0	0.558
684.0	0.557	683.0	0.556	682.0	0.555	681.0	0.554
680.0	0.553	679.0	0.552	678.0	0.551	677.0	0.550
676.0	0.549	675.0	0.549	674.0	0.547	673.0	0.546
672.0	0.545	671.0	0.545	670.0	0.545	669.0	0.544
668.0	0.543	667.0	0.543	666.0	0.542	665.0	0.541
664.0	0.540	663.0	0.538	662.0	0.536	661.0	0.534
660.0	0.532	659.0	0.531	658.0	0.531	657.0	0.531
656.0	0.532	655.0	0.532	654.0	0.531	653.0	0.531
652.0	0.531	651.0	0.530	650.0	0.527	649.0	0.524
648.0	0.522	647.0	0.522	646.0	0.524	645.0	0.525
644.0	0.524	643.0	0.524	642.0	0.523	641.0	0.521
640.0	0.519	639.0	0.518	638.0	0.518	637.0	0.516
636.0	0.514	635.0	0.513	634.0	0.511	633.0	0.510
632.0	0.509	631.0	0.507	630.0	0.505	629.0	0.504
628.0	0.504	627.0	0.503	626.0	0.501	625.0	0.500
624.0	0.500	623.0	0.501	622.0	0.501	621.0	0.502
620.0	0.502	619.0	0.501	618.0	0.499	617.0	0.497
616.0	0.495	615.0	0.493	614.0	0.492	613.0	0.491
612.0	0.489	611.0	0.488	610.0	0.488	609.0	0.487
608.0	0.486	607.0	0.484	606.0	0.481	605.0	0.477
604.0	0.475	603.0	0.474	602.0	0.474	601.0	0.474
600.0	0.470	599.0	0.465	598.0	0.462	597.0	0.461
596.0	0.459	595.0	0.460	594.0	0.463	593.0	0.466
592.0	0.470	591.0	0.473	590.0	0.474	589.0	0.476
588.0	0.479	587.0	0.483	586.0	0.487	585.0	0.491
584.0	0.494	583.0	0.501	582.0	0.508	581.0	0.512
580.0	0.511	579.0	0.508	578.0	0.508	577.0	0.508
576.0	0.506	575.0	0.503	574.0	0.500	573.0	0.495
572.0	0.490	571.0	0.484	570.0	0.476	569.0	0.469

568.0	0.464	567.0	0.459	568.0	0.454	565.0	0.449
564.0	0.443	563.0	0.439	562.0	0.436	561.0	0.432
560.0	0.427	559.0	0.423	558.0	0.422	557.0	0.420
556.0	0.416	555.0	0.410	554.0	0.403	553.0	0.400
552.0	0.401	551.0	0.401	550.0	0.399	549.0	0.398
548.0	0.398	547.0	0.400	546.0	0.401	545.0	0.401
544.0	0.401	543.0	0.401	542.0	0.402	541.0	0.402
540.0	0.403	539.0	0.404	538.0	0.406	537.0	0.408
536.0	0.410	535.0	0.412	534.0	0.413	533.0	0.414
532.0	0.416	531.0	0.418	530.0	0.418	529.0	0.419
528.0	0.419	527.0	0.419	526.0	0.417	525.0	0.414
524.0	0.412	523.0	0.410	522.0	0.409	521.0	0.407
520.0	0.405	519.0	0.403	518.0	0.403	517.0	0.404
516.0	0.404	515.0	0.401	514.0	0.398	513.0	0.397
512.0	0.396	511.0	0.394	510.0	0.392	509.0	0.391
508.0	0.388	507.0	0.386	506.0	0.384	505.0	0.382
504.0	0.378	503.0	0.375	498.0	0.375	501.0	0.374
500.0	0.372	499.0	0.370	495.0	0.369	497.0	0.370
496.0	0.370	495.0	0.369	494.0	0.369	493.0	0.367
492.0	0.364	491.0	0.363	490.0	0.361	489.0	0.358
488.0	0.355	487.0	0.352	486.0	0.348	485.0	0.345
484.0	0.343	483.0	0.341	482.0	0.340	481.0	0.339
480.0	0.341	479.0	0.343	478.0	0.341	477.0	0.335
476.0	0.329	475.0	0.324	474.0	0.320	473.0	0.318
472.0	0.317	471.0	0.315	470.0	0.313	469.0	0.311
468.0	0.308	467.0	0.307	466.0	0.306	465.0	0.303
464.0	0.300	463.0	0.298	462.0	0.297	461.0	0.295
460.0	0.293	459.0	0.291	458.0	0.289	457.0	0.289
456.0	0.288	455.0	0.288	454.0	0.287	453.0	0.287
452.0	0.286	451.0	0.285	450.0	0.284	449.0	0.282
448.0	0.283	447.0	0.285	446.0	0.283	445.0	0.279
444.0	0.278	443.0	0.277	442.0	0.275	441.0	0.272
440.0	0.270	439.0	0.269	438.0	0.268	437.0	0.267
436.0	0.267	435.0	0.265	434.0	0.264	433.0	0.263
432.0	0.262	431.0	0.260	430.0	0.259	429.0	0.258
428.0	0.258	427.0	0.257	426.0	0.257	425.0	0.255
424.0	0.255	423.0	0.255	422.0	0.255	421.0	0.254
420.0	0.253	419.0	0.252	418.0	0.252	417.0	0.251
416.0	0.251	415.0	0.249	414.0	0.249	413.0	0.251
412.0	0.253	411.0	0.255	410.0	0.257	409.0	0.260
408.0	0.260	407.0	0.255	406.0	0.252	405.0	0.254
404.0	0.257	403.0	0.259	402.0	0.264	401.0	0.268
400.0	0.270						

Lampiran 3.4 Waktu Inkubasi Asam Galat dan Sampel



Menit	Absorbansi		
	Asam Galat	Ekstrak metanol	Ekstrak Etil Asetat
0	0,749	0,173	0,483
5	0,793	0,269	0,542
10	0,813	0,297	0,577
15	0,833	0,316	0,606
20	0,847	0,327	0,616
25	0,857	0,343	0,637
30	0,866	0,349	0,655
35	0,872	0,352	0,676
40	0,878	0,354	0,68
45	0,884	0,355	0,682
50	0,884	0,356	0,683
55	0,885	0,356	0,683
60	0,886	0,357	0,685
65	0,886	0,358	0,686
70	0,888	0,362	0,686

Lampiran 3.5 Pembuatan Larutan Standar dan Larutan Uji

a. Pembuatan Standar Asam Galat

$$\text{Larutan Induk} = \frac{25,5 \text{ mg}}{25 \text{ mL}} \times 1000 \frac{\text{mL}}{1} = 1020 \mu\text{g/mL}$$

Pengenceran

$$\frac{1}{5} \times 1020 \mu\text{g/mL} = 204 \mu\text{g/mL}$$

$$\frac{2}{5} \times 1020 \mu\text{g/mL} = 408 \mu\text{g/mL}$$

$$\frac{100\text{mL}}{1000\text{mL}} \times 204 \mu\text{g/mL} = 20,4 \mu\text{g/mL}$$

$$\frac{100\text{mL}}{1000\text{mL}} \times 408 \mu\text{g/mL} = 40,8 \mu\text{g/mL}$$

$$\frac{300\text{mL}}{1000\text{mL}} \times 204 \mu\text{g/mL} = 61,2 \mu\text{g/mL}$$

$$\frac{350\text{mL}}{1000\text{mL}} \times 204 \mu\text{g/mL} = 71,4 \mu\text{g/mL}$$

$$\frac{200\text{mL}}{1000\text{mL}} \times 408 \mu\text{g/mL} = 81,6 \mu\text{g/mL}$$

$$\frac{300\text{mL}}{1000\text{mL}} \times 408 \mu\text{g/mL} = 122,4 \mu\text{g/mL}$$

Konsentrasi larutan standar asam galat 150 μL ditambahkan Folin Ciocalteu 750 μL dan larutan Na_2CO_3 7,5% 600 μL . Jadi, volume di dalam kuvet sejumlah 1,5 mL:

$$\frac{0,15 \text{ mL}}{1,5 \text{ mL}} \times 20,4 \mu\text{g/mL} = 2,04 \mu\text{g/mL}$$

$$\frac{0,15 \text{ mL}}{1,5 \text{ mL}} \times 40,8 \mu\text{g/mL} = 4,08 \mu\text{g/mL}$$

$$\frac{0,15 \text{ mL}}{1,5 \text{ mL}} \times 61,2 \mu\text{g/mL} = 6,12 \mu\text{g/mL}$$

$$\frac{0,15 \text{ mL}}{1,5 \text{ mL}} \times 71,4 \mu\text{g/mL} = 7,14 \mu\text{g/mL}$$

$$\frac{0,15 \text{ mL}}{1,5 \text{ mL}} \times 81,6 \mu\text{g/mL} = 8,16 \mu\text{g/mL}$$

$$\frac{0,15 \text{ mL}}{1,5 \text{ mL}} \times 122,4 \text{ } \mu\text{g/mL} = 12,24 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

a. Pembuatan Larutan Uji

- Ekstrak Metanol

Replikasi 1

$$\frac{25,1 \text{ mg}}{25 \text{ mL}} \times 1000 = 1004 \text{ ppm}$$

$$\frac{2 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 1000 = 200,8 \text{ ppm}$$

Replikasi 2

$$\frac{25,4 \text{ mg}}{25 \text{ mL}} \times 1000 = 1016 \text{ ppm}$$

$$\frac{2 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 1000 = 203,2 \text{ ppm}$$

Replikasi 3

$$\frac{25,2 \text{ mg}}{25 \text{ mL}} \times 1000 = 1008 \text{ ppm}$$

$$\frac{2 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 1000 = 201,6 \text{ ppm}$$

- Ekstrak etil asetat

Replikasi 1

$$\frac{25,2 \text{ mg}}{25 \text{ mL}} \times 1000 = 1008 \text{ ppm}$$

$$\frac{3 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 1000 = 302,4 \text{ ppm}$$

Replikasi 2

$$\frac{25,3 \text{ mg}}{25 \text{ mL}} \times 1000 = 1012 \text{ ppm}$$

$$\frac{3 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 1000 = 303,6 \text{ ppm}$$

