



**UNIVERSITAS INDONESIA**

**UJI AKTIVITAS PENGHAMBATAN  $\alpha$ -GLUKOSIDASE  
DAN PENAPISAN FITOKIMIA DARI BEBERAPA TANAMAN  
FAMILI APOCYNACEAE DAN CLUSIACEAE**

**SKRIPSI**

**EVA KURNIA SEPTIANA  
0706264633**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI  
DEPOK  
JUNI 2011**



**UNIVERSITAS INDONESIA**

**UJI AKTIVITAS PENGHAMBATAN  $\alpha$ -GLUKOSIDASE DAN  
PENAPISAN FITOKIMIA DARI BEBERAPA TANAMAN  
FAMILI APOCYNACEAE DAN CLUSIACEAE**

**SKRIPSI**

**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar  
Sarjana Farmasi**

**EVA KURNIA SEPTIANA  
0706264633**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI  
DEPOK  
JUNI 2011**

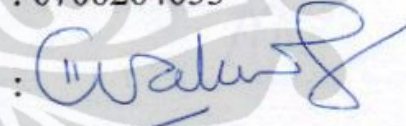
## HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

Skripsi ini adalah hasil karya saya sendiri,  
Dan semua sumber baik yang dikutip maupun yang dirujuk  
Telah saya nyatakan dengan benar.

Nama : Eva Kurnia Septiana

NPM : 0706264633

Tanda Tangan



Tanggal : 28 JUNI 2011

## HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh :  
Nama : Eva Kurnia Septiana  
NPM : 0706264633  
Program Studi : Sarjana Farmasi  
Judul Skripsi : Uji Aktivitas Penghambatan  $\alpha$ -Glukosidase dan Penapisan Fitokimia dari Beberapa Tanaman Famili Apocynaceae dan Clusiaceae

Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi pada Program Studi Sarjana Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia

### DEWAN PENGUJI

Pembimbing I : Dr. Berna Elya, M.Si. (.....)

Pembimbing II : Dr. Abdul Mun'im, M.Si. (.....)

Penguji I : Dr. Amarila Malik, M.Si. (.....)

Penguji II : Drs. Umar Mansur, M.Sc. (.....)

Penguji III : Dra. Maryati Kurniadi, M.Si. (.....)

Ditetapkan di : Depok  
Tanggal : 28 JUNI 2011

## UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur saya penjatkan kehadiran Allah SWT, karena atas berkat dan rahmat-Nya, saya dapat menyelesaikan skripsi ini. Penulisan skripsi ini dilakukan dalam rangka memenuhi salah satu syarat untuk mencapai gelar Sarjana Farmasi pada Departemen Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia.

Saya menyadari bahwa, tanpa bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak, sangatlah sulit bagi saya untuk menyelesaikan skripsi ini. Oleh karena itu, saya mengucapkan terima kasih kepada :

- (1) Dr. Berna Elya, M. Si. dan Dr. Abdul Mun'im, M. Si, selaku dosen pembimbing yang telah menyediakan waktu, tenaga, dan pikiran untuk mengarahkan saya dalam penyusunan skripsi ini;
- (2) Prof. Dr. Yahdiana Harahap, M. Si, selaku ketua Departemen Farmasi FMIPA UI;
- (3) Pharm. Dr. Joshita Djajadisastra M.S., Ph.D selaku pembimbing akademik yang telah memberikan bimbingan selama selama penulis menempuh pendidikan di Farmasi UI;
- (4) Dr. Katrin, M.Si selaku ketua Laboratorium Fitokimia Departemen Farmasi FMIPA UI;
- (5) Bapak Hayun, M. Si selaku ketua Laboratorium Kimia Farmasi Analisis Departemen Farmasi FMIPA UI;
- (6) Para dosen yang telah memberikan ilmu pengetahuan selama menempuh pendidikan di Farmasi FMIPA UI;
- (7) Laboran dan penanggung jawab laboratorium Fitokimia serta staf pegawai departemen Farmasi FMIPA UI yang telah membantu saya selama menempuh pendidikan di Farmasi FMIPA UI;
- (8) Pihak Dexa Medica yang telah memberikan bantuan working standar akarbose sebagai pembanding sampel;

- (9) Orang tua saya yaitu Sukarmanta dan Endang Mulyani Kristiani serta kakak saya Evi Tri Wulandari dan nenek saya yang telah memberikan bantuan dukungan materiil dan moral;
- (10) Teman-teman di laboratorium Fitokimia, Farmasi angkatan 2007 dan teman-teman hujut hulup yang telah banyak membantu saya dalam menyelesaikan skripsi ini; dan
- (11) Semua pihak yang turut membantu dan memberikan dukungan selama saya melakukan penelitian dan penyusunan skripsi.

Akhir kata, saya berharap Tuhan Yang Maha Esa berkenan membalas segala kebaikan semua pihak yang telah membantu. Semoga skripsi ini membawa manfaat bagi pengembangan ilmu.

Penulis

2011



**HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI  
TUGAS AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

---

Sebagai sivitas akademik Universitas Indonesia, saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Eva Kurnia Septiana  
NPM : 0706264633  
Program Studi : Sarjana Farmasi  
Departemen : Farmasi  
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Jenis Karya : Skripsi

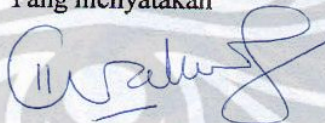
demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Indonesia Hak Bebas Royalti Noneksklusif (*Non-exclusive Royalty Free Right*) atas karya ilmiah saya yang berjudul :

Penapisan Fitokimia dan Uji Aktivitas Penghambatan  $\alpha$ -Glukosidase dari Beberapa Tanaman Famili Apocynaceae dan Clusiaceae.

Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Indonesia berhak menyimpan, mengalihmedia/formatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (database), merawat, memublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : .....  
Pada tanggal : .....  
Yang menyatakan



( Eva Kurnia Septiana )

## ABSTRAK

Nama : Eva Kurnia Septiana  
Program Studi : Sarjana Farmasi  
Judul : Uji Aktivitas Penghambatan  $\alpha$ -Glukosidase dan Penapisan Fitokimia dari Beberapa Tanaman Famili Apocynaceae dan Clusiaceae

Diabetes melitus adalah penyakit yang serius dan kronis di mana tingkat terjadinya meningkat seiring dengan peningkatan obesitas dan penuaan. Salah satu pendekatan terapi untuk mengurangi hiperglikemia *postprandial* adalah dengan memperlambat penyerapan glukosa karena adanya penghambatan terhadap  $\alpha$ -glukosidase. Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui beberapa tanaman yang memiliki aktivitas penghambatan  $\alpha$ -glukosidase serta melakukan identifikasi golongan kandungan kimia dari famili Apocynaceae dan Clusiaceae. Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat tiga ekstrak yang memiliki nilai  $IC_{50} < 5 \mu\text{g/ml}$ , yaitu ekstrak daun dan kulit batang *Garcinia daedalanthera* serta ekstrak daun *Garcinia kydia* menunjukkan nilai  $IC_{50}$  2,33  $\mu\text{g/ml}$ , 3,71  $\mu\text{g/ml}$  dan 3,88  $\mu\text{g/ml}$ . Hasil penapisan fitokimia menunjukkan bahwa famili Apocynaceae mengandung alkaloid, saponin, terpen, dan glikosida, sedangkan famili Clusiaceae mengandung tanin, terpen, saponin dan glikosida.

Kata kunci :  $\alpha$ -glukosidase, diabetes mellitus, *Garcinia daedalanthera*,  
*Garcinia kydia*  
xiv + 106 halaman : 25 gambar; 29 tabel; 5 lampiran  
Tinjauan Pustaka : 69 (1947-2011)



## ABSTRACT

Name : Eva Kurnia Septiana  
Program Study : Pharmacy  
Judul : Screening of  $\alpha$ -Glucosidase Inhibiting Activity and  
Phytochemical Screening on Some Plants from Apocynaceae  
and Clusiaceae Families

Diabetes mellitus is a most serious and chronic disease whose incidence rates are increasing with incidences of obesity and aging of the general population over the world. One therapeutic approach for decreasing postprandial hyperglycemia is to retard absorption of glucose by inhibition of  $\alpha$ -glucosidase. The aim of this research was to screen some plants that had  $\alpha$ -glucosidase inhibiting activity and identified chemical groups of the Apocynaceae and Clusiaceae families. The results showed that three extracts have  $IC_{50}$  value  $< 5 \mu\text{g/ml}$ . The leaves and barks extracts of *Garcinia daedalanthera* also leaves extract of *Garcinia kydia* showed high inhibitory activities, with  $IC_{50}$  values of  $2.33 \mu\text{g/ml}$ ,  $3.71 \mu\text{g/ml}$  and  $3.88 \mu\text{g/ml}$ . The results of phytochemistry screening showed that Apocynaceae family contains class of alkaloid, terpen, saponin and glycoside, while Clusiaceae family contains tannin, terpen, saponin and glycoside.

Key words : *Garcinia kydia*, *Garcinia daedalanthera*,  $\alpha$ -glucosidase, diabetes mellitus.

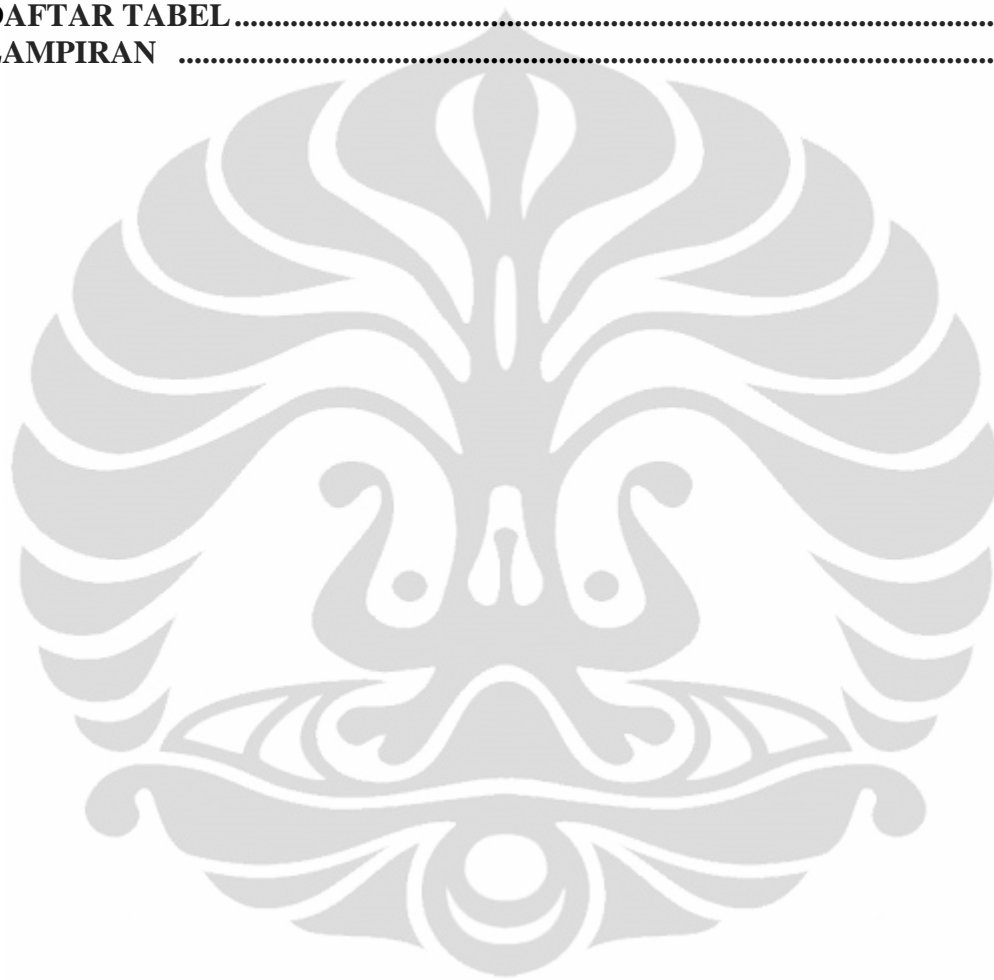
xiv + 106 pages : 25 figures; 29 tables; 5 appendixes

Bibliography : 69 (1947-2011)

## DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL .....	ii
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS .....	iii
HALAMAN PENGESAHAN .....	iv
KATA PENGANTAR .....	v
HALAMAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH .....	vii
ABSTRAK .....	viii
ABSTRACT .....	ix
DAFTAR ISI .....	x
DAFTAR GAMBAR .....	xii
DAFTAR TABEL .....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN .....	xiv
<b>BAB 1. PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
1.1. Latar Belakang .....	1
1.2. Tujuan Penelitian .....	4
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA .....</b>	<b>5</b>
2.1. Famili Apocynaceae .....	5
2.2. Famili Clusiaceae .....	6
2.3. Deskripsi Tanaman .....	7
2.4. Simplisia .....	11
2.5. Kemotaksonomi .....	11
2.6. Ekstraksi dan Ekstrak .....	11
2.7. Penapisan Fitokimia .....	14
2.8. Diabetes Mellitus .....	18
2.9. Enzim $\alpha$ -Glukosidase .....	23
2.10. Akarbose .....	24
2.11. Aktivitas Penghambatan Enzim $\alpha$ -Glukosidase .....	25
2.12. Uji Aktivitas Penghambatan Enzim $\alpha$ -Glukosidase .....	27
2.13. Kinetika Enzimatis .....	28
2.14. Spektrofotometer UV-Vis .....	31
<b>BAB 3. METODE PENELITIAN .....</b>	<b>34</b>
3.1. Waktu dan Tempat .....	34
3.2. Bahan Uji .....	34
3.3. Bahan Kimia .....	34
3.4. Alat .....	35
3.5. Cara Kerja .....	35
<b>BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>45</b>
4.1. Penyiapan Simplisia .....	45
4.2. Identifikasi Kandungan Kimia .....	46
4.3. Uji Pendahuluan .....	51

4.4. Pengujian Aktivitas Penghambatan $\alpha$ -Glukosidase .....	52
4.5. Penentuan Kinetika Inhibisi Enzim .....	55
<b>BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>57</b>
5.1. Kesimpulan .....	57
5.2. Saran .....	57
<b>DAFTAR ACUAN .....</b>	<b>58</b>
<b>DAFTAR GAMBAR.....</b>	<b>64</b>
<b>DAFTAR TABEL.....</b>	<b>70</b>
<b>LAMPIRAN .....</b>	<b>101</b>