Replikasi 3

$$\frac{25,4 \text{ mg}}{25 \text{ mL}} \times 1000 = 1016 \text{ ppm}$$

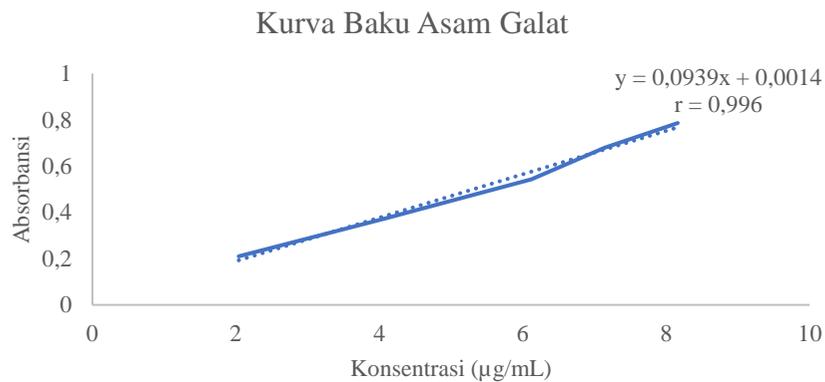
$$\frac{3 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 1000 = 304,8 \text{ ppm}$$

Lampiran 3.6 Pengukuran Kadar Fenolat Total

a. Hasil Pengukuran Kadar Fenolat Total

Sampel	Kadar mg GAE/g ekstrak	Rata-rata (mg GAE/g ekstrak)	SD	RSD (%)
Ekstrak Metanol	249,841	250,909	0,688	0,274%
	251,378			
	251,230			
Ekstrak Etil Asetat	96,756	94,944	1,647	1,734
	93,518			
	94,567			

b. Kurva Baku Standar Asam Galat



Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Faktor pengenceran	Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbansi
20,4	10	2,04	0,210
40,8	10	4,08	0,373
61,2	10	6,12	0,543
71,4	10	7,14	0,680
81,6	10	8,16	0,786

c. Perhitungan fenol total sampel

Contoh Perhitungan

$$y = 0,093x + 0,0014$$

$$0,468 = 0,093x + 0,0014$$

$$x = 5,017 \mu\text{g/mL}$$

$$\text{dalam } 1,5 \text{ mL} = 1,5 \text{ mL} \times 5,017 \mu\text{g/mL} = 7,526 \mu\text{g}$$

$$\text{dalam } 10 \text{ mL} = \frac{10 \text{ mL} \times 7,526 \mu\text{g}}{0,15 \text{ mL}} = 501,7 \mu\text{g}$$

$$\text{dalam } 25 \text{ mL} = \frac{25 \text{ mL} \times 501,7 \mu\text{g}}{2 \text{ mL}} = 6271,25 \mu\text{g} = 6,271 \text{ mg}$$

$$= \frac{6,271 \text{ mg}}{0,0251 \text{ g}} = 249,841 \text{ mgGAE/g ekstrak}$$

- Ekstrak Metanol

Penimbangan (mg)	Absorbansi	Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Massa dalam 10 mL (μg)	Massa dalam 25 mL (mg)	Kadar (mgGAE/g ekstrak)
25,1	0,468	5,017	501,7	6,271	249,841
25,4	0,476	5,103	510,3	6,379	251,142
25,2	0,472	5,060	506,0	6,331	250,992
Rata-rata	= 250,658				
SD	= 0,712				
RSD	= 0,284%				

- Ekstrak Etil Asetat

Penimbangan (mg)	Absorbansi	Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Massa dalam 10 mL (μg)	Massa dalam 25 mL (mg)	Kadar (mgGAE/g sampel)
25,2	0,273	2,920	292,0	2,433	96,548
25,3	0,265	2,834	283,4	2,362	93,360
25,4	0,269	2,877	287,7	2,398	94,409
Rata-rata	= 94,772				
SD	= 1,625				
RSD	= 1,714%				

LAMPIRAN 4

Lampiran 4.1 Gambar Pengujian Kadar Flavonoid Total



Lampiran 4.2 Pembuatan Reagen AlCl₃ 10% dan Kalium Asetat 1M

a. Reagen AlCl₃ 10%

Ditimbang 10 gram AlCl₃ dalam akuades ad 100 mL

b. Kalium asetat 1M

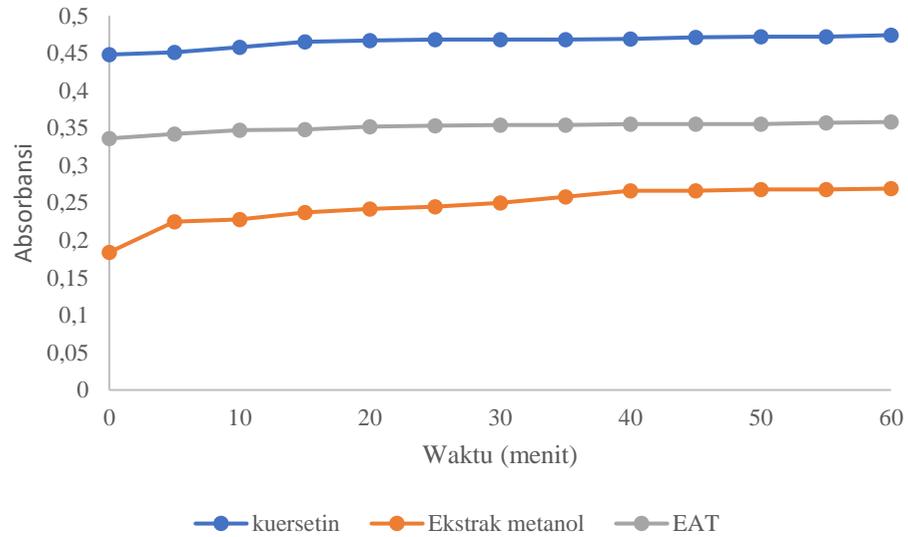
$$M = \frac{m}{Mr} \times \frac{1000}{v \text{ (mL)}}$$

$$1M = \frac{m}{98} \times \frac{1000}{10 \text{ mL}}$$

$$m = 0,98 \text{ gram}$$

Ditimbang 0,98 gram kalium asetat dalam akuades ad 10 mL

Lampiran 4.4 Waktu Inkubasi Kuersetin dan Sampel



Menit	Absorbansi		
	Kuersetin	Ekstrak metanol	Ekstrak Etil Asetat
0	0,448	0,184	0,336
5	0,451	0,225	0,342
10	0,458	0,228	0,347
15	0,465	0,237	0,348
20	0,467	0,242	0,352
25	0,468	0,245	0,353
30	0,468	0,25	0,354
35	0,468	0,258	0,354
40	0,469	0,266	0,355
45	0,471	0,266	0,355
50	0,472	0,268	0,355
55	0,472	0,268	0,357
60	0,474	0,269	0,358

Lampiran 4.5 Pembuatan Larutan Standar dan Larutan Uji

a. Pembuatan Standar Kuersetin

Larutan Induk

$$\frac{25,3 \text{ mg}}{25 \text{ mL}} \times 1000 = 1012 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

Pengenceran

$$\frac{0,2 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 1012 = 20,24 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\frac{0,4 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 1012 = 40,48 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\frac{0,6 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 1012 = 60,72 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\frac{0,8 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 1012 = 80,96 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\frac{1,2 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 1012 = 121,44 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

Larutan standar kuersetin 500 μL dimasukkan ke dalam labu ukur 5 mL ditambahkan 1500 μL etanol, 100 μL AlCl_3 10%, 100 μL kalium asetat dan ditambahkan akuades sampai tanda batas. Jadi, volume di dalam kuvet sejumlah :

$$\frac{0,5 \text{ mL}}{5 \text{ mL}} \times 20,24 \mu\text{g/mL} = 2,024 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\frac{0,5 \text{ mL}}{5 \text{ mL}} \times 40,48 \mu\text{g/mL} = 4,048 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\frac{0,5 \text{ mL}}{5 \text{ mL}} \times 60,72 \text{ } \mu\text{g/mL} = 6,072 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\frac{0,5 \text{ mL}}{5 \text{ mL}} \times 80,96 \text{ } \mu\text{g/mL} = 8,096 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\frac{0,5 \text{ mL}}{5 \text{ mL}} \times 121,44 \text{ } \mu\text{g/mL} = 12,144 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

b. Pembuatan Larutan Uji

- Ekstrak Metanol

Replikasi 1

$$\frac{20,1 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times 1000 = 2010 \text{ ppm}$$

Replikasi 2

$$\frac{20,3 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times 1000 = 2030 \text{ ppm}$$

Replikasi 3

$$\frac{20,2 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times 1000 = 2020 \text{ ppm}$$

- Ekstrak etil asetat

Replikasi 1

$$\frac{20,2 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times 1000 = 2020 \text{ ppm}$$

Replikasi 2

$$\frac{20,3 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times 1000 = 2030 \text{ ppm}$$

Replikasi 3

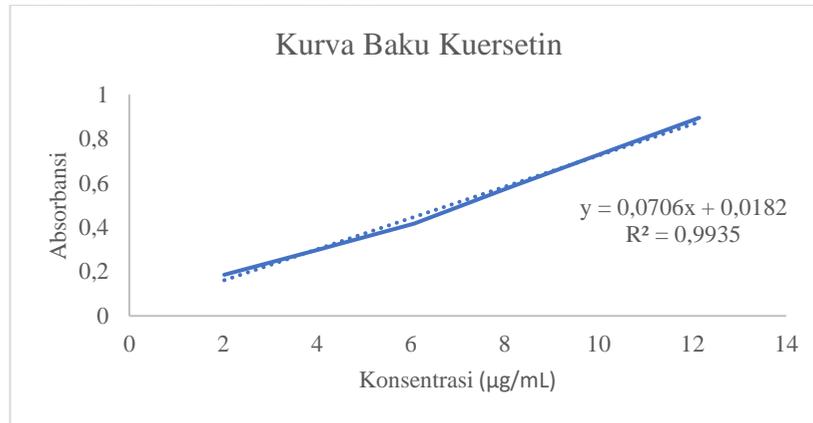
$$\frac{20,4 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times 1000 = 2040 \text{ ppm}$$

Lampiran 4.6 Pengukuran Kadar Flavonoid Total

a. Hasil Pengukuran Kadar Flavonoid Total

Sampel	Kadar mg QE/g ekstrak	Rata-rata (mg QE/g ekstrak)	SD	RSD (%)
Ekstrak Metanol	59,900	59,868	0,028	0,047
	59,852			
	59,851			
Ekstrak Etil Asetat	24,460	23,747	0,646	2,72
	23,202			
	23,578			

b. Kurva Baku Standar Kuersetin



Konsentrasi (µg/mL)	Faktor pengenceran	Konsentrasi (µg/mL)	Absorbansi
20,24	10	2,024	0,186
40,48	10	4,048	0,301
60,72	10	6,072	0,417
80,96	10	8,096	0,580
121,144	10	12,144	0,895

c. Perhitungan flavonoid total sampel

Contoh Perhitungan

$$y = 0,0706x + 0,0182$$

$$0,868 = 0,0706x + 0,0182$$

$$x = 12,037 \mu\text{g/mL}$$

$$\text{dalam } 5 \text{ mL} = 5 \text{ mL} \times 12,037 \mu\text{g/mL} = 60,185 \mu\text{g}$$

$$\text{dalam } 10 \text{ mL} = \frac{10 \text{ mL} \times 60,185 \mu\text{g}}{0,5 \text{ mL}} = 1203,7 \mu\text{g} = 1,204 \text{ mg}$$

$$= \frac{1,204 \text{ mg}}{0,0201 \text{ g}} = 59,900 \text{ mgQE/g ekstrak}$$

- Ekstrak Metanol

Penimbangan (mg)	Absorbansi	Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Massa dalam 5 mL (μg)	Massa dalam 10 mL (mg)	Kadar (mgQE/g ekstrak)
20,1	0,868	12,037	60,185	1,204	59,900
20,3	0,876	12,150	60,750	1,215	59,852
20,2	0,872	12,093	60,465	1,209	59,851

Rata-rata = 59,868
SD = 0,028
RSD = 0,047%

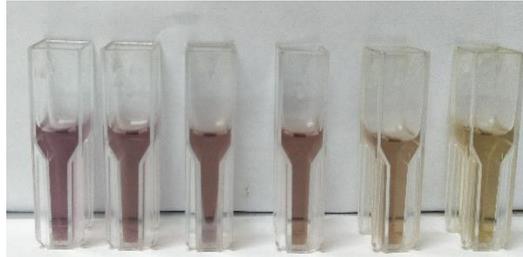
- Ekstrak Etil Asetat

Penimbangan (mg)	Absorbansi	Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Massa dalam 5 mL (μg)	Massa dalam 10 mL (mg)	Kadar (mgQE/g sampel)
20,2	0,367	4,941	24,705	0,494	24,460
20,3	0,351	4,714	23,570	0,471	23,202
20,4	0,358	4,813	24,065	0,481	23,578

Rata-rata = 23,747
SD = 0,646
RSD = 2,72%

Lampiran 5

Lampiran 5.1 Gambar Pengujian Aktivitas Antioksidan



Lampiran 5.2 Pembuatan Larutan DPPH

Konsentrasi DPPH = 0,01 Mm (Molyneux, 2004)

Mr DPPH ($C_{18}H_{12}N_{15}O_6$) = 394,55 (Molyneux, 2004)

$$0,0001 \text{ M} = \frac{x}{394,3 \frac{\text{g}}{\text{mol}}} \times \frac{1}{0,050 \text{ L}}$$

$$0,0001 \frac{\frac{\text{g}}{\text{mol}}}{\text{L}} = \frac{x}{394,3 \frac{\text{g}}{\text{mol}}} \times \frac{1}{0,050 \text{ L}}$$

$$x = 0,0001 \times 394,3 \times 0,050 \text{ g} = 0,00197 \text{ g} = 1,97 \text{ g}$$

Lampiran 5.3 Pembuatan Larutan Uji

1) Perhitungan Vitamin C

Larutan induk

$$\frac{25 \text{ mg}}{25 \text{ mL}} \times 1000 \frac{\text{mL}}{1} = 1000 \mu\text{g/mL}$$

Pengenceran

$$\frac{0,5 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} = 50 \mu\text{g/mL}$$

$$\frac{1 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} = 100 \mu\text{g/mL}$$

Seri konsentrasi

- a. $\frac{1 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 50 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} = 5 \mu\text{g/mL}$
- b. $\frac{3 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 50 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} = 15 \mu\text{g/mL}$
- c. $\frac{5 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 50 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} = 25 \mu\text{g/mL}$
- d. $\frac{1 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 100 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} = 10 \mu\text{g/mL}$
- e. $\frac{2 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 100 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} = 20 \mu\text{g/mL}$
- f. $\frac{3 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 100 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} = 30 \mu\text{g/mL}$

No	Sampel	Konsentrasi Uji
1	Replikasi 1 (25,2 mg)	5,04 $\mu\text{g/mL}$; 10,08 $\mu\text{g/mL}$; 15,12 $\mu\text{g/mL}$;
	Larutan induk = 1008 $\mu\text{g/mL}$	20,16 $\mu\text{g/mL}$; 25,2 $\mu\text{g/mL}$; 30,24 $\mu\text{g/mL}$
2	Replikasi 2 (25,3 mg)	5,06 $\mu\text{g/mL}$; 10,12 $\mu\text{g/mL}$; 15,12 $\mu\text{g/mL}$;
	Larutan induk = 1012 $\mu\text{g/mL}$	20,24 $\mu\text{g/mL}$; 25,30 $\mu\text{g/mL}$; 30,36 $\mu\text{g/mL}$
3	Replikasi 3 (25 mg)	5 $\mu\text{g/mL}$; 10 $\mu\text{g/mL}$; 15 $\mu\text{g/mL}$; 20 $\mu\text{g/mL}$;
	Larutan induk = 1000 $\mu\text{g/mL}$	25 $\mu\text{g/mL}$; 30 $\mu\text{g/mL}$

2) Perhitungan Ekstrak Metanol Daun Ndok-ndokan

Larutan induk

$$\frac{20 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \frac{\text{mL}}{1} = 2000 \mu\text{g/mL}$$

$$\frac{30 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \frac{\text{mL}}{1} = 3000 \mu\text{g/mL}$$

Pengenceran

a. $\frac{0,5 \text{ mL}}{5 \text{ mL}} \times 2000 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} = 20,2 \mu\text{g/mL}$

b. $\frac{1 \text{ mL}}{5 \text{ mL}} \times 3000 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} = 60,6 \mu\text{g/mL}$

$$c. \frac{0,25 \text{ mL}}{5 \text{ mL}} \times 3000 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} = 150 \mu\text{g/mL}$$

$$d. \frac{0,5 \text{ mL}}{5 \text{ mL}} \times 2000 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} = 200 \mu\text{g/mL}$$

$$e. \frac{1 \text{ mL}}{5 \text{ mL}} \times 2000 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} = 400 \mu\text{g/mL}$$

No.	Sampel	Konsentrasi Uji
1	Replikasi 1 (20,2 mg dan 30,3 mg)	20,2 $\mu\text{g/mL}$; 60,6 $\mu\text{g/mL}$; 151,5 $\mu\text{g/mL}$; 202 $\mu\text{g/mL}$; 404 $\mu\text{g/mL}$
	Larutan induk 1 = 2020 $\mu\text{g/mL}$	
	Larutan Induk 2 = 3030 $\mu\text{g/mL}$	
2	Replikasi 2 (20,3 mg dan 30,3 mg)	20,3 $\mu\text{g/mL}$; 60,6 $\mu\text{g/mL}$; 151,5 $\mu\text{g/mL}$; 203 $\mu\text{g/mL}$; 406 $\mu\text{g/mL}$
	Larutan induk 1 = 2030 $\mu\text{g/mL}$	
	Larutan induk 2 = 3030 $\mu\text{g/mL}$	
3	Replikasi 3 (20,4 mg dan 30,6 mg)	20,4 $\mu\text{g/mL}$; 61,2 $\mu\text{g/mL}$; 153 $\mu\text{g/mL}$; 204 $\mu\text{g/mL}$; 408 $\mu\text{g/mL}$
	Larutan induk 1 = 2040 $\mu\text{g/mL}$	
	Larutan induk 2 = 3060 $\mu\text{g/mL}$	

3) Perhitungan Ekstrak Etil Asetat Daun Ndok-ndokan

Replikasi 1

$$\frac{20 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \frac{\text{mL}}{1} = 2000 \mu\text{g/mL}$$

$$\frac{30 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \frac{\text{mL}}{1} = 3000 \mu\text{g/mL}$$

Pengenceran

$$a. \frac{100 \mu\text{L}}{1000 \mu\text{L}} \times 3000 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} = 300 \mu\text{g/mL}$$

$$b. \frac{200 \mu\text{L}}{1000 \mu\text{L}} \times 2000 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} = 400 \mu\text{g/mL}$$

$$c. \frac{300 \mu\text{L}}{1000 \mu\text{L}} \times 2000 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} = 600 \mu\text{g/mL}$$

$$d. \frac{425 \mu\text{L}}{1000 \mu\text{L}} \times 2000 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} = 850 \mu\text{g/mL}$$

$$e. \frac{400 \mu\text{L}}{1000 \mu\text{L}} \times 3000 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} = 1200 \mu\text{g/mL}$$

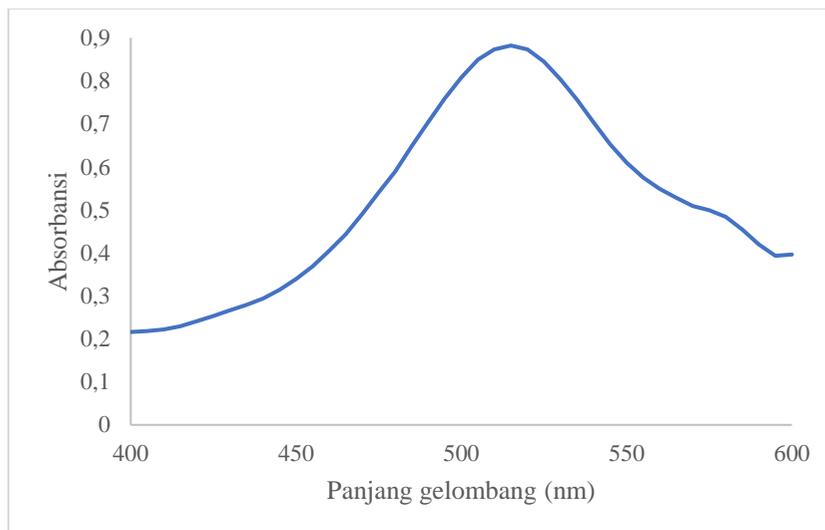
$$f. \frac{450 \mu\text{L}}{1000 \mu\text{L}} \times 3000 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} = 1350 \mu\text{g/mL}$$