## DAFTAR GAMBAR

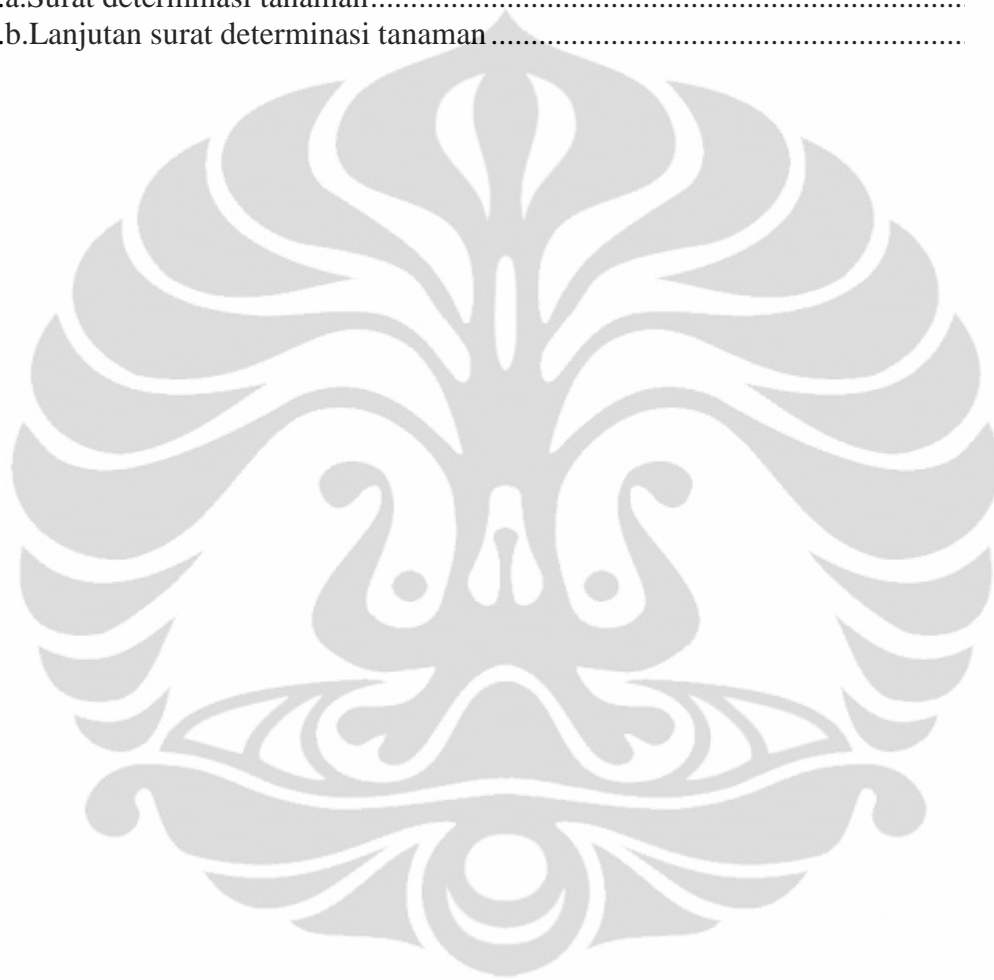
Gambar	Halaman
2.1. Tempat aksi obat pada pengobatan diabetes.....	21
2.2. Penghambatan akarbose secara kompetitif di usus halus .....	24
2.3. Struktur Akarbose dan struktur oligosakarida dalam amilum .....	25
2.4. Penghambatan enzim secara kompetitif dan non-kompetitif .....	26
2.5. Persamaan reaksi enzimatik $\alpha$ -glukosidase dan <i>p</i> -nitrofenil- $\alpha$ -D-Glukopiranosida .....	28
2.6. Proses katalisis oleh enzim untuk menghasilkan produk .....	29
2.7. Grafik Lineweaver-Burk yang menggambarkan adanya penghambatan secara kompetitif .....	30
2.8. Grafik Lineweaver-Burk yang menggambarkan adanya penghambatan secara non-kompetitif .....	31
4.1. Grafik optimasi enzim $\alpha$ -glukosidase 0,15 unit/mL pada berbagai variasi konsentrasi substrat, yaitu 20; 10; 5; 2,5; 1,25; 0,6 dan 0,3 mM .....	52
4.2. Grafik Kinetika Enzimatik <i>G.kydia</i> pada konsentrasi substrat pNP 1,25; 2,5; 5; 10 dan 20 ppm, serta konsentrasi ekstrak 4,25; 8,49; 16,98 dan 33, 97 ppm .....	56
4.3. <i>Rauwolfia sumatrana</i> Jack .....	65
4.4. <i>Strophanthus caudatus</i> (Blume.f.) Kurz .....	65
4.5. <i>Strophanthus gratus</i> Baill .....	65
4.6. <i>Tabernaemontana sphaerocarpa</i> Blume .....	65
4.7. <i>Willughbeia tenuiflora</i> Dyer ex Hook.f .....	65
4.8. <i>Calophyllum tomentosum</i> Wight .....	65
4.9. <i>Garcinia bancana</i> Miq .....	66
4.10. <i>Garcinia bancana</i> Miq .....	66
4.11. <i>Garcinia hombroniana</i> Pierre .....	66
4.12. <i>Garcinia kydia</i> Roxb .....	66
4.13. <i>Garcinia rigida</i> Miq .....	66
4.14. Optimasi substrat pada konsentrasi 20; 10; 5; 2,5; dan 1,25 mM dengan konsentrasi enzim 0,15 unit/ ml.....	67
4.15. Uji aktivitas penghambatan standar akarbose pada konsentrasi 1%; 0,5%; 0,25% dan 0,125% terhadap enzim $\alpha$ -Glukosidase dengan konsentrasi 0,15 unit/mL.....	68
4.16. Uji aktivitas penghambatan <i>Garcinia kydia</i> terhadap enzim $\alpha$ -glukosidase dengan konsentrasi 0,15 unit/mL.....	69

## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
2.1. Tanaman uji yang digunakan dalam penelitian .....	7
3.1. Sistem reaksi uji inhibisi $\alpha$ -glukosidase.....	43
4.1. Nilai IC <sub>50</sub> dari standar akarbose dan simplisia uji .....	55
4.2. Tabel susut pengeringan .....	71
4.3. Rendemen ekstrak .....	72
4.4. Identifikasi kandungan kimia pada famili Apocynaceae.....	73
4.5. Hasil identifikasi kandungan kimia famili Apocynaceae .....	75
4.6. Identifikasi kandungan kimia pada famili Clusiaceae.....	77
4.7. Hasil identifikasi kandungan kimia famili Ckusiaceae .....	79
4.8. Optimasi konsentrasi enzim $\alpha$ -Glukosidase dengan substrat 10 mM dan 20 mM .....	81
4.9. Optimasi substrat p-Nitrofenil- $\alpha$ -D-Glukopiranosida (pNP) dengan enzim 0,15 unit/ml .....	82
4.10. Aktivitas penghambatan standar Akarbose .....	83
4.11. Aktivitas penghambatan ekstrak <i>Rauvolfia sumatrana</i> Folium .....	84
4.12. Aktivitas penghambatan ekstrak <i>Strophantus caudatus</i> Folium .....	85
4.13. Aktivitas penghambatan ekstrak <i>Strophantus caudatus</i> Cortex .....	86
4.14. Aktivitas penghambatan ekstrak <i>Strophantus gratus</i> Folium .....	87
4.15. Aktivitas penghambatan ekstrak <i>Strophantus gratus</i> Cortex .....	88
4.16. Aktivitas penghambatan ekstrak <i>Tabernaemontana sphaerocarpa</i> Folium .....	89
4.17. Aktivitas penghambatan ekstrak <i>Willughbeia tenuiflora</i> Folium.....	90
4.18. Aktivitas penghambatan ekstrak <i>Willughbeia tenuiflora</i> Cortex .....	91
4.19. Aktivitas penghambatan ekstrak <i>Calophyllum tomentosum</i> Folium .....	92
4.20. Aktivitas penghambatan ekstrak <i>Garcinia bancana</i> Folium.....	93
4.21. Aktivitas penghambatan ekstrak <i>Garcinia daedalanthera</i> Folium .....	94
4.22. Aktivitas penghambatan ekstrak <i>Garcinia daedalanthera</i> Cortex .....	95
4.23. Aktivitas penghambatan ekstrak <i>Garcinia hombroniana</i> Folium .....	96
4.24. Aktivitas penghambatan ekstrak <i>Garcinia kydia</i> Folium.....	97
4.25. Aktivitas penghambatan ekstrak <i>Garcinia rigida</i> Folium.....	98
4.26. Kinetika penghambatan enzim $\alpha$ -glukosidase .....	99
4.27. Hasil perhitungan tetapan Michaelis-Menten.....	100

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Skema kerja .....	102
2.a.Skema pengukuran blanko.....	103
2.b.Skema pengukuran sampel .....	104
3.a.Surat determinasi tanaman.....	105
3.b.Lanjutan surat determinasi tanaman.....	106





# BAB 1

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Indonesia adalah negara yang kaya akan tanaman obat dan potensial untuk dikembangkan, namun pengelolaannya belum dilakukan secara maksimal. Kekayaan alam tumbuhan di Indonesia meliputi 30.000 jenis tumbuhan dari total 40.000 jenis tumbuhan di dunia dan 940 jenis diantaranya merupakan tumbuhan berkhasiat obat. Berdasarkan hasil penelitian, dari sekian banyak jenis tanaman obat, baru 20-22% yang dibudidayakan (Kementrian Kehutanan, 2010).

Beberapa tanaman telah diketahui merupakan salah satu sumber bagi bahan baku obat diabetes melitus karena diantara tumbuhan tersebut memiliki senyawa-senyawa yang berkhasiat, diantaranya *christinin A*, *xanton*, *bellidifolin*, *thysanolacton*, serta masih banyak lagi yang masih dalam tahap pengujian. Diantara 250.000 spesies tumbuhan obat di seluruh dunia diperkirakan banyak yang mengandung senyawa yang berkhasiat sebagai terapi diabetes melitus yang belum ditemukan. Untuk mendapatkan obat diabetes melitus dari tumbuhan diperlukan suatu cara-cara pengujian yang memadai mulai dari uji preskrining, uji skrining dan berakhir pada uji klinik (Suharmiati, 2003).

Pada famili Apocynaceae telah diketahui 5 tanaman dengan aktivitas antidiabetes, yaitu *Alstonia scholaris* (Jong-Anurakkun, Bhandari & Kawabata, 2006), *Catharanthus roseus* (Rasineni et al, 2010), *Chonemorpha fragrans* (Shende et al., 2009), *Holarrhena antydysenterica* (Ali, Chatterjee, De, Bera, & Ghosh, 2009) dan *Nerium indicum* (Sikarwar et al., 2009). Pada famili Clusiaceae telah diketahui 5 tanaman dengan aktivitas antidiabetes, yaitu *Garcinia atroviridis* (Yamada, Hida, & Yamada, 2007), *Garcinia brevipedicellata* (Ngoupayo, 2008), *Garcinia cambogia*, *Garcinia indica* (Yamada, Hida & Yamada, 2007) dan *Garcinia kola* (Adaramoye & Adeyemi, 2006).

Beberapa tanaman obat telah diteliti secara ilmiah mengenai aktivitasnya sebagai antidiabetes, meliputi aktivitas untuk menghambat enzim  $\alpha$ -glukosidase,

menginduksi sekresi insulin dan memperbaiki sensitivitas insulin (Hongxiang, et al., 2009). Penelitian yang saat ini sedang berkembang adalah dengan mekanisme penghambatan enzim  $\alpha$ -glukosidase. Penghambatan oleh enzim  $\alpha$ -glukosidase pada bagian vili-vili dinding usus halus dapat mengganggu pencernaan karbohidrat. Penghambatan ini menyebabkan absorpsi karbohidrat setelah makan diperlambat sehingga menyebabkan efek penurunan kadar glukosa darah dan kadar insulin, serta tercapainya kontrol glikemik yang lebih baik. Penghambatan  $\alpha$ -glukosidase secara luas digunakan untuk pengobatan pasien dengan diabetes tipe II (Cheng dan Fantus, 2005).

Beberapa penghambat  $\alpha$ -glukosidase alami yang telah digunakan secara klinis adalah akarbose, voglibose, dan miglitol (Matthaei et al., 2003). Akarbose, voglibose dan miglitol merupakan agen penghambat enzim  $\alpha$ -glukosidase yang sudah digunakan secara klinik dengan kombinasi bersama diet atau agen antidiabetes lain untuk mengontrol tingkat glukosa darah pasien. Namun obat ini memiliki efek samping diantaranya kembung, diare dan sakit perut (Akarbose, 2001). Untuk menghindari maupun mengurangi efek samping dari kedua obat tersebut dan juga untuk memperbanyak pilihan obat, perlu dilakukan penelitian untuk mencari agen penghambat enzim  $\alpha$ -glukosidase yang baru (Sio-Hong Lam *et al.*, 2007).

Upaya pencarian untuk terapi diabetes melitus terus dilakukan karena diabetes melitus merupakan penyakit yang sangat serius dan bersifat kronis, di mana tingkat terjadinya penyakit meningkat seiring dengan meningkatnya angka kegemukan dan juga karena faktor usia (penuaan) dari populasi manusia di seluruh dunia (Li et al., 2005). Jumlah penderita diabetes melitus diproyeksikan meningkat dari 171 juta pada tahun 2000 menjadi 366 juta pada tahun 2030, di mana Indonesia merupakan negara yang menempati urutan keempat dengan penderita diabetes terbanyak di dunia setelah India, Cina dan Amerika. Penduduk perkotaan di negara-negara berkembang diproyeksikan meningkat dua kali lipat antara tahun 2000 dan 2030. Perubahan demografis yang paling penting untuk prevalensi diabetes di seluruh dunia nampak dengan adanya peningkatan proporsi pada penduduk usia 65 tahun (Wild et al., 2004).

Peningkatan jumlah penderita diabetes tipe II sudah menjadi perhatian serius. Berbagai penelitian dilakukan untuk terus mengeksplorasi agen terapeutik baru yang mampu mengobati diabetes tipe ini. Meskipun pengobatan diabetes tipe II terus

berkembang pada beberapa dekade terakhir, namun resistensi obat masih menjadi masalah besar yang membutuhkan solusi efektif. Hal tersebut menyebabkan obat yang bekerja pada target yang unik dan juga tanpa masalah toleransi menjadi tujuan ideal yang ingin dicapai oleh para peneliti (Sio-Hong Lam, et al., 2007).