No.	Sampel	Konsentrasi Uji
1	Replikasi 1 (20,2 mg dan 30,4 mg)	304 $\mu\text{g/mL}$; 404 $\mu\text{g/mL}$; 606 $\mu\text{g/mL}$;
	Larutan induk 1 = 2020 $\mu\text{g/mL}$	858,5 $\mu\text{g/mL}$; 1216 $\mu\text{g/mL}$; 1368 $\mu\text{g/mL}$;
	Larutan Induk 2 = 3040 $\mu\text{g/mL}$	mL;
2	Replikasi 2 (20,2 mg dan 30,4 mg)	304 $\mu\text{g/mL}$; 404 $\mu\text{g/mL}$; 606 $\mu\text{g/mL}$;
	Larutan induk 1 = 2020 $\mu\text{g/mL}$	858,5 $\mu\text{g/mL}$; 1216 $\mu\text{g/mL}$; 1368 $\mu\text{g/mL}$;
	Larutan induk 2 = 3040 $\mu\text{g/mL}$	mL;
3	Replikasi 3 (20,1 mg dan 30,3 mg)	303 $\mu\text{g/mL}$; 402 $\mu\text{g/mL}$; 603 $\mu\text{g/mL}$;
	Larutan induk 1 = 2010 $\mu\text{g/mL}$	854,25 $\mu\text{g/mL}$; 1212 $\mu\text{g/mL}$;
	Larutan induk 2 = 3030 $\mu\text{g/mL}$	1363,5 $\mu\text{g/mL}$;

Lampiran 5.4 Penentuan Panjang Gelombang DPPH

a. Grafik

Data Mode : ABS
Scan Range : 600,0-400,0 nm
Slide Width : 4 nm
Speed (nm/min) : 800 nm/min
Lamp Change Wavelength : 340,0 nm

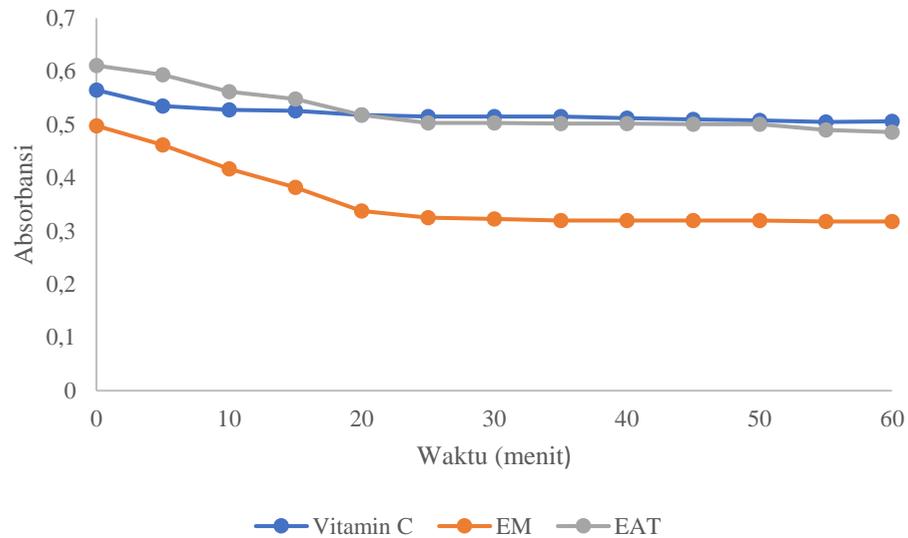


Keterangan: Spektrum UV-Vis DPPH

b. Data Absorbansi DPPH

Panjang gelombang (nm)	Absorbansi	Panjang gelombang (nm)	Absorbansi
400	0,216	505	0,849
405	0,218	510	0,873
410	0,222	515	0,882
415	0,229	520	0,873
420	0,241	525	0,845
425	0,253	530	0,803
430	0,266	535	0,756
435	0,279	540	0,704
440	0,294	545	0,653
445	0,314	550	0,61
450	0,339	555	0,575
455	0,369	560	0,549
460	0,404	565	0,528
465	0,443	570	0,509
470	0,49	575	0,499
475	0,54	580	0,484
480	0,589	585	0,454
485	0,648	590	0,42
490	0,705	595	0,393
495	0,759	600	0,396
500	0,808		

Lampiran 5.5 Waktu Inkubasi Vitamin C dan Ekstrak



Menit	Absorbansi		
	Vitamin C	Ekstrak metanol	Ekstrak Etil Asetat
0	0,565	0,498	0,611
5	0,535	0,462	0,594
10	0,528	0,417	0,562
15	0,526	0,382	0,548
20	0,518	0,338	0,518
25	0,515	0,325	0,503
30	0,515	0,323	0,503
35	0,515	0,32	0,502
40	0,512	0,32	0,502
45	0,51	0,32	0,501
50	0,508	0,32	0,501
55	0,505	0,318	0,49
60	0,506	0,318	0,486

Lampiran 5.6 Perhitungan peredaman DPPH dan IC₅₀

$$\text{Peredaman DPPH} = \frac{\text{absorbansi DPPH} - \text{absorbansi larutan uji}}{\text{absorbansi DPPH}} \times 100\%$$

Sampel	IC ₅₀ (µg/mL)	Rata-rata IC ₅₀ (µg/mL)	SD	RSD (%)
Vitamin C	3,274	3,263	0,032	0,010
	3,289			
	3,227			
Ekstrak metanol daun ndok-ndokan	58,958	56,897	1,972	3,466
	55,028			
	56,706			
Ekstrak etil asetat daun ndok-ndokan	232,800	228,743	5,524	2,412
	230,978			
	222,452			

a. Vitamin C Replikasi 1

Konsentrasi (µg/mL)	Konsentrasi dalam kuvet (µg/mL)	Absorbansi DPPH	Absorbansi Sampel	%Peredaman DPPH	IC ₅₀
5,04	1,008	0,950	0,781	17,789	3,274
10,08	2,016	0,950	0,642	32,421	
15,12	3,024	0,950	0,521	45,158	
20,16	4,032	0,950	0,355	62,632	
25,20	5,040	0,950	0,219	76,947	
30,24	6,048	0,950	0,129	86,421	

Replikasi 2

Konsentrasi (µg/mL)	Konsentrasi dalam kuvet (µg/mL)	Absorbansi DPPH	Absorbansi Sampel	%Peredaman DPPH	IC ₅₀
5,06	1,012	0,950	0,793	16,526	3,289
10,12	2,024	0,950	0,639	32,737	
15,18	3,036	0,950	0,521	45,158	
20,24	4,048	0,950	0,349	63,263	
25,30	5,060	0,950	0,219	76,947	
30,36	6,072	0,950	0,124	86,947	

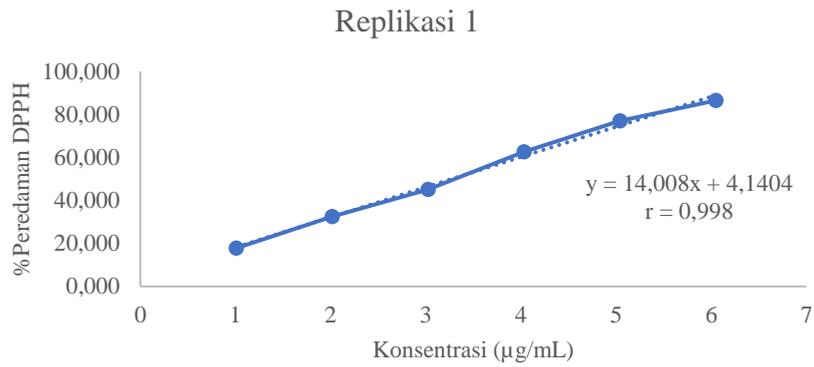
Replikasi 3

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Konsentrasi dalam kuvet ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbansi DPPH	Absorbansi Sampel	%Peredaman DPPH	IC ₅₀
5,000	1,000	0,950	0,781	18,000	3,227
10,00	2,000	0,950	0,642	28,316	
15,00	3,000	0,950	0,521	44,947	
20,00	4,000	0,950	0,355	63,158	
25,00	5,000	0,950	0,219	76,474	
30,00	6,000	0,950	0,129	89,579	

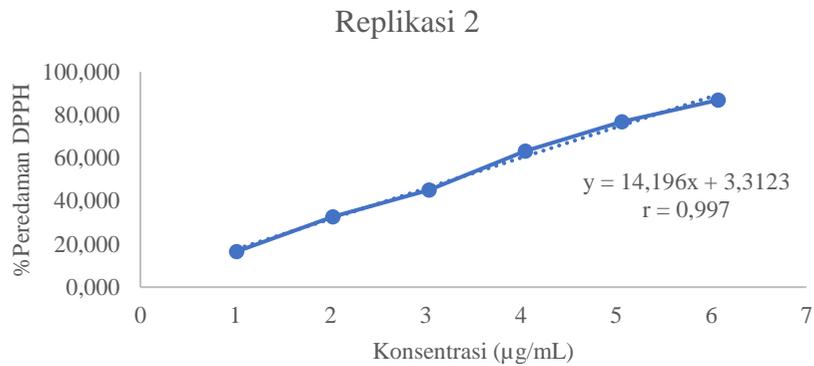
Rata-rata = 3,263
SD = 0,032
RSD = 0,010%

Regresi linier IC₅₀ Vitamin C

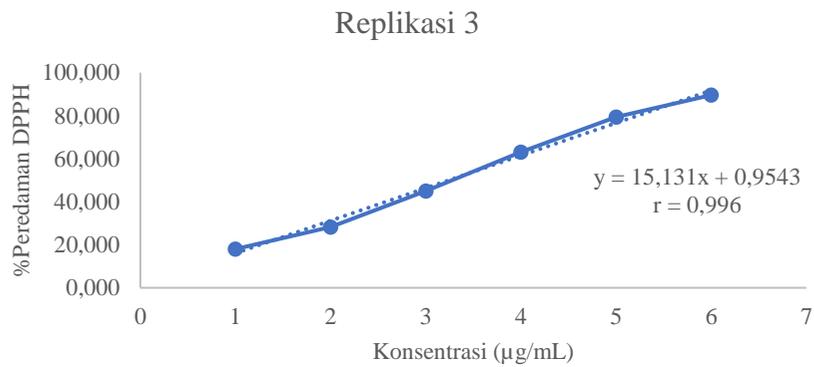
Replikasi 1



Replikasi 2



Replikasi 3



b. Ekstrak Metanol

Replikasi 1

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Konsentrasi dalam kuvet ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbansi DPPH	Absorbansi Sampel	%Peredaman DPPH	IC ₅₀
20,2	4,04	0,932	0,757	18,177	58,958
60,6	12,12	0,932	0,737	20,923	
151,5	30,3	0,932	0,602	35,408	
202	40,4	0,932	0,563	39,592	
404	80,8	0,932	0,354	62,017	

Replikasi 2

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Konsentrasi dalam kuvet ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbansi DPPH	Absorbansi Sampel	%Peredaman DPPH	IC ₅₀
20,3	4,06	0,932	0,727	21,996	55,028
60,6	12,12	0,932	0,683	26,717	
151,5	30,3	0,932	0,575	38,305	
203	40,6	0,932	0,532	42,918	
406	81,2	0,932	0,343	63,197	

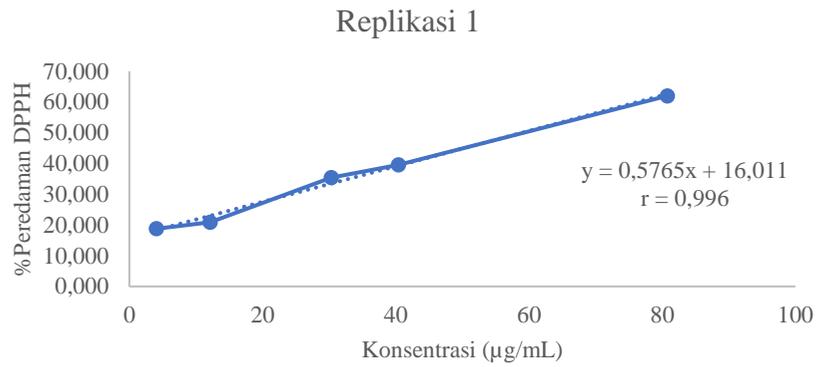
Replikasi 3

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Konsentrasi dalam kuvet ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbansi DPPH	Absorbansi Sampel	%Peredaman DPPH	IC ₅₀
20,4	4,08	0,932	0,735	21,137	56,706
61,2	12,24	0,932	0,695	25,429	
153	30,6	0,932	0,587	37,017	
204	40,8	0,932	0,531	43,026	
408	81,6	0,932	0,351	62,339	

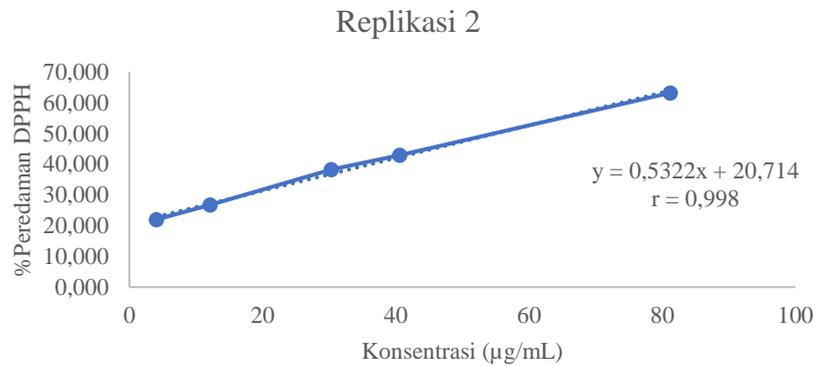
Rata-rata = 56,897
SD = 1,972
RSD = 3,466%

Regresi linier IC₅₀ Ekstrak Metanol

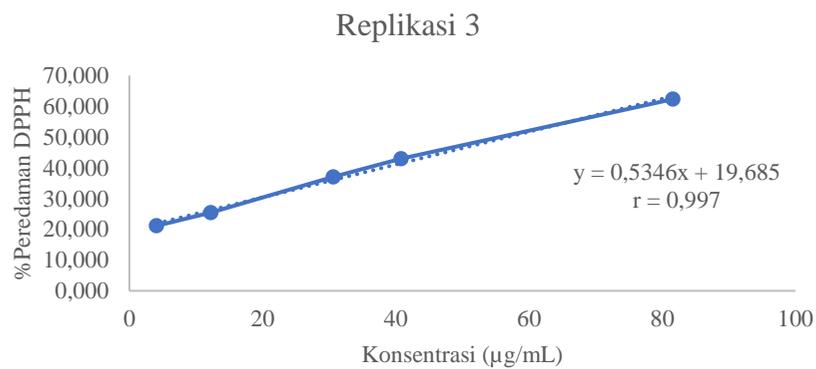
Replikasi 1



Replikasi 2



Replikasi 3



c. Ekstrak Etil Asetat

Replikasi 1

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Konsentrasi dalam kuvet ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbansi DPPH	Absorbansi Sampel	%Peredaman DPPH	IC ₅₀
304	60,8	0,963	0,884	8,204	232,800
404	80,8	0,963	0,807	16,199	
606	121,2	0,963	0,759	21,184	
858,5	171,7	0,963	0,659	31,568	
1216	243,2	0,963	0,436	54,725	
1368	273,6	0,963	0,384	60,125	

Replikasi 2

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Konsentrasi dalam kuvet ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbansi DPPH	Absorbansi Sampel	%Peredaman DPPH	IC ₅₀
304	60,8	0,963	0,844	12,357	230,978
404	80,8	0,963	0,778	19,211	
606	121,2	0,963	0,729	24,299	
858,5	171,7	0,963	0,646	32,918	
1216	243,2	0,963	0,449	53,375	
1368	273,6	0,963	0,375	61,059	

Replikasi 3

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Konsentrasi dalam kuvet ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbansi DPPH	Absorbansi Sampel	%Peredaman DPPH	IC ₅₀
303	60,6	0,963	0,884	14,746	222,452
402	80,4	0,963	0,807	20,976	
603	120,6	0,963	0,759	27,622	
854,25	170,85	0,963	0,659	35,929	
1212	242,4	0,963	0,436	54,102	
1363,5	272,7	0,963	0,384	62,513	

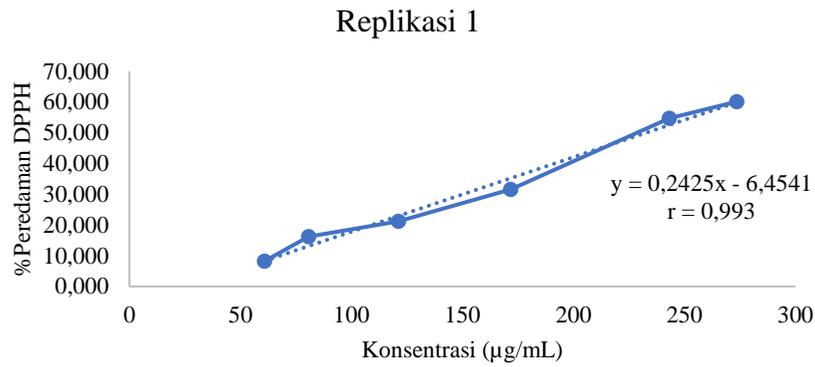
Rata-rata = 228,743

SD = 5,524

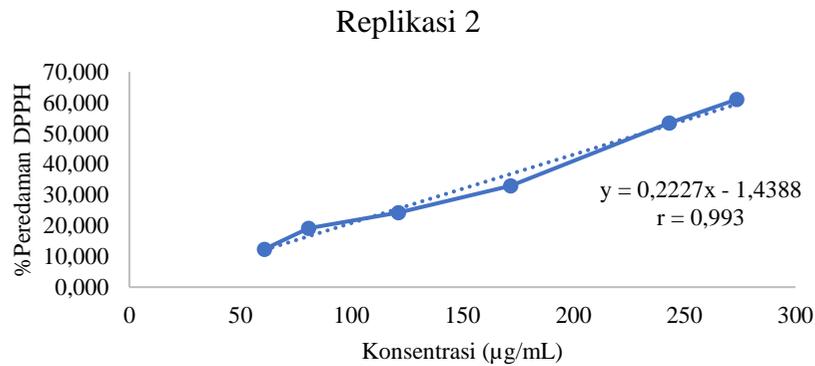
RSD = 2,412%

Regresi linier Ekstrak Etil Asetat

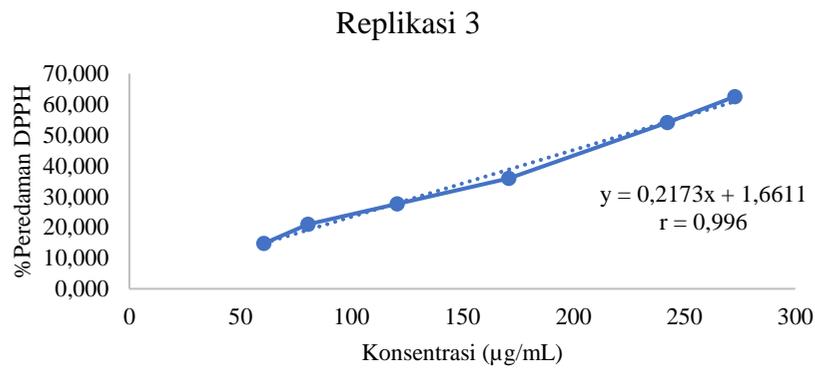
Replikasi 1



Replikasi 2



Replikasi 3



LAMPIRAN 6

Lampiran 6.1 Gambar Pengujian Aktivitas Antidiabetes



a) Larutan uji dan blanko yang telah direaksikan dengan DNS



(b) Gambar sesudah (kanan) dan sebelum (kiri)