Pada penelitian ini dilakukan penapisan fitokimia serta uji aktivitas penghambatan enzim  $\alpha$ -glukosidase terhadap beberapa tanaman famili Apocynaceae dan Clusiaceae yang didapatkan berdasarkan kesamaan famili dan kemungkinan kandungan kimia yang sama (kemotaksonomi). Simplisia dari famili Apocynaceae dan Clusiaceae diidentifikasi kandungan kimianya serta dilakukan uji aktivitas penghambatan enzim  $\alpha$ -glukosidase yang dilakukan secara *in vitro* dengan metode *Spectrophotometric Stop Rate Determination*. Uji secara *in vitro* dilakukan sebagai tahap skrining awal sebelum masuk ke dalam tahap uji terhadap hewan dan manusia. Uji *in vitro* memiliki kelebihan yaitu mekanisme kerja yang cukup spesifik, bahan uji yang dibutuhkan dan biaya yang diperlukan dalam tes *in vitro* lebih sedikit dibanding uji dengan menggunakan hewan serta dapat mengurangi penggunaan makhluk hidup sebagai bahan uji (Soumyanath & Srijayanta, 2006). Metode spektrofotometri menggunakan pseudo-substrat p-nitofenil- $\alpha$ -D-glukopiranosida dan enzim  $\alpha$ -glukosidase dari ragi telah banyak digunakan untuk uji *in vitro* (Matsumoto, Takemata, Takayama, Abesundara, Matsui, & Katayama, 2002).

Pengukuran aktivitas dilakukan dengan mengamati dan mencatat hasil penghambatan reaksi enzimatik yang diukur serapannya secara spektrofotometri pada panjang gelombang 400 nm. Kemudian serapan yang terukur digunakan untuk menghitung persen inhibisi enzim dan menghitung  $IC_{50}$  (Dewi et al., 2007). Hasil yang didapat dari sampel kemudian dibandingkan dengan standar akardose. Percobaan dilakukan dengan variasi konsentrasi sediaan uji untuk mengetahui konsentrasi paling optimal yang dapat menghambat aktivitas enzim  $\alpha$ -glukosidase.

## 1.2 Tujuan Penelitian

1. Mengetahui aktivitas penghambatan enzim  $\alpha$ -glukosidase secara *in vitro* dari beberapa tanaman famili Apocynaceae dan Clusiaceae.
2. Mengetahui golongan senyawa kimia dalam tanaman famili Apocynaceae dan Clusiaceae.



## BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Famili Apocynaceae

Famili Apocynaceae memiliki deskripsi tanaman berupa pohon, liana, perdu atau semak. Banyak dijumpai bahwa tanaman pada famili Apocynaceae mengeluarkan getah dan kadang-kadang berduri. Bunga berkelamin ganda; kelopak dan segmen tumpang tindih; daun-daun mahkota bunga berlekatan dengan letak yang terputar, benang sari tertancap pada tabung mahkota yang berseling dengan lekukan; benang sari jumlahnya sama dengan jumlah mahkota bunga, berada dalam tabung mahkota bunga atau pada dasar bunga; kepala sari memanjang mengikuti lajur kepala putik; terdapat 2 ruang sari; serbuk sari berbentuk bulir-bulir atau variasinya, dan kadang-kadang tidak ada; terdapat 1-2 bakal buah, sebagian besar jantan, bersel 1-2; kepala putik menyeluruh atau membelah dua, buah memiliki biji, merupakan buah kotak sejati atau yang terdiri dari 1-2 buah kotak; bakal buah kebanyakan dua namun terpisah dan dihubungkan dengan tangkai putik beruang satu biji dengan atau tanpa bulu, dapat bersayap maupun tidak. Genus dari famili Apocynaceae diantaranya Allamanda, Beaumontia, Carissa, Catharanthus, Chenomorpha, Hollarhena, Ichnocarpus, Ochrosia, Rauvolfia, Strophantus, Tabernaemontana dan Willughbeia (Backer & Brink, 1965).

Pada famili Apocynaceae yang diketahui memiliki aktivitas penghambatan terhadap enzim  $\alpha$ -glukosidase adalah *Alstonia scholaris*. Potensi aktivitas penghambatan enzim  $\alpha$ -glukosidase ditemukan dalam larutan ekstrak metanol daun kering. Pada hasil isolasi terhadap uji penghambatan  $\alpha$ -glukosidase terhadap serbuk usus kecil tikus dari larutan aseton ditemukan senyawa kuersetin 3-O- $\beta$ -D-silopiranosil (1'' $\rightarrow$ 2'')- $\beta$ -D-galaktopiranosida dan (-)-lioniresinol 3-O- $\beta$ -D-glukopiranosida. IC<sub>50</sub> terhadap sukrase adalah 1,95 mM dan maltase adalah 1,43 mM (Jong-Anurakkun, Bhandari & Kawabata, 2006).

## 2.2 Famili Clusiaceae

Famili Clusiaceae memiliki deskripsi tanaman berupa pohon atau semak, biasanya mengeluarkan getah. Daun tunggal dan letak berlawanan atau melingkar. Bunga pada ujung batang atau pada ketiak daun, bunga majemuk tak terbatas atau dapat seperti malai, berkelamin ganda, tunggal atau banyak kelamin; kelopak tertutup sepenuhnya sebelum mekar, kemudian membelah menjadi beberapa katup; jumlah kelopak 0-12 helai, kelopak beraturan berdasarkan simetrinya; benang sari hingga 5, baik bentuk bebas, terletak pada dasar atau muncul bersamaan; kepala sari duduk dengan tegak (kepala sari dan tangkainya memperlihatkan batas yang jelas); sel terdiri dari 2-4, kepala sari dapat membuka dengan celah membujur atau dengan sebuah liang pada ujung atau pangkal kepala sari yang menjadi jalan keluarnya serbuk sari; bakal buah sempurna atau dapat pula tidak lengkap, terdiri dari 1-12 atau lebih sel; bakal biji satu hingga tidak hingga pada tiap sel. Genus dari Famili Clusiaceae diantaranya *Callophyllum*, *Garcinia* dan *Hypericum* (Backer & Brink, 1965).

Pada famili Clusiaceae yang telah diketahui memiliki aktivitas penghambatan terhadap enzim  $\alpha$ -glukosidase adalah *Garcinia brevipedicellata*. Kulit batang *G.brevipedicellata* diukur penghambatan enzimnya menggunakan alat spektrofotometri UV-Vis. Para-nitrofenil- $\alpha$ -D-glucopiranosida (pNP-G) 0.7 mM digunakan sebagai substrat pada pH 6,9 dan enzim 500 unit/ ml. 1-Deoxynojirimycin (0.425mM) digunakan sebagai kontrol positif. Diketahui pada hasil penelitian didapatkan empat depsidon bernama brevipsidon A-D (1-4) bersama dengan damnacanthal, scopoletin dan campuran stigmasterol dan  $\beta$ -sitosterol yang memiliki aktivitas penghambatan terhadap  $\alpha$ -glukosidase (Ngoupayo, 2008). Tanaman yang digunakan pada penelitian dapat dilihat pada Tabel 2.1.



**Tabel 2.1 Tanaman uji yang digunakan dalam penelitian**

No	Nama Tanaman	Bagian Tanaman yang Digunakan
1.	Famili Apocynaceae	
	<i>Rauvolfia sumatrana</i> Jack	daun
	<i>Strophanthus caudatus</i> (Blume.f.)Kurz	daun dan kulit batang
	<i>Strophanthus gratus</i> Baill.	daun dan kulit batang
	<i>Tabernaemontana sphaerocarpa</i> Blume	daun
	<i>Willughbeia tenuiflora</i> Dyer ex Hook.f	daun dan kulit batang
2.	Famili Clusiaceae	
	<i>Calophyllum tomentosum</i> Wight.	daun
	<i>Garcinia bancana</i> Miq.	daun
	<i>Garcinia daedalanthera</i> Pierre.	daun dan kulit batang
	<i>Garcinia hombroniana</i> Pierre.	daun
	<i>Garcinia kydia</i> Roxb.	daun
	<i>Garcinia rigida</i> Miq.	daun

## 2.3 Deskripsi Tanaman

### 2.3.1 Famili Apocynaceae

#### 2.3.1.1 *Rauvolfia sumatrana* Jack

Sinonimnya adalah *Cyrtosiphonia sumatrana* (Jack) Miq. dengan nama Indonesia Pulau pipit. Nama daerahnya adalah Tampa Badak (Sumatera) dan Lame Lalaki (Jawa). Merupakan jenis yang baru dari genus *Rauvolfioideae*. Tanaman berupa pohon perdu. Daun kelopak  $\leq 1,5$  kali lebarnya. Tabung mahkota bunga 2,6-4,9 mm. Daun seperti kulit atau belulang; perbungaan biasanya dengan lebih dari 25 tabung. Mahkota bunga 2,4-3,4 kali lebih panjang dibanding kelopak, tangkai daun dan pelepah tidak kekuningan ketika kering; bulat buah atau agak bulat, puncak dari merikarp bulat dan tidak rata (ketika tidak rata, jarak antara apeks kurang dari sama dengan 0,3 kali panjang buah) (EISAI, 1986; Flora Malesiana, 2007).

### 2.3.1.2 *Strophanthus caudatus* (Blume.f.)Kurz.

Sinonimnya *S.terminalis* Blume. Merupakan tanaman dengan tinggi hingga 12 m. Daun: tangkai daun 3-18 mm; bentuk elips dan daging daun seperti kulit atau belulang, bulat telur terbalik atau bulat telur, panjang 5 hingga 23 cm dan lebar 1,8-11,5 cm, terdapat 6-12 pasang urat daun. Panjang batang 2-42 cm dan tangkai 3-11 mm. Mahkota bunga berwarna putih dengan ungu kecoklatan pada lobus atau keunguan merah dengan putih dan kuning di tengah dan memiliki panjang tabung 1,3-4,2 cm. Buah lonjong dan bagian ujungnya tumpul, dengan panjang 10-30 cm. Banyak terdapat di Sumatra, Kalimantan dan Jawa. Hidup di ketinggian 900 meter di atas permukaan laut. Berkhasiat sebagai stimulan jantung dan racun yang dioleskan pada anak panah (Flora Malesiana, 2007).

### 2.3.1.3 *Strophanthus gratus* Baill.

Nama Indonesianya adalah Oleander Rambat. Tumbuhan berupa pohon liana dengan tinggi 25 m, batang diameter 10 cm dan warna cabang hitam atau coklat keunguan. Daun bulat, bulat telur terbalik atau lonjong; panjang 5-18 cm dan lebar 2-9 cm. Bunga wangi, berwarna merah jambu, kelopak berjumlah 10-20 helai. Mahkota bunga tabung 1,9-4,2 kali panjang kelopak, berwarna putih, sedangkan kemerahan atau ungu dekat mulut luar; panjang 23-41 cm dan lebar 3-4,3 cm, meruncing ke arah puncak, berakhir di ujung sempit dan tumpul. Semua bagian mengandung Strophanthin, Cholin dan Trigonelin. *S.gratus* ditemukan di hutan primer dan sekunder, hutan margin dan tempat di ketinggian 650 m di atas permukaan laut. Di Jawa, tumbuh baik sampai ketinggian 1000 meter. Hasil dekoksi di Afrika pada berbagai bagian tumbuhan diminum sebagai pengobatan kencing nanah dan ekstrak digunakan sebagai obat sifilis dan tumor (EISAI, 1986; Prosea, 2002).

### 2.3.1.4 *Tabernaemontana sphaerocarpa* Blume

Nama Indonesianya Cembirit atau Jembirit. Merupakan tanaman dengan tinggi hingga 20 meter. Kulit kayu halus atau pecah-pecah dengan warna coklat gelap. Daun terletak sepasang berlawanan; tangkai daun 5-45 mm, bentuk lonjong, panjang 8-32 cm dan lebar 2,5-13,5 cm, terdapat 5-16 pasang urat sekunder. Bunga panjang 5-20 cm.

Daun kelopak bulat telur dengan panjang 2-4 mm, puncak bulat dan berbulu. Mahkota bunga putih, kadang-kadang dengan tabung kehijauan, tabung mahkota bunga 15-19 mm. Benang sari dimasukkan ke dalam bagian bawah tabung mahkota bunga; kepala sari 2,5-3,5 mm. Buah agak bulat dengan panjang 40-55 cm, puncak kebanyakan bulat. Tersebar di Jawa dan Sulawesi. Terdapat di ketinggian 1200 meter. Mengandung saponin pada daun dan batang, alkaloid dan flavonoid pada buah (Flora Malesiana, 2007).

#### 2.3.1.5 *Willughbeia tenuiflora* Dyer ex Hook.f

Nama Indonesianya adalah Jintahan labu. Merupakan tanaman berkayu, panjang tangkai daun adalah 1-2 cm; bentuk lonjong atau bulat telur terbalik. Perbungaan pada bagian ketiak daun dan sumbu pendek sepanjang 4,2 cm; perbungaan hingga 8-18 bunga. Daun kelopak bulat telur. Benang sari berada 1,3-2,7 mm dari dasar mahkota bunga yang panjang tabungnya 0,15-0,25 cm; Buah berbentuk buah pir dengan diameter 6-15 cm. Terdapat di Sumatera, Malaysia dan Singapura (Flora Malesiana, 2007).

### 2.3.2 **Famili Clusiaceae**

#### 2.3.2.1 *Calophyllum tomentosum* Wight.

Nama Indonesianya adalah bintangur. Pohon berukuran sedang dengan getah putih kuning. Daun terletak berlawanan dan bagian atas mengkilap. Bunga terletak di ketiak daun atau mirip dengan malai (ibu tangkainya mengadakan percabangan secara monopodial), jarang membentuk kelompok, bunga berkelamin ganda, terdiri dari 4 daun bunga; kelopak terdiri dari 0-8; benang sari berjumlah tak hingga; bakal buah berbentuk bulat atau bulat telur, bersel satu; bakal biji berjumlah satu, tembuni berada pada bagian dasar; kepala putik berbentuk corong; buah berbiji, kulit biji tipis atau tebal, kenyal atau seperti gabus (Backer & Brink, 1965).