Lampiran 6.2 Perhitungan Bahan-Bahan yang Diperlukan

1. Larutan Dapar Fosfat pH 6,9

a. Massa Natrium Dihidrogenfosfat (NaH_2PO_4) 0,1 M

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

$$0,1 = \frac{\text{Massa}}{119,98} \times \frac{1000}{500}$$

$$\text{Massa} = \frac{0,1 \times 119,98 \times 500}{1000}$$

$$\text{Massa} = 5,99 \text{ gram dalam } 500 \text{ mL akuabides}$$

b. Massa Natrium Hidrogenfosfat (Na_2HPO_4) 0,1 M

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

$$0,1 = \frac{\text{Massa}}{141,96} \times \frac{1000}{500}$$

$$\text{Massa} = \frac{0,1 \times 141,96 \times 600}{1000}$$

$$\text{Massa} = 8,52 \text{ gram dalam } 600 \text{ mL akuabides}$$

2. Larutan Natrium Hidroksida (NaOH) 2 M

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

$$2 = \frac{\text{Massa}}{40} \times \frac{1000}{25}$$

$$\text{Massa} = \frac{2 \times 40 \times 25}{1000}$$

Massa = 2 gram dalam 25 mL akuabides

3. Larutan Substrat Pati 0,5%

$$\text{Rumus : } \frac{0,5 \text{ g}}{100 \text{ mL}} = \frac{x}{10 \text{ mL}}$$

$$x = \frac{0,5 \times 10}{100} = 0,05 \text{ gram dalam 10 mL dapar fosfat}$$

4. Larutan Enzim α -amilase

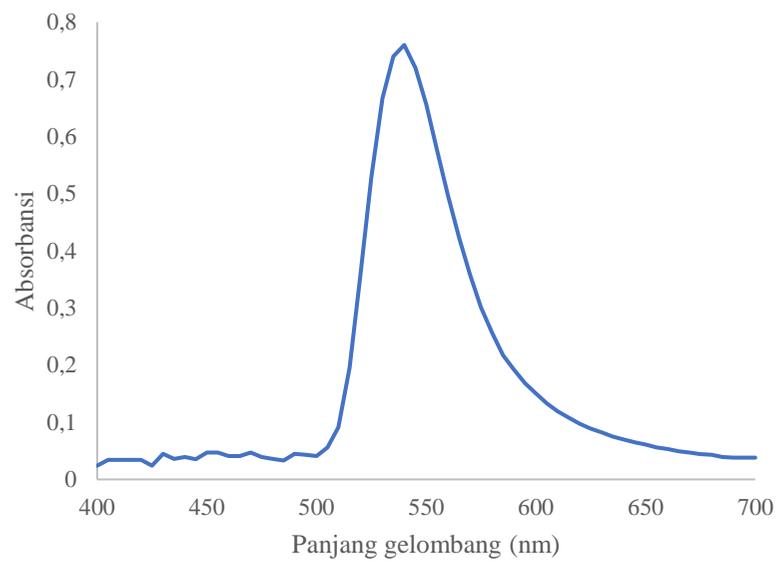
1 mg enzim mengandung ≥ 10 U

$\frac{20}{10} \times 10 \text{ U} = 20 \text{ U/mL}$ (ditimbang 20 mg enzim, dilarutkan dalam dapar 10 mL)

Lampiran 6.3 Penentuan Panjang Gelombang

a. Grafik

Data Mode : ABS
Scan Range : 700,0-400,0 nm
Slide Width : 4 nm
Speed (nm/min) : 800 nm/min
Lamp Change Wavelength : 340,0 nm



Keterangan: Spektrum UV-Vis 3,5-dinitrosalisilat

b. Data Absorbansi

Panjang gelombang (nm)	Absorbansi	Panjang gelombang (nm)	Absorbansi
400	0,024	555	0,575
405	0,034	560	0,496
410	0,034	565	0,422
415	0,034	570	0,358
420	0,034	575	0,301
425	0,024	580	0,256
430	0,045	585	0,217
435	0,036	590	0,192
440	0,039	595	0,168
445	0,035	600	0,15
450	0,047	605	0,133
455	0,047	610	0,119
460	0,041	615	0,108
465	0,041	620	0,097
470	0,047	625	0,089
475	0,039	630	0,082
480	0,036	635	0,075
485	0,033	640	0,07
490	0,045	645	0,065
495	0,043	650	0,061
500	0,041	655	0,056
505	0,056	660	0,053
510	0,091	665	0,049
515	0,195	670	0,047
520	0,358	675	0,044
525	0,528	680	0,043
530	0,667	685	0,039
535	0,74	690	0,038
540	0,76	695	0,038
545	0,72	700	0,038
550	0,656		

Lampiran 6.4 Pembuatan Larutan Uji

a. Akarbosa

Larutan induk = $\frac{5,045 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times 1000 = 504,5 \mu\text{g/mL}$ (5,045 mg akarbosa dilarutkan dalam 10 mL larutan dapar)

Pengenceran =

1. $\frac{0,2 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 504,5 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} = 100,9 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$
2. $\frac{0,25 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 504,5 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} = 126,125 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$
3. $\frac{0,3 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 504,5 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} = 151,35 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$
4. $\frac{0,45 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 504,5 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} = 227,025 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$
5. $\frac{0,5 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 504,5 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} = 252,25 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$
6. $\frac{0,55 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 504,5 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} = 277,475 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$
7. $\frac{0,6 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 504,5 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} = 302,7 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$

b. Ekstrak etanol Jamu antidiabetes B2P2TOOT

Replikasi 1 dan 2

Larutan induk = $\frac{100,8 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times 1000 = 10080 \mu\text{g/mL}$ (100,8 mg ekstrak etanol jamu antidiabetes B2P2TOOT dalam 10 mL larutan dapar)

Pengenceran =

1. $\frac{0,1 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 10080 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} = 1008 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$
2. $\frac{0,3 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 10080 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} = 3024 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$
3. $\frac{0,5 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 10080 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} = 5040 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$
4. $\frac{0,6 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 10080 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} = 6048 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$
5. $\frac{0,8 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 10080 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} = 8064 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$
6. $\frac{1 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 10080 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} = 10080 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$
7. $\frac{0,2 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 6048 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} = 12096 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$

Replikasi 3

Larutan induk = $\frac{100,6 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times 1000 = 10060 \text{ } \mu\text{g/mL}$ (100,8 mg ekstrak etanol jamu antidiabetes B2P2TOOT dalam 10 mL larutan dapar)

Pengenceran =

1. $\frac{0,1 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 10060 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} = 1006 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$
2. $\frac{0,3 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 10060 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} = 3018 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$
3. $\frac{0,5 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 10060 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} = 5030 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$
4. $\frac{0,6 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 10060 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} = 6036 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$
5. $\frac{0,8 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 10060 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} = 8048 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$
6. $\frac{1 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 10060 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} = 10060 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$
7. $\frac{0,2 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 6036 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} = 12072 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$

c. Ekstrak Metanol

Replikasi 1

Larutan induk = $\frac{100,9 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times 1000 = 10090 \text{ } \mu\text{g/mL}$

Pengenceran :

1. $\frac{0,1 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 10090 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} = 1009 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$
2. $\frac{0,2 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 10090 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} = 2018 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$
3. $\frac{0,4 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 10090 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} = 4036 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$
4. $\frac{0,5 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 10090 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} = 5045 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$
5. $\frac{0,8 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 10090 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} = 8072 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$

Replikasi 2

Larutan induk = $\frac{101,1 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times 1000 = 10110 \text{ } \mu\text{g/mL}$

Pengenceran :

1. $\frac{0,1 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 10110 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} = 1011 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$

$$2. \frac{0,2 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 10110 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} = 2022 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$$

$$3. \frac{0,4 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 10110 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} = 4044 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$$

$$4. \frac{0,5 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 10110 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} = 5055 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$$

$$5. \frac{0,8 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 10110 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} = 8088 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$$

Replikasi 3

$$\text{Larutan induk} = \frac{100,4 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times 1000 = 10040 \mu\text{g/mL}$$

Pengenceran :

$$1. \frac{0,1 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 10040 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} = 1004 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$$

$$2. \frac{0,2 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 10040 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} = 2008 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$$

$$3. \frac{0,4 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 10040 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} = 4016 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$$

$$4. \frac{0,5 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 10040 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} = 5020 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$$

$$5. \frac{0,8 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 10040 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} = 8032 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$$

d. Ekstrak Etil Asetat

Replikasi 1 dan 2

$$\text{Larutan induk} = \frac{101 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times 1000 = 10100 \mu\text{g/mL}$$

Pengenceran :

$$1. \frac{0,2 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 10100 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} = 2020 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$$

$$2. \frac{0,4 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 10100 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} = 4040 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$$

$$3. \frac{0,6 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 10100 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} = 6066 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$$

$$4. \frac{0,8 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 10100 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} = 8080 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$$

$$5. \frac{1 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 10100 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} = 10100 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$$

Replikasi 3

$$\text{Larutan induk} = \frac{101,6 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times 1000 = 10160 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

Pengenceran :

$$1. \frac{0,2 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 10160 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} = 2032 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$$

$$2. \frac{0,4 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 10160 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} = 4064 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$$

$$3. \frac{0,6 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 10100 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} = 6096 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$$

$$4. \frac{0,8 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 10100 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} = 8128 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$$

$$5. \frac{1 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 10100 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} = 10160 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$$

Lampiran 6.5 Perhitungan % Inhibisi α -amilase

$$\% \text{Inhibisi} = \frac{\text{absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

Sampel	IC ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$)	Rata-rata IC ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$)	SD	RSD (%)
Akarbosa	24,885 24,799 24,577	24,754	0,159	0,642
Ekstrak etanol Jamu antidiabetes B2P2TOOT	1112,132 1128,598 1139,931	1126,887	13,978	1,240
Ekstrak metanol daun ndok- ndokan	749,985 774,867 756,021	760,291	12,979	1,707
Ekstrak etil asetat daun ndok-ndokan	2822,377 2845,483 2815,711	2827,857	15,624	0,553

a. Akarbosa
Replikasi 1

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbansi Kontrol	Absorbansi Sampel	% Penghambatan α -amilase	IC ₅₀
100,900	10,090	1,061	0,883	16,777	24,885
126,125	12,613	1,061	0,809	23,751	
151,350	15,135	1,061	0,770	27,427	
227,025	22,703	1,061	0,586	44,769	
252,250	25,225	1,061	0,507	52,215	
277,475	27,748	1,061	0,446	56,079	
302,700	30,270	1,061	0,409	61,415	

Replikasi 2

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Konsentrasi dalam kuvet ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbansi Kontrol	Absorbansi Sampel	% Penghambatan α -amilase	IC ₅₀
100,900	10,090	1,050	0,874	16,762	24,799
126,125	12,613	1,050	0,812	22,667	
151,350	15,135	1,050	0,765	27,143	
227,025	22,703	1,050	0,580	44,762	
252,250	25,225	1,050	0,500	52,381	
277,475	27,748	1,050	0,452	56,952	
302,700	30,270	1,050	0,403	61,619	

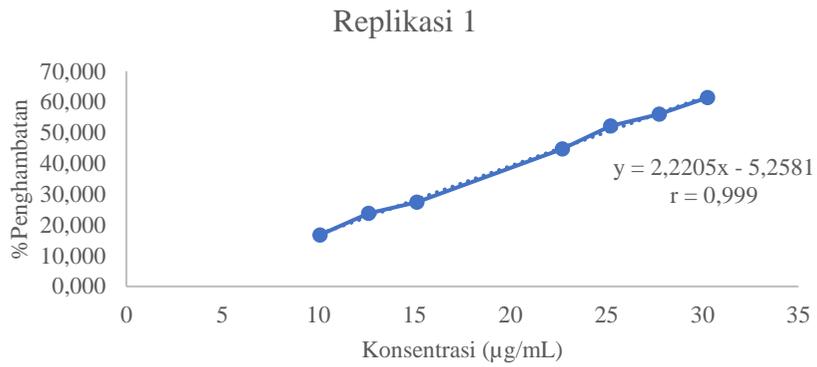
Replikasi 3

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Konsentrasi dalam kuvet ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbansi Kontrol	Absorbansi Sampel	% Penghambatan α -amilase	IC ₅₀
100,900	10,090	1,069	0,87	18,616	24,577
126,125	12,613	1,069	0,801	25,070	
151,350	15,135	1,069	0,761	28,812	
227,025	22,703	1,069	0,587	45,089	
252,250	25,225	1,069	0,508	52,479	
277,475	27,748	1,069	0,457	57,250	
302,700	30,270	1,069	0,409	61,740	

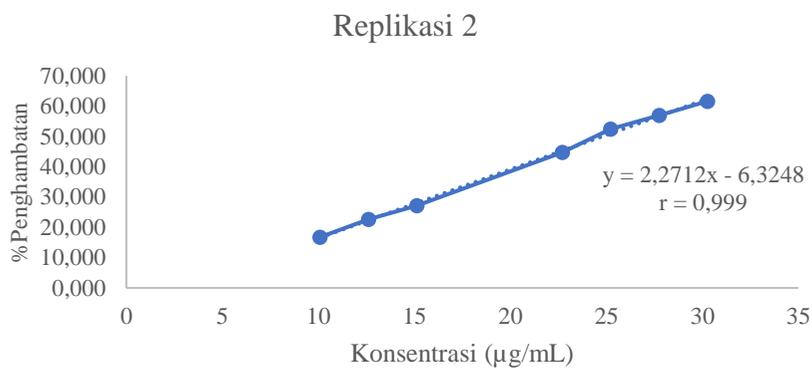
Rata-rata = 24,754
SD = 0,159
CV = 0,642%

Regresi linier IC₅₀ Akarbosa

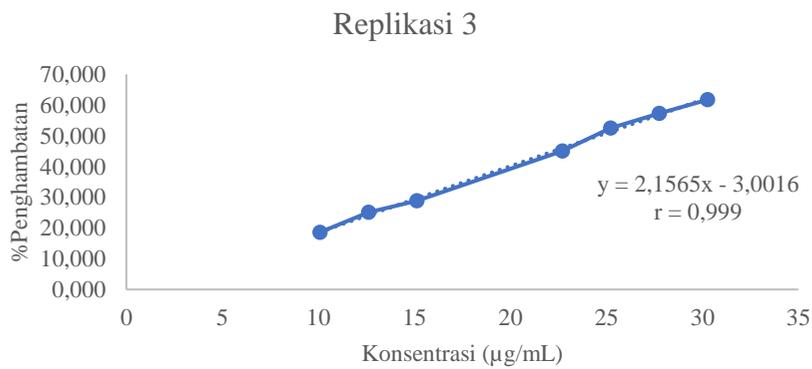
Replikasi 1



Replikasi 2



Replikasi 3



b. Ekstrak etanol jamu antidiabetes B2P2TOOT

Replikasi 1

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Konsentrasi dalam kuvet ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbansi Kontrol	Absorbansi Sampel	%Penghambatan α -amilase	IC ₅₀
1008	100,8	1,235	1,078	12,713	1112,132
3024	302,4	1,235	0,983	20,405	
5040	504,0	1,235	0,867	29,798	
806,4	806,4	1,235	0,782	36,680	
10080	1008	1,235	0,643	47,935	
12096	1209,6	1,235	0,583	52,794	

Replikasi 2

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Konsentrasi dalam kuvet ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbansi Kontrol	Absorbansi Sampel	%Penghambatan α -amilase	IC ₅₀
1008	100,8	1,123	0,986	12,199	1139,931
3024	302,4	1,123	0,896	20,214	
5040	504,0	1,123	0,824	26,625	
806,4	806,4	1,123	0,687	38,825	
10080	1008	1,123	0,638	43,188	
12096	1209,6	1,123	0,521	53,606	

Replikasi 3

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Konsentrasi dalam kuvet ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbansi Kontrol	Absorbansi Sampel	%Penghambatan α -amilase	IC ₅₀
1006	100,6	1,095	0,956	12,694	1128,598
3018	301,8	1,095	0,896	18,265	
5030	503	1,095	0,823	24,840	
8084	804,8	1,095	0,683	37,626	
10060	1006	1,095	0,579	47,123	
12072	1207,2	1,095	0,521	52,420	

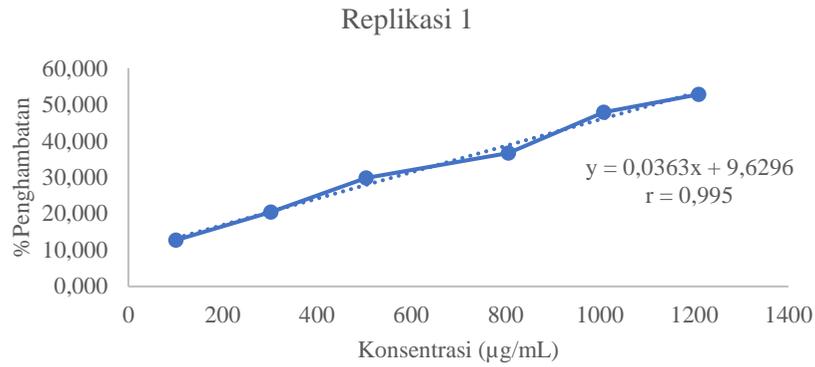
Rata-rata = 1126,887

SD = 13,978

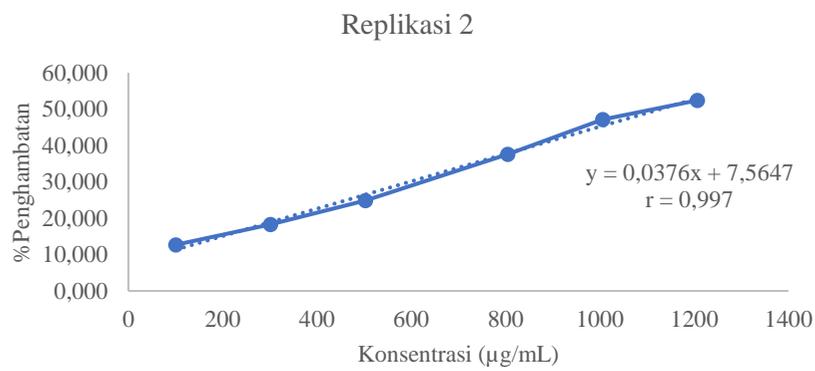
RSD = 1,240%

Regresi linier IC₅₀ Jamu B2P2TOOT

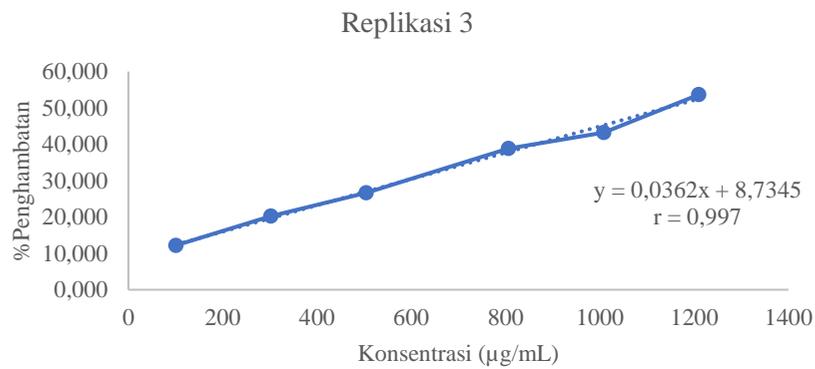
Replikasi 1



Replikasi 2



Replikasi 3



c. Ekstrak Metanol
Replikasi 1

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Konsentrasi dalam kuvet ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbansi Kontrol	Absorbansi Sampel	%Penghambatan α -amilase	IC ₅₀
1009	100,9	1,126	1,006	10,657	749,985
2018	201,8	1,126	0,912	19,005	
4036	403,6	1,126	0,787	30,107	
5045	504,5	1,126	0,711	36,856	
8072	807,2	1,126	0,536	52,398	

Replikasi 2

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Konsentrasi dalam kuvet ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbansi Kontrol	Absorbansi Sampel	%Penghambatan α -amilase	IC ₅₀
1011	101,1	1,060	0,934	11,887	774,867
2022	202,2	1,060	0,854	19,434	
4044	404,4	1,060	0,723	31,792	
5055	505,5	1,060	0,675	36,321	
8088	808,8	1,060	0,525	50,472	