### 2.3.2.2 Genus *Garcinia*

Pohon sedang atau semak tegak, sering kali dengan getah kuning sedang, bunga pada bagian ketiak daun dan jarang pada ujung batang, berkumpul, bunga majemuk yang umumnya bersifat terbatas dengan ibu tangkai yang pendek, atau bunga majemuk tak terbatas yang dari ujung ibu tangkainya mengeluarkan cabang-cabang yang sama panjangnya atau bentuk malai, berkelamin ganda ganda atau tunggal, berumah satu, berumah dua atau poligam (terdapat bunga jantan, betina dan ganda bersama-sama); daun kelopak 2,4 atau 5 helai; kelopak 4 helai; benang sari 7 atau tak hingga; kepala putik pada dasar putik; 1 bakal biji di setiap sel; tembuni berada di sudut tengah; kepala putik tersembunyi atau dapat terlihat, buah dengan kulit buah tipis atau tebal dan keras, beberapa bersel dan berbentuk bulat (Backer & Brink, 1965).

Pada jenis *Garcinia bancana* Miq. memiliki sinonim *G.lamponga* Miq., *G.oxyedra* Miq. dan *G.oxyphylla* Miq. Nama Indonesianya adalah Kacapura, Chempurah, Katuri, Kelabang dan Selapan (Sumatera), serta Asam gelugu koo. *G.bancana* merupakan pohon dengan tinggi 13-20 meter, batang lurus menjulang dan berwarna hitam serta mengeluarkan getah kuning. Daun terletak berlawanan dengan panjang 10-12,7 cm dan lebar 4,1-6,4 cm. Daging daun seperti kulit atau belulang, bentuk bulat telur dan bagian dasar melekat pada bagian tangkai daun. Daun berwarna coklat ketika kering. Memiliki bunga berwarna putih. Buah berwarna oranye kekuningan. Banyak tumbuh di Malaya dan Sumatera (EISAI, 1986; Widyatmoko dan Zinch, 1998).

*Garcinia daedalanthera* Pierre memiliki nama Indonesia yaitu Kandis, sedangkan *Garcinia hombroniana* Pierre memiliki nama Indonesia yaitu Borus, Beruwas, Manggis-utan atau Bruas. *G.hombroniana* Pierre merupakan pohon dengan ukuran kecil, getah putih dengan bunga merah. Buah sama dengan mangosteen (EISAI, 1986). *Garcinia rigida* Miq. memiliki nama Indonesia yaitu Manggis Liar dan Manggis Hutan, serta memiliki kandungan senyawa yaitu stigmasterol, triterpen dan asam oleat.

## 2.4 Simplisia

Simplisia adalah bahan alamiah yang dipergunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun juga dan kecuali dikatakan lain, berupa bahan yang dikeringkan. Simplisia dapat dibedakan menjadi simplisia nabati, simplisia hewani dan simplisia pelikan (mineral). Simplisia nabati adalah simplisia yang berupa tumbuhan utuh, bagian tumbuhan atau eksudat tumbuhan (Depkes, 1995b).

## 2.5 Kemotaksonomi

Berbagai tanaman obat dan beracun di Asia Tenggara sangat beragam membentuk kelompok taksonomi. Beberapa spesies dalam famili yang sama bahkan ada yang relatif banyak digunakan sebagai pengobatan. Penyebab ditemukannya tanaman pada famili yang sama sebagai tanaman obat dikarenakan adanya senyawa kimia yang umum ada pada jenis atau kelas tertentu, contohnya Apocynaceae dan Menispermaceae dengan alkaloidnya. Studi tumbuhan tidak dapat dilakukan tanpa identifikasi spesies botani yang tepat. Melalui studi taksonomi tanaman yang tepat, dapat dilakukan identifikasi untuk menemukan spesies yang menghasilkan zat yang diinginkan berdasarkan hubungan taksonomi dan kandungan kimia. Sebuah komponen tertentu lebih mungkin untuk hadir dalam suatu spesies yang terkait dengan spesies yang diketahui mengandung senyawa tertentu, sehingga berdasarkan persamaan taksonomi dapat membantu memprediksi adanya zat aktif dalam kelompok-kelompok tertentu dari tanaman (Prosea, 2002).

## 2.6 Ekstraksi dan Ekstrak

Ekstraksi adalah kegiatan penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut dengan pelarut cair (Depkes, 2000). Ekstrak adalah sediaan kental yang diperoleh dengan mengekstraksi senyawa aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (Depkes, 1995a). Tujuan

ekstraksi bahan alam adalah untuk menarik komponen kimia yang terdapat pada bahan alam. Ekstraksi ini didasarkan pada prinsip perpindahan massa komponen zat ke dalam pelarut, dimana perpindahan mulai terjadi pada lapisan antar muka kemudian berdifusi masuk ke dalam pelarut (Harborne, 1987).

Cairan pelarut dalam proses pembuatan ekstrak adalah pelarut yang baik (optimal) untuk senyawa kandungan yang berkhasiat atau yang aktif, sehingga dapat dipisahkan dari bahan dari senyawa kandungan lainnya, serta ekstrak hanya mengandung sebagian besar senyawa kandungan yang diinginkan. Pada prinsipnya cairan pelarut harus memenuhi syarat kefarmasian atau dikenal dengan spesifikasi *pharmaceutical grade*, sehingga pelarut yang diperbolehkan adalah air dan alkohol (etanol) serta campurannya (Depkes, 2000).

Alkohol alifatik dengan hingga tiga atom karbon atau campuran alkohol dengan air merupakan pelarut dengan kemampuan ekstraksi yang paling baik untuk hampir semua senyawa dengan berat molekul rendah, seperti alkaloid, saponin dan flavonoid. Etanol yang dicampur dengan air dapat menyebabkan terjadinya penggembungan partikel tanaman dan meningkatkan porositas dinding sel, sehingga memfasilitasi difusi dari senyawa yang diekstraksi dari bagian dalam sel di daerah sekeliling pelarut (Samuelsson, 1999). Beberapa cara ekstraksi yaitu maserasi, perkolasi, refluks, soxhlet, digesti, infuse dan dekok (Depkes, 2000).

## 2.6.1 Cara Dingin

### 2.6.1.1 Maserasi

Maserasi adalah proses ekstraksi simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan (suhu kamar). Secara teknologi termasuk ekstraksi dengan prinsip metode pencapaian konsentrasi pada keseimbangan. Maserasi kinetik berarti dilakukan pengadukan yang kontinu (terus menerus). Remaserasi berarti dilakukan pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserat pertama dan seterusnya.



### 2.6.1.2 Perkolasi

Perkolasi adalah ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru sampai sempurna (*exhaustive extraction*) yang umumnya dilakukan pada suhu kamar. Proses terdiri dari tahapan pengembangan bahan, tahap maserasi antara, tahap perkolasi sebenarnya (penetasan atau penampungan ekstrak), terus menerus sampai diperoleh ekstrak (perkolat) yang jumlahnya 1-5 kali bahan.

## 2.6.2 Cara Panas

### 2.6.2.1 Refluks

Refluks adalah ekstraksi dengan pelarut pada temperatur titik didihnya, selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik. Umumnya dilakukan pengulangan proses pada residu pertama sampai 3-5 kali sehingga dapat termasuk proses ekstraksi sempurna.

### 2.6.2.2 Soxhlet

Soxhlet adalah ekstraksi menggunakan pelarut yang selalu baru yang umumnya dilakukan dengan alat khusus sehingga terjadi ekstraksi kontinu dengan jumlah pelarut relatif konstan dengan adanya pendingin balik.

### 2.6.2.3 Digesti

Digesti adalah maserasi kinetik (dengan pengadukan kontinu) pada temperatur yang lebih tinggi dari temperatur ruangan (kamar), yaitu secara umum dilakukan pada temperatur 40-50<sup>0</sup>C.

### 2.6.2.4 Infus

Infus adalah ekstraksi dengan pelarut air pada temperatur penangas air (bejana infus tercelup) dalam penangas air mendidih, temperatur terukur (96-98<sup>0</sup>C) selama waktu tertentu (15-20 menit).

### 2.5.2.5 Dekok

Dekok adalah infus pada waktu 30 menit dan temperatur sampai titik didih air.

## 2.7 Penapisan Fitokimia

Penapisan kimia adalah pemeriksaan kandungan kimia secara kualitatif untuk mengetahui golongan senyawa yang terkandung dalam suatu tumbuhan. Pemeriksaan diarahkan pada senyawa metabolit sekunder yang memiliki khasiat bagi kesehatan, seperti alkaloid, flavonoid, glikosida, terpen, tannin, saponin dan kuinon (Harborn, 1987).

### 2.7.1 Alkaloid (Harborn, 1987; Prosea, 2002)

Alkaloid adalah senyawa basa yang mengandung satu atau lebih atom nitrogen, biasanya dalam gabungan, sebagai bagian dari sistem siklik. Senyawa ini biasanya memiliki aktivitas fisiologi pada manusia dan hewan. Macam dan strukturnya sangat banyak. Menurut sifatnya alkaloid umumnya memiliki sifat padat (kristal), walaupun ada yang cair dalam suhu kamar (contohnya nikotin), memutar bidang polarisasi, larut dalam air namun ada yang tidak larut dalam pelarut organik, bersifat basa (N) dan biasanya alkaloid terdapat dalam daun dan buah yang rasanya pahit. Alkaloid secara umum banyak terdapat pada tanaman dikotil dibanding tanaman monokotil, diantaranya pada famili *Amaryllidaceae*, *Liliaceae*, *Apocynaceae*, *Rubiaceae* dan *Solanaceae*.

Alkaloid biasanya diperoleh dengan cara mengekstraksi bahan tumbuhan menggunakan air yang diasamkan untuk melarutkan alkaloid sebagai garam. Alkaloid umumnya berada di dalam tanaman dalam bentuk garam yang bersifat larut air, sehingga golongan senyawa ini disari dengan menggunakan pelarut air dalam suasana asam, yaitu digunakan air suling dan asam klorida 2N. Selanjutnya larutan ini langsung diuji dengan reagen Mayer, Dragendorf dan Bouchardart. Reagen Mayer mengandung garam logam berat yaitu Kalium Raksa Iodida yang bereaksi dengan nitrogen alkaloid membentuk endapan. Reagen Dragendorf mengandung Bismuth-Kalium Iodida yang bereaksi dengan nitrogen alkaloid membentuk endapan, sedangkan reagen Bouchardart terdiri dari Iodium-Kalium Iodida yang bereaksi dengan alkaloid membentuk garam kompleks berwarna yang sukar larut dalam air (Roth & Blaschke, 1988).

### 2.7.2 Terpenoid (Harborne, 1987; Prosea, 2002)

Terpen adalah suatu senyawa yang tersusun atas isopren  $\text{CH}_2=\text{C}(\text{CH}_3)-\text{CH}=\text{CH}_2$  dan kerangka karbonnya dibangun oleh penyambungan dua atau lebih satuan  $\text{C}_5$  ini. Terpenoid terdiri atas beberapa macam senyawa, mulai dari komponen minyak atsiri, yaitu monoterpen dan seskuiterpen yang mudah menguap, diterpen yang sukar menguap, sampai senyawa yang tidak menguap, yaitu triterpen dan sterol.

Secara kimia, pada umumnya senyawa ini larut dalam lemak dan terdapat dalam sitoplasma sel tumbuhan. Biasanya senyawa ini diekstraksi dari jaringan tumbuhan dengan menggunakan eter dan kloroform. Steroid merupakan senyawa triterpen yang terdapat dalam bentuk glikosida. Senyawa ini biasanya diidentifikasi dengan reaksi Lieberman-Bouchard (anhidrat asetat- $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) yang memberikan warna hijau kehitaman sampai biru.

### 2.7.3 Saponin

Saponin adalah glikosida yang aglikonnya berupa sapogenin. Saponin bisa berupa saponin steroid, saponin triterpenoid maupun sapogenin yang berkaitan seperti sterol jenuh, terpena jenuh, diterpena dan komponen senyawa steroid tumbuhan misalnya kardenolida. Saponin triterpenoid ditemukan pada tanaman dalam bentuk glikosidanya atau triterpen bebasnya, sedangkan saponin steroid belum ditemukan dalam bentuk bebasnya.

Saponin adalah golongan senyawa glikosida yang mempunyai struktur steroid dan mempunyai sifat-sifat khas dapat membentuk larutan koloidal dalam air dan membuih bila dikocok. Saponin merupakan senyawa berasa pahit menusuk dan menyebabkan bersin dan sering mengakibatkan iritasi terhadap selaput lendir. Saponin merupakan steroid yang menjadi prekursor penting obat-obat golongan steroid (Harborn, 1987; Prosea, 2002).

Saponin merupakan senyawa aktif permukaan yang menimbulkan busa jika dikocok dengan air dan pada konsentrasi yang rendah sering menyebabkan hemolisis sel darah merah pada tikus, bersifat racun bagi hewan berdarah dingin terutama ikan, dan banyak diantaranya digunakan sebagai racun ikan. Identifikasi dapat dilakukan dengan

mengocok ekstrak dengan air hangat di dalam tabung reaksi dan akan timbul busa yang dapat bertahan lama, setelah penambahan HCl 2N busa tidak hilang (Depkes, 1995b).

Identifikasi saponin dengan pengocokan selama sepuluh detik dan terbentuknya busa yang bertahan selama 10 menit merupakan metode yang sederhana dan cepat, namun metode ini tidak dapat membedakan saponin triterpenoid dan saponin steroid. Pembentukan busa terjadi karena molekul saponin terdiri dari gugus hidrofor dan hidrofil. Bagian hidrofob adalah aglikonnya, sedangkan bagian hidrofil adalah glikonnya. Molekul-molekul ini menyebabkan adanya penurunan dari tegangan permukaan dan pada konsentrasi yang cukup tinggi dapat membentuk misela, yaitu bentuk struktur melingkar karena agregasi molekul akibat adanya gaya Van der Waals yang terjadi sepanjang ekor lipofilik dan gaya tolak ionik dari gugus hidroflik. Misela yang terbentuk, sebagian dari bentuk hidrofobiknya dapat dihilangkan dengan solubilisasi membentuk busa mikro-emulsi (Sirait, 2007; Hargreaves, 2003).

#### 2.7.4 Tanin (Harborn, 1987; Prosea, 2002)

Tanin merupakan senyawa yang terdapat dalam tumbuhan dan tersebar luas, memiliki gugus fenol, memiliki rasa sepat dan mempunyai kemampuan menyamak kulit. Jika bereaksi dengan protein membentuk kopolimer mantap yang tak larut dalam air.

Secara kimia terdapat dua jenis utama tanin yang tersebar tidak merata dalam dunia tumbuhan, yaitu tanin kondensasi dan tanin terhidrolisis. Tanin kondensasi merupakan komponen senyawa yang dapat terkondensasi menjadi senyawa polimer contohnya katekin atau galokatekin, sedangkan tanin terhidrolisis merupakan senyawa yang komponennya dapat terhidrolisis oleh adanya asam atau enzim contohnya galotanin atau pirogalol tanin.

Larutan percobaan untuk identifikasi tanin dibuat dengan melarutkan ekstrak etanol sampel dengan air suling kemudian dipanaskan. Larutan percobaan ini diharapkan mengandung senyawa tanin yang merupakan senyawa polifenol yang dapat larut salah satunya dalam air (Trease, 1961). Tanin dapat dideteksi dengan menggunakan gelatin (*gelatin-salt block test*). Pada penambahan gelatin dapat diamati dengan terbentuknya endapan. Hasil positif dapat dikonfirmasi dengan penambahan larutan besi (III) klorida pada larutan sampel. Hasil positif bila terjadi perubahan warna

dari kuning menjadi biru, biru-hitam, hijau, atau biru-hijau dan endapan (Farnsworth, 1966).

#### 2.7.5 Glikosida (Sirait, 2007)

Glikosida adalah senyawa yang terdiri atas gabungan dua bagian senyawa, yaitu gula dan bukan gula. Keduanya dihubungkan oleh suatu bentuk ikatan berupa ikatan oksigen (O-glikosida, contohnya dioscin), ikatan nitrogen (N-glikosida, contohnya adenosin), ikatan sulfur (S-glikosida, contohnya sinigrin), maupun ikatan karbon (C-glikosida, contohnya barbaloin). Glikosida merupakan suatu senyawa yang bila dihidrolisis akan terurai menjadi gula (glikon) dan senyawa lain (aglikon atau genin).

Pada umumnya glikon berupa glukosa, fruktosa, laktosa, ramnosa, galaktosa dan manosa. Dapat pula berupa gula khusus seperti sarmantosa dan oleandrosa. Sedangkan aglukosa (genin) biasanya mempunyai gugus -OH dalam bentuk alkoholis atau fenolis. Glikosida pada tanaman biasanya terdapat dalam bentuk  $\beta$ -glikosida. Glikosida yang berkhasiat obat dapat digolongkan menjadi glikosida jantung, antrakinon, saponin, sianofor, tiosianat, flavonol, aldehyd, alkohol, lakton, fenol dan yang lainnya.

Identifikasi glikosida dapat dideteksi dari hasil hidrolisis glikosida yang menghasilkan gula mereduksi, sehingga identifikasi dengan menggunakan pereaksi Molisch yang positif memberikan warna ungu berbentuk cincin terhadap karbohidrat. Identifikasi aglikon dideteksi dengan reaksi Liebermann-Burchard di mana hasil positif jika terbentuk warna biru atau hijau.

#### 2.7.6 Flavonoid

Flavonoid merupakan golongan fenol alam terbesar, memberikan warna pada bunga, buah dan kadang-kadang daun, merupakan senyawa pereduksi yang baik, dan senyawa ini menghambat banyak reaksi oksidasi baik secara enzimatis maupun non-enzimatis. Flavonoid bertindak sebagai penampung yang baik dari radikal bebas dan superoksida sehingga dapat melindungi lipid membran terhadap reaksi yang merusak (Harborn, 1987).

Flavonoid dapat berupa glikosida flavonol dan aglikonnya. Glikosida ini merupakan senyawa yang sangat luas penyebarannya di dalam tanaman. Di alam

dikenal adanya sejumlah besar flavonoid yang berbeda-beda dan merupakan pigmen kuning (contohnya kalkon dan flavonol) yang tersebar luas diseluruh tanaman tingkat tinggi. Rutin, kuersitrin, ataupun sitrus bioflavonoid (termasuk hesperidin, hesperetin, diosmin dan naringenin) merupakan kandungan flavonoid yang paling dikenal (Prosea, 2002). Identifikasi flavonoid menggunakan reaksi Shinoda dilakukan berdasarkan reaksi reduksi dengan menggunakan magnesium dan seng (Farnsworth, 1966).

### 2.7.7 Kuinon

Kuinon adalah senyawa berwarna dan mempunyai kromofor dasar yang terdiri dari dua gugus karbonil yang berkonjugasi dengan dua ikatan rangkap karbon-karbon. Untuk tujuan identifikasi, kuinon dapat dibagi berdasarkan empat kelompok, yaitu benzokuinon gugus dion berkonjugasi dengan inti aromatis, naftokuinon (kondensasi sistem polisiklik aromatik), antrakuinon, dan kuinon isoprenoid (Prosea, 2002; Sirait, 2007).

Antrakuinon dikarakterisasi dengan adanya gugus fenol dan glikosida, merupakan senyawa turunan antrasen dan memiliki suatu variabel bebas oksidasi. Ikatan glikosida dapat berupa ikatan C- atau O-. Antrakuinon dapat ditemukan dalam famili Rubiaceae, Leguminosae, Euphorbiaceae dan Liliaceae (Prosea, 2002). Proses ekstraksi senyawa ini dilakukan dengan menghidrolisis ikatan glikosida menjadi bentuk aglikon dan glikonnya, kemudian ditarik dengan larutan benzen. Larutan benzen kemudian ditambah dengan natrium hidroksida. Hasil positif bila terbentuk warna merah pada lapisan air.

## 2.8 Diabetes melitus

Diabetes melitus adalah penyakit yang disebabkan oleh ketidakmampuan tubuh untuk memproduksi insulin atau ketidakefektifan penggunaan insulin yang dihasilkan sehingga terjadi peningkatan konsentrasi glukosa dalam darah dan akhirnya dapat merusak banyak sistem tubuh (WHO, 2005). Diabetes melitus merupakan penyakit gangguan kronis yang menyangkut metabolisme karbohidrat, lipid dan protein (Tjay dan Rahardja, 2002). Secara normal, kadar glukosa dipertahankan pada kisaran 80-130

mg/ml. Diabetes melitus ditegakkan dengan pemeriksaan glukosa darah puasa, di mana dengan dua kali pemeriksaan terpisah kadar glukosa darah puasa lebih besar daripada 140 mg/100 ml (Corwin, 2003). Pada orang normal, makanan atau pemberian glukosa dapat meningkatkan kadar glukosa yang menyebabkan pelepasan insulin dan penghambatan glukagon. Kelebihan glukosa kemudian diubah menjadi glikogen di dalam hati dan otot (Ebadi, 2001).

Pada individu yang mengalami diabetes melitus, konsumsi makanan atau pemberian glukosa justru menyebabkan hiperglikemia, karena penggunaan ketergantungan insulin oleh glukosa menurun. Kadar glukosa akan melampaui ambang batas ginjal dan glukosa akan ada dalam urin. Efek diuretik osmotik glukosa menyebabkan poliuria dan polidipsi, serta glukosuria kronis akan menyebabkan infeksi saluran urin. Karena konversi menjadi trigliserida tidak terjadi, asam lemak bebas dimetabolisme menjadi badan keton dan menyebabkan ketonuria dan ketoasidosis. Destruksi lebih lanjut protein otot menyebabkan hilangnya massa otot dan hilangnya berat badan (Ebadi, 2001).

### 2.8.1 Klasifikasi Diabetes melitus

Diabetes melitus menurut etiologinya terdiri dari tipe I atau Diabetes melitus Bergantung Insulin, tipe II atau Diabetes melitus Tak-Bergantung Insulin, Diabetes Gestational dan Diabetes melitus akibat penyakit endokrin atau pankreas atau akibat penggunaan obat (Departemen Farmakologi dan Terapeutik, 2007). Diabetes tipe I adalah kondisi di mana pankreas memproduksi insulin sedikit atau bahkan tidak ada. Diabetes tipe I diperkirakan timbul akibat destruksi otoimun sel-sel beta pulau Langerhans yang dicetuskan oleh lingkungan. Berbagai faktor dapat berkontribusi untuk tipe I diabetes, termasuk genetika dan paparan terhadap virus tertentu. Diabetes tipe I terjadi kebanyakan pada anak-anak dan remaja (Corwin, 2003).

Diabetes melitus tipe II adalah penyakit hiperglikemia akibat tidak sensitifnya sel terhadap insulin. Kadar insulin mungkin sedikit menurun atau berada dalam rentang normal. Insulin tetap dihasilkan oleh sel-sel beta pankreas, sehingga berbeda dengan diabetes tipe I, diabetes tipe II tidak membutuhkan terapi insulin. Terapi diabetes

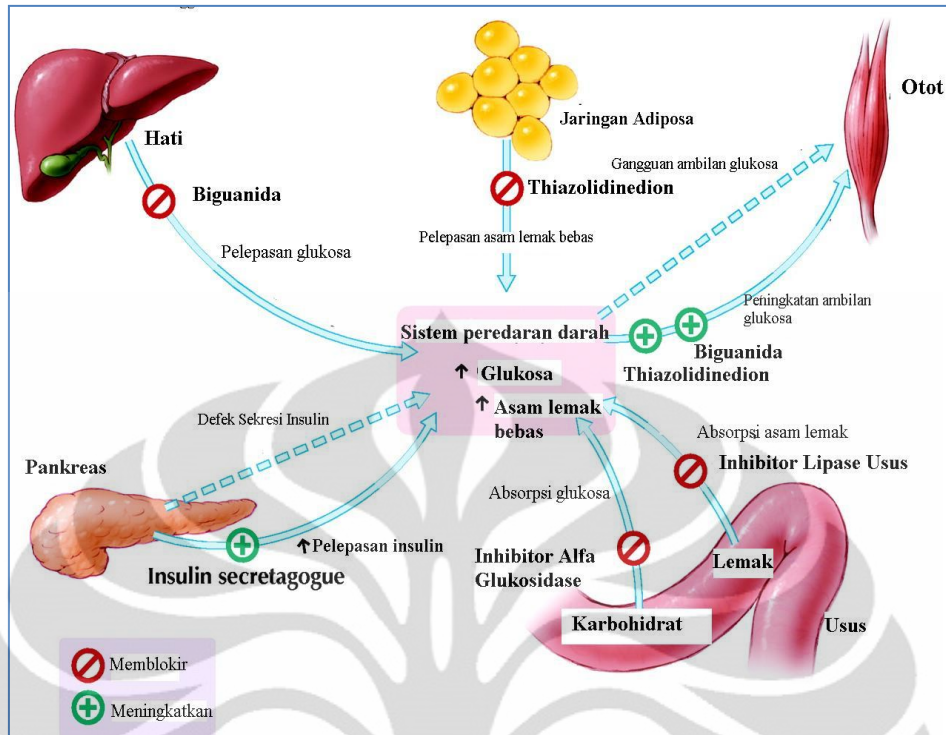
melitus tipe 2 saat ini menggunakan rejimen kombinasi, termasuk diet dan atau obat-obatan, termasuk sulfonilurea, dan biguanida, serta insulin (Corwin, 2003).

Diabetes melitus Gestasional (*GDM* atau *Gestational Diabetes melitus*) adalah keadaan diabetes atau intoleransi glukosa yang timbul selama masa kehamilan dan biasanya berlangsung hanya sementara. Sekitar 4-5% wanita hamil diketahui menderita *GDM* dan umumnya terdeteksi pada atau setelah trimester kedua. Diabetes dalam masa kehamilan, walaupun umumnya kelak dapat pulih sendiri beberapa saat setelah melahirkan, namun dapat berakibat buruk terhadap bayi yang dikandung. Akibat buruk yang dapat terjadi antara lain malformasi kongenital, peningkatan berat badan bayi ketika lahir dan meningkatnya risiko mortalitas perinatal. Disamping itu, wanita yang pernah menderita *GDM* akan lebih besar risikonya untuk menderita lagi diabetes dimasa depan. Kontrol metabolisme yang ketat dapat mengurangi risiko-risiko tersebut (Dirjen Binfar Depkes, 2005).

#### 2.8.2 Pengobatan Diabetes melitus

Terdapat beberapa jenis obat yang dapat menurunkan kadar glukosa darah termasuk di dalamnya obat yang meningkatkan sekresi insulin (sulfonilurea dan meglitinida), memperbaiki sensitivitas insulin (biguanida dan thiazolidinedion) dan inhibitor  $\alpha$ -glukosidase (miglitol, acarbose) (Departemen Farmakologi & Terapeutik, 2007). Tempat aksi obat dapat dilihat pada Gambar 2.1.





[Sumber : Kumar, C. K. A., 2008]

**Gambar 2.1** Tempat aksi obat pada pengobatan diabetes (telah diolah kembali)

### 2.8.2.1 Golongan Sulfonilurea

Golongan ini sering disebut sebagai insulin *secretagogues*, bekerja dengan cara merangsang sel  $\beta$ -pulau Langerhans untuk merangsang sekresi insulin dari granula sel-sel beta-Langerhans pankreas. Rangsangan terjadi melalui penutupan kanal kalium yang tidak bergantung pada ATP (*ATP-independent*) yang menimbulkan depolarisasi membran sehingga membuka kanal kalsium. Terbukanya kanal kalsium menyebabkan ion kalsium masuk ke sel  $\beta$  dan merangsang granula yang berisi insulin sehingga terjadi sekresi insulin. Obat golongan ini tidak berguna bila diberikan pada penderita DM tipe 1, karena pada penderita DM tipe 1 sel  $\beta$ -pulau langerhans sudah rusak, sehingga tidak dapat memproduksi insulin. Obat golongan ini dapat berguna bila diberikan pada penderita DM tipe 2. Obat yang termasuk golongan sulfonil urea adalah glibenklamid, glimepirid, gliklazid dan glipizid (Departemen Farmakologi dan Terapeutik, 2007).

### 2.8.2.2 Golongan Meglitinid

Derivat meglitinid memiliki mekanisme aksi yang sama dengan golongan sulfonilurea, yaitu menutup kanal *K-ATP independent* di sel  $\beta$  pankreas. Obat-obat yang termasuk golongan meglitinid adalah repaglinid dan nateglinid (Departemen Farmakologi dan Terapeutik, 2007).