Replikasi 3

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Konsentrasi dalam kuvet ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbansi Kontrol	Absorbansi Sampel	%Penghambatan α -amilase	IC ₅₀
1004	100,4	1,083	0,972	10,249	756,021
2008	200,8	1,083	0,856	20,960	
4016	401,6	1,083	0,756	30,194	
5020	502,0	1,083	0,674	37,765	
8032	803,2	1,083	0,529	51,154	

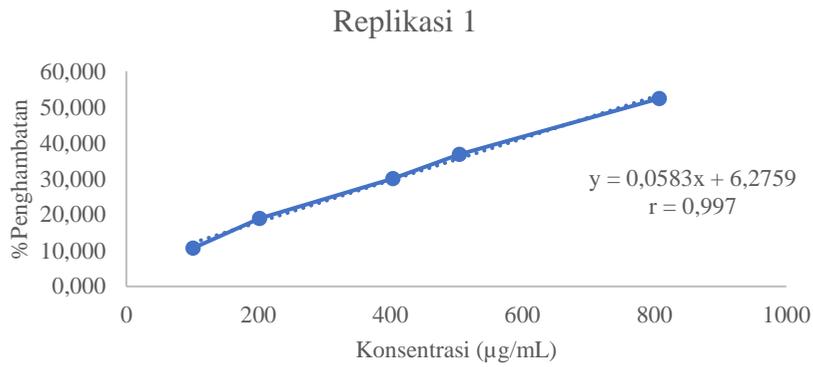
Rata-rata = 760,291

SD = 12,979

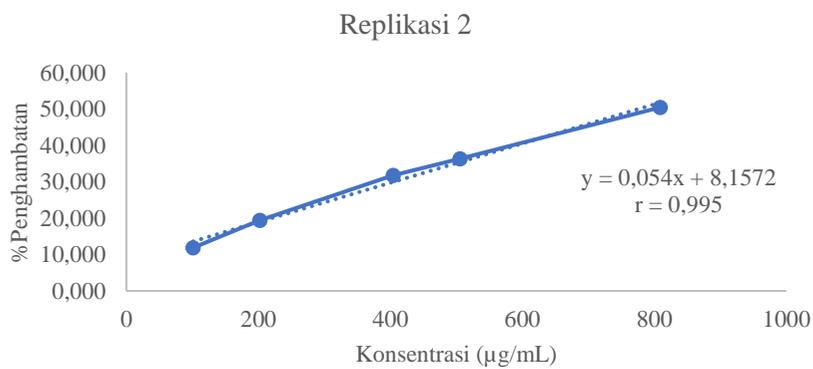
RSD = 1,707%

Regresi linier IC₅₀ Ekstrak Metanol

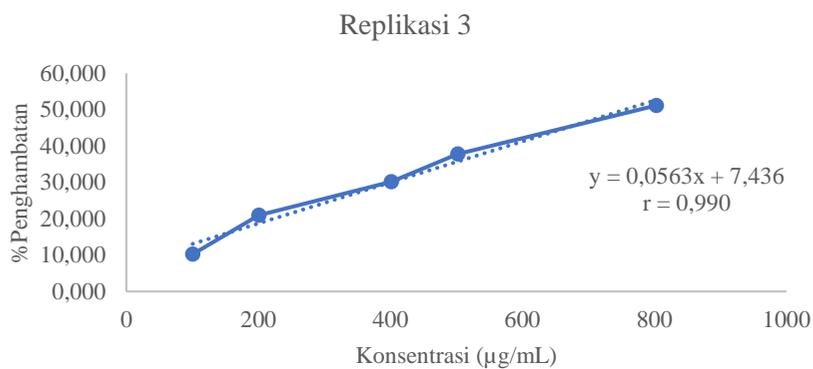
Replikasi 1



Replikasi 2



Replikasi 3



d. Ekstrak Etil Asetat
Replikasi 1

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Konsentrasi dalam kuvet ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbansi Kontrol	Absorbansi Sampel	%Penghambatan α -amilase	IC ₅₀
2020	606	1,086	0,94	13,444	2815,711
4040	1212	1,086	0,817	24,770	
6066	1818	1,086	0,685	36,924	
8080	2424	1,086	0,623	42,634	
10100	3030	1,086	0,515	52,578	

Replikasi 2

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Konsentrasi dalam kuvet ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbansi Kontrol	Absorbansi Sampel	%Penghambatan α -amilase	IC ₅₀
2020	606	1,092	0,968	11,355	2822,377
4040	1212	1,092	0,832	23,810	
6066	1818	1,092	0,705	35,440	
8080	2424	1,092	0,623	42,949	
10100	3030	1,092	0,521	52,289	

Replikasi 3

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Konsentrasi dalam kuvet ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbansi Kontrol	Absorbansi Sampel	%Penghambatan α -amilase	IC ₅₀
2032	609,6	1,085	0,967	10,876	2845,483
4064	1219,2	1,085	0,876	19,263	
6096	1828,8	1,085	0,689	36,498	
8128	2438,4	1,085	0,621	42,765	
10160	3048	1,085	0,519	52,166	

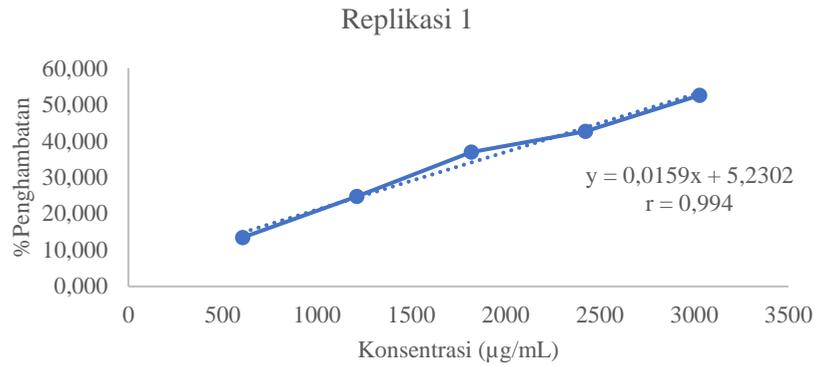
Rata-rata = 2827,857

SD = 15,624

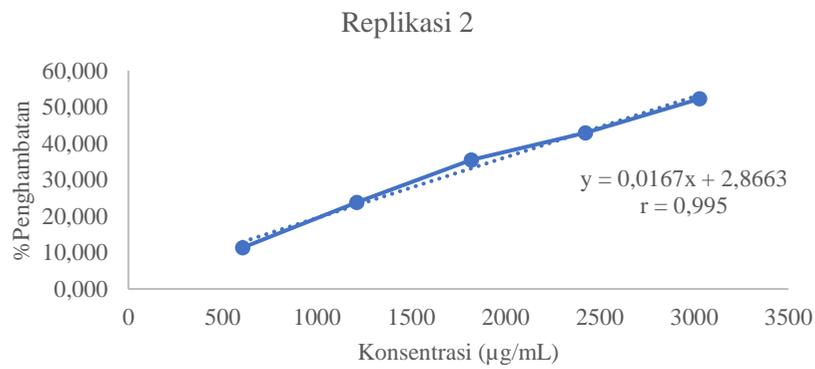
RSD = 0,553%

Regresi linier IC₅₀ Ekstrak Etil Asetat

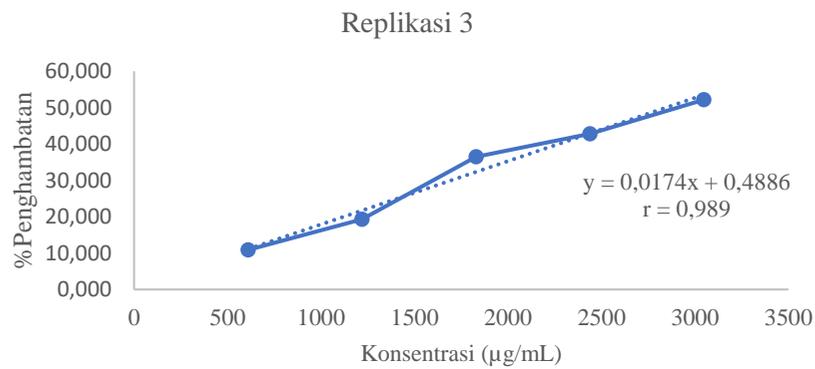
Replikasi 1



Replikasi 2



Replikasi 3



Lampiran 7 Hasil Determinasi



LEMBAGA ILMU PENGETAHUAN INDONESIA
(INDONESIAN INSTITUTE OF SCIENCES)
BALAI KONSERVASI TUMBUHAN
KEBUN RAYA PURWODADI
 Jl. Raya Surabaya - Malang Km. 65 Purwodadi - Pasuruan 67163
 Telp. (+62 343) 615033, Faks. (+62 341) 426046
 website : <http://www.krpurwodadi.lipi.go.id>



SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI TUMBUHAN
No: 416 /IPH.06/HM/III/2018

Kepala Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi LIPI dengan ini menerangkan bahwa material tumbuhan yang dibawa oleh:

Nama : Mila Nur Azizah
 NIM : 142210101073
 Instansi : Fakultas Farmasi Universitas Jember
 Tanggal material : 12 Maret 2018
 diterima

Telah diidentifikasi/determinasi berdasarkan koleksi herbarium dan koleksi kebun serta referensi ilmiah, dengan hasil sebagai berikut:

Kingdom : Plantae
 Division : Magnoliophyta
 Class : Magnoliopsida
 Subclass : Rosidae
 Ordo : Polygalales
 Family : Polygalaceae
 Genus : Xanthophyllum
 Species : *Xanthophyllum vitellinum* (Bl.) Dietr.

Referensi:

1. Backer CA & Bakhuizen van den Brink RC. 1965. Flora of Java Vol.II. NVP Noordhoff, Groningen, The Netherlands. Hal. 200
2. Cronquist A. 1981. An Integrated System of Classification of Flowering Plants. Columbia University Press, New York, USA. Hal. XVI
3. M.S.M.Sosef, L.T. Hong dan S.Prawirohatmodjo, 1998, PROSEA (Plants Resources of South-East Asia) No 5 (3) ;Timber trees: Lesser-known timbers, Hal. 586

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Purwodadi, 19 Maret 2018
 An. Kepala
 Kepala Seksi Eksplorasi dan Koleksi Tumbuhan



Sugeng Budiharta, M.Sc, P.hD