### 2.8.2.3 Golongan Biguanid

Derivat biguanid bekerja dengan cara menurunkan produksi glukosa di hepar dan meningkatkan sensitivitas jaringan otot dan adipose terhadap insulin. Obat-obat yang termasuk golongan biguanid adalah metformin, fenformin dan buformin (Departemen Farmakologi dan Terapeutik, 2007).

### 2.8.3 Golongan Thiazolidinedion

Derivat thiazolidinedion bekerja dengan cara mengaktivasi PPAR $\gamma$  (*Peroxisome Proliferators-Activated Reseptor Gamma*), membentuk kompleks PPAR $\gamma$ -RxR (*Retinoic X Reseptor*), sehingga terbentuk GLUT (*Glucose transporter*) baru yang dapat membawa glukosa masuk ke dalam sel  $\beta$  pankreas. Obat yang termasuk golongan thiazolidinedion adalah glitazon, rosiglitazon dan proglitazon (Departemen Farmakologi dan Terapeutik, 2007).

### 2.8.4 Golongan Inhibitor $\alpha$ -glukosidase

Penghambatan terhadap enzim  $\alpha$ -glukosidase yang ditemukan terutama di setengah proksimal dari usus kecil. Oleh karena itu penyerapan karbohidrat di usus tertunda dan bergeser ke bagian distal dari usus kecil dan usus besar. Hal ini menghambat glukosa masuk ke dalam sirkulasi sistemik dan menurunkan kadar glukosa postprandial. Penghambatan enzim  $\alpha$ -glukosidase bertindak lokal di vili-vili pada dinding usus dan tidak diserap, sehingga dikeluarkan melalui tinja (Cheng & Fantus, 2005). Obat ini tidak mempengaruhi sekresi insulin, sehingga tidak menyebabkan efek samping hipoglikemia (Departemen Farmakologi dan Terapeutik, 2007).

Penghambatan  $\alpha$ -glukosidase terjadi secara kompetitif dengan mengikat ke situs pengikatan oligosakarida dari  $\alpha$ -glukosidase, sehingga mencegah ikatan dan hidrolisis

enzimatik dari substrat oligosakarida. Dengan cara ini, hambatan  $\alpha$ -glukosidase merupakan pendekatan farmakologis untuk memodifikasi pencernaan dan penyerapan karbohidrat makanan sebagai tambahan pada perubahan pola makan. Mekanisme kompetitif dari penghambatan  $\alpha$ -glukosidase menyebabkan obat golongan ini diberikan sebelum makan. Pada penderita diabetes melitus, penghambatan terhadap enzim ini menyebabkan penghambatan absorpsi glukosa sehingga menurunkan keadaan hiperglikemia setelah makan (Williams L. & Wilkins, 2004).

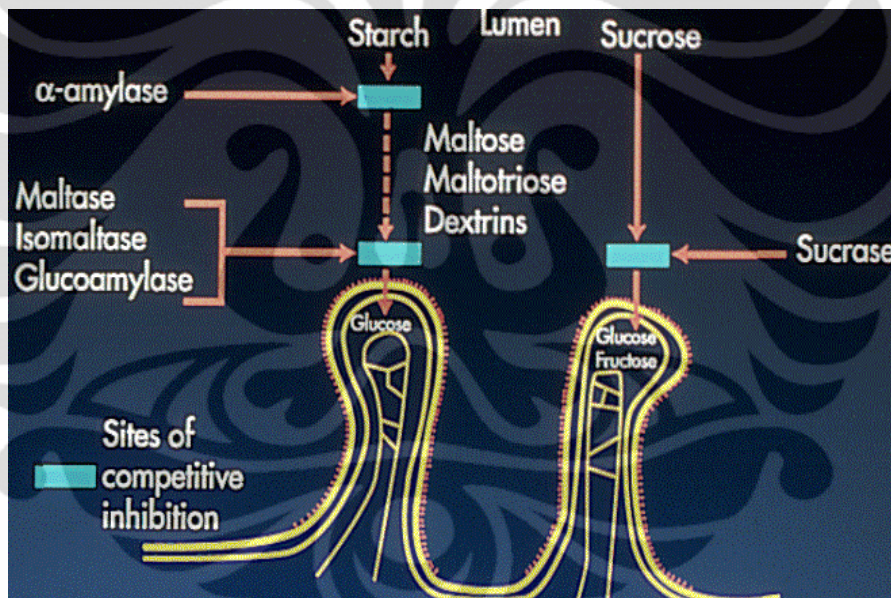
## 2.9 Enzim $\alpha$ -Glukosidase

Enzim  $\alpha$ -glukosidase adalah enzim yang bertanggung jawab terhadap konversi karbohidrat menjadi glukosa. Karbohidrat akan dicerna oleh enzim di dalam mulut dan usus menjadi gula yang lebih sederhana yang kemudian akan diserap ke dalam tubuh dan meningkatkan kadar gula darah (Bösenberg, 2008). Enzim hidrolase  $\alpha$ -amilase pada saliva dan pankreas akan menghidrolisis karbohidrat menjadi disakarida (maltosa), trisakarida (maltotriosa) dan polisakarida (dekstrin). Enzim hidrolase  $\alpha$ -amilase pada usus halus yaitu maltase, sukrase serta isomaltase. Maltase merupakan enzim yang menghidrolisis maltose, sukrase yang berfungsi menghidrolisis sukrosa, sedangkan isomaltase berfungsi mempercepat pemecahan maltotriosa. Selain itu terdapat glukamilase yang menghilangkan satu residu glukosa pada satu waktu dari bentuk akhir non-reduksi dekstrin (Coulson, 1994).

Proses pencernaan karbohidrat menyebabkan pankreas melepaskan enzim  $\alpha$ -glukosidase ke dalam usus yang akan mencerna karbohidrat menjadi oligosakarida yang kemudian akan diubah lagi menjadi glukosa oleh enzim  $\alpha$ -glukosidase yang dikeluarkan oleh sel-sel usus halus yang kemudian akan diserap ke dalam tubuh. Dengan dihambatnya kerja enzim  $\alpha$ -glukosidase, kadar glukosa dalam darah dapat dikembalikan dalam batas normal (Bösenberg, 2008). Gambar penghambatan kerja enzim  $\alpha$ -glukosidase dapat dilihat pada Gambar 2.2.

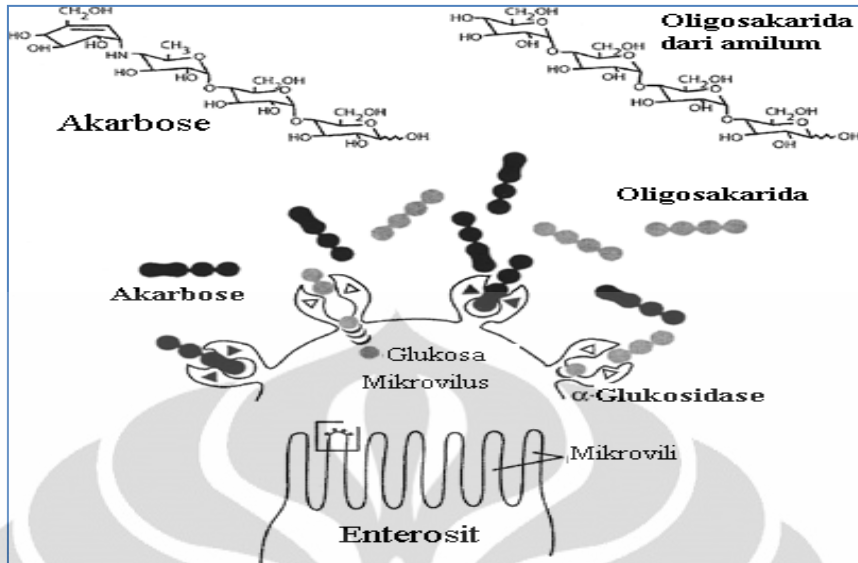
## 2.10 Akarbose

Akarbose adalah suatu oligosakarida yang diperoleh dari proses fermentasi mikroorganisme, *Actinoplanes utahensis*, dengan nama kimia *O*-4,6-dideoksi-4[[[(1S,4R,5S,6S)-4,5,6-trihidroksi-3-(hidroksimetil)-2-sikloheksan-1-yl]amino]- $\alpha$ -D-glukopiranosil-1 (1 $\rightarrow$ 4)-*O*- $\alpha$ -D-glukopiranosil -(1 $\rightarrow$ 4)-D-glukosa (Bayer, 2004; Rodriguez, Lucas, Carmona & Canas, 2007). Akarbose merupakan serbuk berwarna putih dengan berat molekul 645,6 bersifat larut dalam air dan memiliki pKa 5,1. Rumus empiriknya adalah  $C_{25}H_{43}NO_{18}$ . Akarbose merupakan analog dari karbohidrat dan secara kompetitif menghambat hidrolisis enzimatis oligosakarida oleh  $\alpha$ -glukosidase di usus halus (Slagle, 2002). Gambar struktur akarbose dan oligosakarida serta mekanisme kerja akarbose dapat dilihat pada Gambar 2.3.



[Sumber : Acarbose, n.d]

**Gambar 2.2** Penghambatan akarbose secara kompetitif di usus halus



[Sumber : Williams L. & Wilkins, 2004]

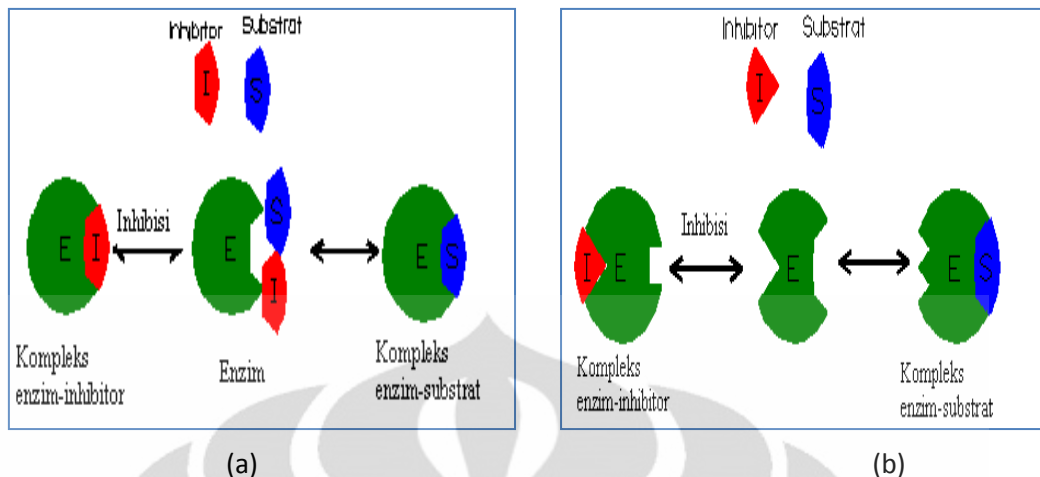
**Gambar 2.3 Struktur Akarbose dan struktur oligosakarida dalam amilum (telah diolah kembali)**

### 2.11 Aktivitas Penghambatan Enzim $\alpha$ -Glukosidase

Inhibitor atau penghambat enzimatis adalah senyawa yang dapat mengurangi kecepatan reaksi katalisis enzim. Penghambatan reaksi enzim merupakan suatu strategi utama dalam perancangan obat dan hampir sepertiga dari lima puluh jenis obat terpopuler yang diperdagangkan saat ini merupakan penghambat enzim. Inhibisi dari suatu reaksi yang dikatalisis enzim dapat menghambat jalur metabolik utama dengan memblok pembentukan dari suatu metabolit esensial maupun metabolit yang tidak diinginkan (Ophardt, 2003).

Enzim memiliki sisi aktif yang dapat mengenali secara spesifik substratnya yang sesuai, sehingga memungkinkan untuk merancang suatu penghambat enzim yang dapat menghalangi pengikatan substrat pada enzim, maka dapat menghambat terbentuknya produk dari suatu metabolit yang tidak diinginkan (Ophardt, 2003). Penghambatan enzim dapat terjadi secara reversibel atau irreversibel (McPherson & Pincus, 2007).





[Sumber: Enzyme Inhibition, n.d]

**Gambar 2.4 Penghambatan enzim secara kompetitif (gambar a) dan non-kompetitif (gambar b) (telah diolah kembali)**

### 2.10.1 Inhibisi *Reversibel*

Inhibisi reversibel berikatan dengan enzim melalui ikatan non-kovalen. Kompleks enzim-inhibitor menghasilkan disosiasi antara ikatan inhibitor secara reversibel dan pemulihan kembali aktivitas enzim (Ophardt, 2003). Penghambatan secara reversibel terdiri atas dua tipe, yaitu inhibisi kompetitif dan non-kompetitif (Champe, Harvey & Ferrier, 1994).

#### 2.10.1.1 Inhibisi Kompetitif

Inhibisi *reversibel* kompetitif terjadi apabila inhibitor berikatan secara reversibel pada tempat yang sama dengan substrat normal enzim. Struktur dasar pada inhibitor yang berikatan dengan sisi aktif enzim mirip dengan substrat, sehingga inhibitor berkompetisi dengan substrat normal untuk berikatan pada sisi aktif enzim (Champe, Harvey dan Ferrier, 1994; McPherson & Pincus; 2007).

#### 2.10.1.2 Inhibisi Nonkompetitif

Inhibisi nonkompetitif terjadi apabila inhibitor terikat pada sisi yang berbeda dari sisi ikatan enzim dan substrat. Inhibitor dapat berikatan dengan enzim secara bersama-sama. Ikatan inhibitor pada sisi kedua dapat secara penuh meniadakan aktivitas

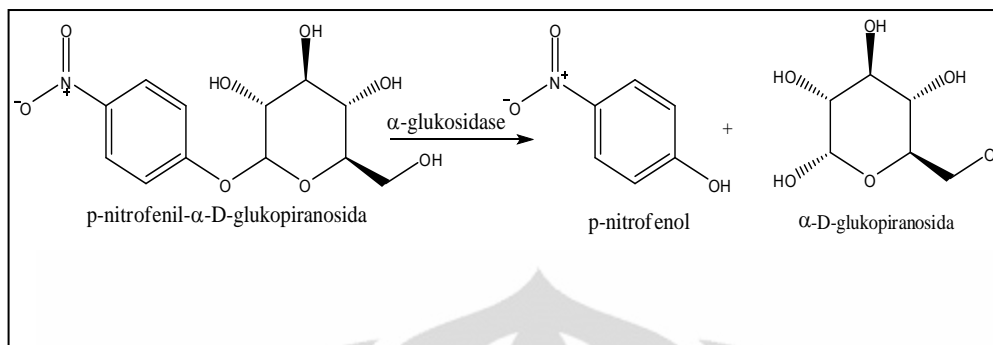
enzim atau hanya menurunkan aktivitas enzim menjadi setengahnya, sehingga penghambatan secara kompetitif dapat terjadi sebagian atau keseluruhan. Inhibitor dapat berikatan dengan enzim bebas atau kompleks enzim-substrat. Ikatan pada inhibisi nonkompetitif dapat merubah bentuk sisi ikatan substrat. Substrat masih dapat berikatan dengan enzim namun afinitas ikatan dan atau aktivitas katalisis oleh enzim berkurang (Champe, Harvey dan Ferrier, 1994; McPherson & Pincus; 2007).

### 2.10.2 Inhibisi *Irreversibel*

Pada inhibisi *irreversibel*, inhibitor terikat secara kovalen pada sisi aktif enzim, membentuk kompleks enzim inhibitor yang bersifat tetap. Inhibitor *irreversibel* tidak dapat dilepaskan dari enzim dengan cara pengenceran (Champe, Harvey dan Ferrier, 1994).

## 2.12 Uji Aktivitas Penghambatan Enzim $\alpha$ -Glukosidase

Reaksi  $\alpha$ -glukosidase di dalam tubuh dengan substrat karbohidrat yang dipecah menjadi disakarida dan oligosakarida, dimana proses ini lebih khusus lagi terjadi pada hidrolisis  $\alpha$ -glukopiranosida, menghasilkan  $\alpha$ -D-glukose dari gula non reduksi (Dewi *et al.*, 2007). Pada pengujian *in vitro*, enzim  $\alpha$ -glukosidase akan menghidrolisis substrat *p*-nitrofenil- $\alpha$ -D-glukopiranosida menjadi *p*-nitrofenol (berwarna kuning) dan glukosa. Aktivitas enzim diukur berdasarkan hasil absorbansi *p*-nitrofenol. Apabila tumbuhan memiliki kemampuan menghambat enzim  $\alpha$ -glukosidase maka *p*-nitrofenol yang dihasilkan akan berkurang. Gambar mekanisme reaksi penghambatan enzim  $\alpha$ -glukosidase dapat dilihat pada Gambar 2.6.



[Sumber : Sugiwati, Setiasi dan Afifah, 2009]

**Gambar 2.5 Persamaan reaksi enzimatik  $\alpha$ -glukosidase dan *p*-nitrofenil- $\alpha$ -D-glukopiranosida**

### 2.13 Kinetika Enzimatis

Tujuan dasar dari enzim klinis adalah penentuan konsentrasi total enzim spesifik dalam serum dan cairan tubuh lainnya. Enzim memiliki keunikan untuk satu atau beberapa substrat. Penambahan substrat dan pengamatan ada atau tidaknya hasil produk dapat menunjukkan keberadaan dari enzim. Jumlah substrat yang berkurang seiring dengan peningkatan produk yang dihasilkan dapat dijadikan penentuan dalam mengetahui konsentrasi dari enzim (Champe, Harvey & Ferrier, 1994).

Enzim mencapai kejenuhannya ketika enzim menjadi tidak responsif terhadap kenaikan lebih lanjut dalam konsentrasi substrat. Reaksi kimia biasanya terjadi dengan nilai sebanding dengan seluruh rentang konsentrasi reaktan. Dalam reaksi yang dikatalisis oleh enzim, pada konsentrasi substrat yang rendah, peningkatan konsentrasi enzim sebanding dengan konsentrasi substrat. Pada konsentrasi yang lebih tinggi, peningkatan enzim tidak berbanding lurus dengan peningkatan konsentrasi substrat. Pada konsentrasi yang semakin tinggi, konsentrasi enzim menjadi konstan dan tidak mengalami peningkatan konsentrasi lebih lanjut terhadap adanya peningkatan konsentrasi substrat. Katalisis enzim melalui dua proses, yaitu sebuah adsorpsi awal dimana substrat bergabung dengan enzim membentuk kompleks enzim-substrat non-kovalen, diikuti dengan langkah kedua yaitu kompleks enzim-substrat terurai ke dalam



produk dan enzim bebas (Champe, Harvey & Ferrier, 1994). Skema reaksi terdapat pada Gambar 2.7.



[Sumber: Blaber: 2001]

### Gambar 2.6 Proses katalisis oleh enzim untuk menghasilkan produk

Persamaan Michaelis-Menten dapat menjelaskan reaksi katalisis enzim-substrat (Persamaan 2.3).

$$V_o = \frac{V_{max} [S]}{[S] + K_M} \quad (2.1)$$

Keterangan :

- $V_o$  : kecepatan awal
- $V_{max}$  : kecepatan maksimum
- $S$  : konsentrasi substrat
- $K_M$  : konstanta Michaelis-Menten

Karena laju konstan (reaksi berada pada tingkat maksimal atau  $V_{max}$ ), reaksi ini disebut sebagai orde nol (tidak memiliki ketergantungan konsentrasi). Ketika  $V_{max}$ , laju reaksi berbanding lurus dengan konsentrasi enzim yang memungkinkan penentuan langsung dari konsentrasi enzim. Tingkat awal pembentukan produk (atau hilangnya substrat) akan berbanding lurus dengan konsentrasi enzim. Kondisi ini menghasilkan hubungan hiperbolik dari kurva substrat dan  $V_o$ . Inversi persamaan Michaelis-Menten menggunakan persamaan Lineweaver-Burk yang menyediakan hubungan linear antara variabel baru,  $1/V_o$  dan  $1/[S]$ .

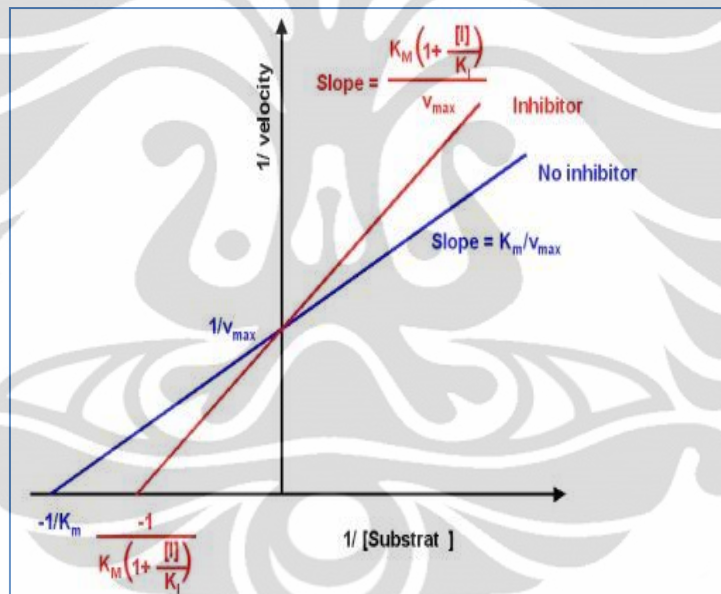
$$\frac{1}{V_o} = \left(\frac{K_M}{V_{max}}\right) \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{max}} \quad (2.2)$$

Keterangan :

- $V_o$  : kecepatan awal
- $V_{max}$  : kecepatan maksimum

S : konsentrasi substrat  
 $K_M$  : konstanta Michaelis-Menten

Kurva Lineweaver-Burk dapat menggambarkan penghambatan secara kompetitif dan non-kompetitif. Grafik penghambatan kompetitif diamati melalui kesamaan  $V_{max}$  (kecepatan maksimal) antara grafik yang bukan inhibitor dengan grafik inhibitor yang ditandai dengan adanya titik potong pada sumbu y yang menggambarkan  $1/V_o$ . Perpotongan pada sumbu x yang menggambarkan  $1/[S]$  berbeda antara grafik bukan inhibitor dan grafik inhibitor, sehingga mengindikasikan adanya peningkatan  $K_M$  seiring penambahan konsentrasi substrat, sehingga konsentrasi substrat yang lebih banyak dibutuhkan untuk mencapai  $\frac{1}{2} V_{max}$  (Champe, Harvey dan Ferrier, 1994). Plot grafik penghambatan kompetitif dapat dilihat pada Gambar 2.8.

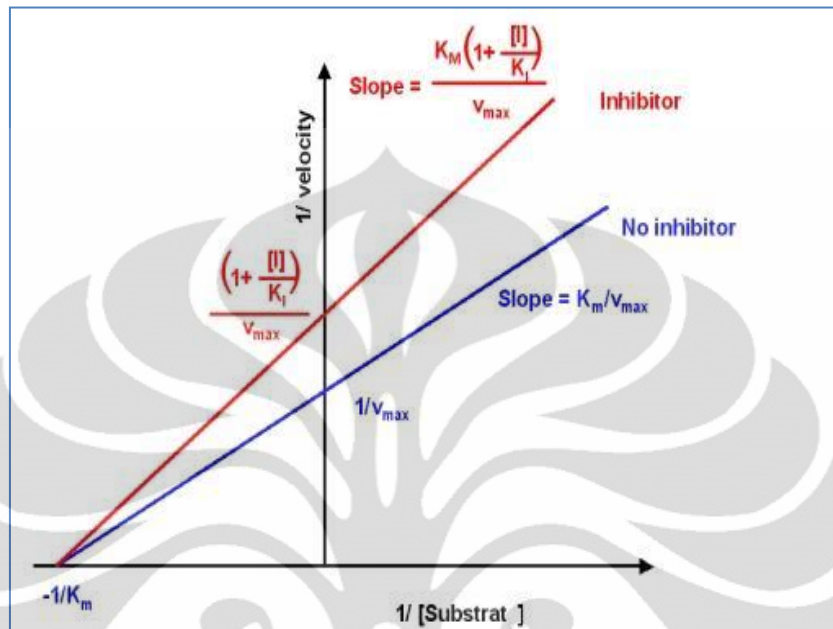


[Sumber: Blaber: 2001]

**Gambar 2.7. Grafik Lineweaver-Burk yang menggambarkan adanya penghambatan secara kompetitif.**

Grafik penghambatan non-kompetitif diamati melalui penurunan nilai  $V_{max}$  (kecepatan maksimal) dari grafik inhibitor terhadap grafik non-inhibitor. Perpotongan pada sumbu x yang menggambarkan  $1/[S]$  mengindikasikan tidak terjadi perubahan  $K_M$

dengan keberadaan maupun ketiadaan inhibitor (Champe, Harvey dan Ferrier, 1994). Plot grafik penghambatan non-kompetitif dapat dilihat pada Gambar 2.9.



[Sumber: Blaber: 2001]

**Gambar 2.8. Grafik Lineweaver-Burk yang menggambarkan adanya penghambatan secara non-kompetitif.**

## 2.14 Spektrofotometer UV-Vis

Spektrum UV-Vis merupakan hasil interaksi antara radiasi elektromagnetik (REM) dengan molekul. Radiasi elektromagnetik atau gelombang elektromagnetik adalah sejenis energi yang disebarkan oleh suatu sumber cahaya dan bergerak lurus ke depan dengan kecepatan yang sangat tinggi. Gelombang elektromagnetik dapat berupa cahaya tampak, panas radiasi, sinar X, sinar UV, gelombang mikro, dan gelombang radio. Bentuk energi radiasi elektromagnetik mempunyai sifat gelombang dan partikel (foton). Besarnya tenaga foton berbanding lurus dengan frekuensi dari REM dinyatakan dengan rumus (Harley dan Wiberley, 1954):

$$E = h \times \nu \quad (2.3)$$

Keterangan :

E = Energi radiasi cahaya (Joule.molekul<sup>-1</sup>)

$h = \text{Tetapan Planck} = 6,626 \cdot 10^{-34} \text{ Joule}$

$v = \text{Frekuensi (s}^{-1}\text{)}$

Spektrum serapan adalah grafik yang menghubungkan antara banyaknya sinar yang diserap (atau panjang gelombang) sinar. Banyaknya sinar yang diabsorpsi pada panjang gelombang tertentu sebanding dengan banyaknya molekul yang menyerap radiasi, sehingga spektrum absorpsi dapat digunakan untuk analisis kuantitatif (Gandjar & Rohman, 2007). Pengukuran serapan dapat dilakukan pada panjang gelombang daerah ultraviolet (panjang gelombang 200 nm–400 nm) atau pada daerah cahaya tampak (panjang gelombang 400 nm–750 nm). Pengukuran serapan dari suatu sampel dapat dilakukan dengan perhitungan Lambert-Beer sebagai berikut (Harley dan Wiberley, 1954):

$$A = \frac{\log I_0}{\log I_t} = a \cdot b \cdot c \quad (2.3)$$

Keterangan :

A = serapan

a = daya serap

b = tebal lapisan zat yang menyerap sinar (cm)

c = kadar

$I_0$  = Intensitas sinar datang

$I_t$  = Intensitas sinar yang diteruskan

Jika satuan c dalam Molar, maka a disebut dengan absorptivitas molar  $\epsilon = \text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$  atau  $\text{Lmol}^{-1}\text{cm}^{-1}$

Jika satuan c adalah g/100ml maka  $a = 10 \epsilon = E_{1\text{cm}}^{1\%}$

Untuk mengidentifikasi suatu zat pada daerah ultraviolet pada umumnya dilakukan dengan menggambarkan spektrum serapan larutan zat dalam pelarut, dan dengan kadar yang tertera seperti pada monografi, untuk menetapkan serapan maksimum atau minimum. Spektrum serapan dari zat yang diperiksa kadang-kadang perlu dibandingkan dengan pembanding kimia yang sesuai. Pembanding kimia tersebut dikerjakan dengan cara yang sama dan kondisi yang sama dengan zat yang diperiksa. Blanko digunakan untuk koreksi serapan yang disebabkan pelarut, pereaksi, sel ataupun pengaturan alat. Pengukuran serapan biasanya dilakukan pada panjang gelombang serapan maksimum atau yang tercantum dalam monografi (Depkes, 1979).

Senyawa atau zat yang dapat diperiksa adalah yang memiliki ikatan rangkap terkonjugasi atau disebut kromofor. Gugus yang termasuk dalam kromofor antara lain alken, karbonil, karboksil, amido, azo, nitrat, nitro, dan nitroso. Senyawa yang mengandung gugus kromofor akan mengabsorpsi radiasi sinar ultraviolet dan cahaya tampak jika diikat oleh senyawa-senyawa bukan pengabsorpsi (auksokrom). Gugus auksokrom yaitu gugus yang mempunyai elektron non bonding dan tidak menyerap radiasi UV jauh contohnya -OH, -NH<sub>2</sub>, -O, -OCH<sub>3</sub> (Gandjar & Rohman, 2007). Jenis spektrofotometer UV-Vis ada dua yaitu single beam dan double beam. Pada single beam celah keluar sinar monokromatis hanya satu, wadah kuvet yang dapat dilalui sinar hanya satu dan setiap perubahan panjang gelombang alat harus dinolkan. Pada double beam celah keluar sinar monokromatis ada dua, wadah melalui dua kuvet sekaligus dan cukup satu kali dinolkan dengan cara mengisi kedua kuvet dengan larutan blanko (Harley dan Wiberley, 1954).

## BAB 3 METODE PENELITIAN

### 3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Penelitian Fitokimia, Departemen Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Indonesia (FMIPA UI) Depok yang dimulai pada bulan Januari hingga Mei tahun 2011.

### 3.2 Bahan Uji

Tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah : Pulau Pipit (*Rauvolfia sumatrana* Jack), *Strophanthus caudatus* (Blume.f.) Kurz., Oleander rambat (*Strophanthus gratus* Baill.), Cembirit (*Tabernaemontana sphaerocarpa* Blume), Jintahan labu (*Willughbeia tenuiflora* Dyer ex Hook.f.), Bintangur (*Calophyllum tomentosum* Wight), Kacapura (*Garcinia bancana* Miq.), Kandis (*Garcinia daedalanthera* Pierre.), *Garcinia hombroniana* Pierre., *Garcinia kydia* Roxb., Manggis Liar (*Garcinia rigida* Miq). Tanaman uji berasal dari tanaman koleksi Kebun Raya Bogor dan telah diidentifikasi di Pusat Konservasi Tumbuhan Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia, Bogor, Indonesia.

### 3.3 Bahan Kimia

Enzim  $\alpha$ -glukosidase dari *Saccharomyces cerevisiae* (Sigma Aldrich, USA), para-nitrofenil- $\alpha$ -D-glukopiranosida (Sigma Aldrich, Swiss), akarbose diperoleh dari PT. Dexa Medica, bovine serum albumin (Merck, Jerman), dimetil sufoksida (Merck, Jerman), natrium karbonat (Merck, Jerman), etanol (teknis), air suling, kalium dihidrogen fosfat (Merck, Jerman), natrium hidroksida (Univar, USA), asam klorida (Merck, Jerman), asam nitrat (Merck, Jerman), metanol (Merck, Jerman), etil asetat, (teknis), natrium sulfat anhidrat (Merck, Jerman), serbuk seng (Merck, Jerman), serbuk magnesium (Merck, Jerman), serbuk asam borat (Merk, Jerman), serbuk asam oksalat

(Merck, Jerman), eter (teknis), aseton (teknis), gelatin (Merck, Jerman) besi (III) klorida, iodium, bismuth nitrat (Merck, Jerman), raksa (II) klorida, asam sulfat (Merck, Jerman), natrium klorida (Mallinckradt Chemicals, USA), asam asetat anhidrat (Univar, USA),  $\alpha$ -naftol (Merck, Jerman), *wash benzene* (teknis).

### 3.4 Alat

Alat refluks, spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu 265, Jepang), kuvet kuarsa (Merck, Jerman), pipet mikro (Eppendorf, Jerman; Socorex, Swiss), shaking-bath incubator (Lab-Line Instrument), oven (Hotpack Vacuum Oven), *vortex*, timbangan analitik (Accu-Lab), *rotary evaporator* (Janke & Kunkel IKA, Jerman), pH meter (Eutech 510 Instruments), blender (Phillips) dan lemari pendingin (Panasonic).

### 3.5 Cara Kerja

Metode kerja yang dilakukan meliputi penyiapan simplisia, ekstraksi simplisia, identifikasi kandungan kimia, uji pendahuluan, uji aktivitas penghambatan  $\alpha$ -glukosidase dan penentuan kinetika enzimatis.

#### 3.5.1 Penyiapan Simplisia

Penyiapan simplisia yang pertama adalah pengumpulan tanaman (bagian daun dan kulit batang), kemudian dilakukan sortasi yaitu pemisahan simplisia dari kotoran atau bahan-bahan organik lainnya. Selanjutnya dilakukan perajangan pada kulit batang simplisia untuk mempermudah proses pengeringan, sedangkan daun dikeringkan setelah dilakukan sortasi basah. Kemudian dilakukan proses pengeringan pada daun dengan cara dianginkan-anginkan, sedangkan kulit batang menggunakan oven. Pengeringan dapat menyebabkan perubahan-perubahan hidrolisa enzimatis, pencokelatan, fermentasi dan oksidasi. Pengeringan sudah berakhir bila daun ataupun kulit batang sudah dapat dipatahkan dengan mudah, kemudian penyimpanan simplisia dilakukan di lemari pengering (BPPP, 2007).

### 3.5.2 Ekstraksi Simplisia

Masing-masing 20 gram serbuk simplisia diekstraksi menggunakan pelarut etanol 80% dengan cara refluks selama 1 jam. Larutan etanol disaring kemudian diuapkan pelarutnya menggunakan penangas air dengan suhu tidak lebih dari 55°C hingga menjadi ekstrak kental. Kemudian dilakukan pengulangan proses pada residu pertama sampai 3 kali. Ekstrak yang diperoleh kemudian ditimbang.

### 3.5.3 Identifikasi Kandungan Kimia

#### 3.5.3.1 Identifikasi Alkaloid (Depkes, 1995b; Sirait, 2007)

Beberapa miligram ekstrak setara dengan 500 mg serbuk ditambahkan 1 mL HCl 2N dan 9 mL air suling, dipanaskan di penangas air selama 2 menit, kemudian didinginkan. Selanjutnya disaring dan larutan ditampung (filtrat a). Larutan digunakan sebagai larutan percobaan selanjutnya.

- a. Filtrat a diambil 1 mL, kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Pereaksi Bouchardart ditambahkan sebanyak 2 tetes ke dalam tabung reaksi berisi filtrat. Hasil positif bila terbentuk endapan coklat sampai dengan hitam.
- b. Filtrat a diambil 1 mL, kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Pereaksi Mayer ditambahkan 2 tetes ke dalam tabung reaksi berisi filtrat. Hasil positif bila terbentuk endapan menggumpal putih atau kuning yang larut dalam metanol.
- c. Filtrat a diambil 1 mL, kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Pereaksi Dragendorf ditambahkan 2 tetes ke dalam tabung reaksi berisi filtrat. Hasil positif bila terbentuk endapan jingga coklat.

#### 3.5.3.2 Identifikasi Terpen (Farnsworth, 1966)

Beberapa milligram ekstrak setara dengan 500 mg serbuk ditambahkan 5 mL eter, kemudian diuapkan di cawan penguap. Pada sisa residu ekstrak ditambahkan larutan yang berisi asam asetat anhidrat dan asam sulfat pekat (2:1). Hasil positif steroid bila terbentuk merah-hijau sedangkan positif terpen jika terbentuk warna violet-biru.



### 3.5.3.3 Identifikasi Saponin (Farnsworth, 1966; Depkes, 1995b)

Beberapa milligram ekstrak setara dengan 500 mg serbuk dilarutkan dengan 10 mL air panas, dinginkan lalu dikocok vertikal selama 10 detik, kemudian diamkan selama 10 menit. Hasil positif bila terbentuk buih setinggi 1 hingga 10 cm. Pada penambahan 1 tetes HCl 2N buih tidak hilang.

### 3.5.3.4 Identifikasi Tanin (Farnsworth, 1966; Trease & Evans, 1978)

Beberapa milligram ekstrak setara dengan 500 mg serbuk dipanaskan dengan 15 mL air suling hingga mendidih selama 5 menit di dalam beaker glass, didinginkan dan kemudian disaring dan didapatkan filtrat (filtrat c).

- a. Filtrat c diambil sebanyak 5 mL dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan beberapa tetes  $\text{FeCl}_3$  1%. Hasil positif bila terbentuk warna biru kehitaman (tanin terhidrolisis) dan hijau kecoklatan (tanin terkondensasi).
- b. Filtrat c diambil sebanyak 5 mL dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 3 mL larutan gelatin 10%. Hasil positif bila terbentuk endapan putih.
- c. Filtrat c diambil sebanyak 5 mL dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan larutan NaCl-gelatin (larutan gelatin 1% dalam larutan NaCl 10%). Hasil positif bila terbentuk endapan putih.

### 3.5.3.5 Identifikasi Glikosida (Depkes, 1995b)

Beberapa miligram ekstrak setara dengan 600 mg serbuk dilarutkan dengan 15 mL HCl 10%, dipanaskan selama 10 menit, kemudian didinginkan dan disaring. Larutan dicuci dengan 5 mL eter sebanyak tiga kali pencucian. Larutan yang telah dicuci kemudian dikumpulkan dan ditambahkan natrium sulfat anhidrat, diaduk, kemudian disaring dan uapkan pada suhu tidak lebih dari  $50^\circ\text{C}$ . Sisa residu dilarutkan dengan 2 mL metanol.

- a. Larutan percobaan sebanyak 1 mL diuapkan hingga kering, sisanya ditambahkan larutan yang berisi 10 tetes asam asetat anhidrat P dan 5 tetes asam sulfat P. Hasil positif terbentuknya warna biru atau hijau.
- b. Larutan percobaan sebanyak 1 mL diuapkan hingga kering, sisanya dilarutkan dengan 1 mL air dan 5 tetes Molisch LP. Kemudian ditambahkan dengan hati-hati

1 mL asam sulfat P. Hasil positif terbentuknya cincin berwarna ungu pada batas cairan (Reaksi Molisch).

#### 3.5.3.6 Identifikasi Flavonoid (Farnsworth, 1966; Depkes, 1995b)

Beberapa miligram ekstrak setara dengan 500 mg serbuk dilarutkan dengan 5 mL etil asetat P, kemudian disaring (larutan percobaan).

- a. Larutan percobaan sebanyak 2 mL diuapkan hingga kering. Residu kemudian dilarutkan dengan 4 mL etanol 95% hingga ekstrak larut (larutan b).
  - i. Larutan b diambil sebanyak 2 mL, kemudian ditambahkan 0,5 gram serbuk seng dan 2 mL HCl 2N, diamkan 1 menit. Setelah didiamkan, ditambahkan 10 tetes HCl pekat, dikocok perlahan, kemudian diamkan 2-5 menit. Hasil positif bila terbentuk warna merah intensif.
  - ii. Larutan b diambil sebanyak 2 mL, kemudian ditambahkan 0,1 gram serbuk magnesium. Secara hati-hati ditambahkan 10 tetes HCl pekat dan dikocok perlahan. Terbentuk warna merah jingga hingga merah ungu bila positif flavonoid atau kuning jingga bila positif flavon, kalkon, auron.
- b. Larutan percobaan sebanyak 1 mL diuapkan, kemudian sisa residu dilarutkan dengan aseton P hingga larut. Kemudian ditambahkan sedikit serbuk asam borat dan asam oksalat, dipanaskan hati-hati di atas penangas air dan dihindari pemanasan yang berlebihan. Sisa yang diperoleh dicampur dengan 10 mL eter P. Larutan kemudian diamati pada sinar ultraviolet 366 nm. Hasil positif terhadap flavonoid bila larutan berfluoresensi kuning intensif.

#### 3.5.3.7 Identifikasi Kuinon/ Antrakuinon (Depkes, 1995b)

Beberapa milligram ekstrak setara dengan 200 mg serbuk dilarutkan dengan 5 mL asam sulfat 2N, dipanaskan sebentar kemudian dinginkan. Tambahkan 10 mL benzen P, dikocok dan didiamkan hingga terjadi pemisahan dua larutan. Pisahkan lapisan benzen P dan disaring. Adanya filtrat berwarna kuning menunjukkan adanya antrakuinon. Lapisan benzen P kemudian dikocok dengan 1 mL sampai 2 mL natrium hidroksida 2 N dan didiamkan. Hasil positif bila lapisan air berwarna merah intensif dan lapisan benzen P tidak berwarna.

### 3.5.4 Uji Pendahuluan (Dewi et al., 2007):

#### 3.5.4.1 Penyiapan Larutan Dapar Fosfat pH 6,8 (Depkes, 1995a)

Kalium dihidrogen fosfat 0,2 M sebanyak 50,0 mL dicampur dengan natrium hidroksida 0,2 N sebanyak 22,4 mL, kemudian diencerkan dengan air bebas karbondioksida hingga 200,0 mL.

#### 3.5.4.2 Penyiapan Larutan Natrium Karbonat 200 mM (Depkes, 1995a)

Natrium karbonat 21,2 gram dilarutkan dengan 1000,0 mL air suling.

#### 3.5.4.3 Penyiapan Larutan Enzim

Larutan enzim dibuat dengan melarutkan enzim  $\alpha$ -glukosidase (100 unit) dalam 100 mL dapar fosfat pH 6,8 yang mengandung 200 mg bovine serum albumin. Larutan induk dipipet 3,0 mL kemudian dimasukkan ke dalam labu takar 10,0 mL, lalu volume dicukupkan hingga 10,0 mL sehingga diperoleh konsentrasi 0,3 unit/mL. Larutan enzim kemudian diencerkan hingga diperoleh pula enzim dengan konsentrasi 0,15 unit/mL; 0,075 unit/mL dan 0,0375 unit/mL

#### 3.5.4.4 Penyiapan Larutan Substrat para-Nitrofenil- $\alpha$ -D-glukopiranosida (pNP-G)

Substrat para-Nitrofenil- $\alpha$ -D-glukopiranosida (pNP-G) ditimbang sebanyak 60,25 mg dan dilarutkan dalam 10,0 mL dapar fosfat pH 6,8 hingga diperoleh konsentrasi 20 mM. Larutan substrat kemudian diencerkan hingga diperoleh pula larutan substrat dengan konsentrasi 10 mM, 5 mM, 2,5 mM dan 1,25 mM.

#### 3.5.4.5 Penentuan Konsentrasi Optimum Enzim

Sebanyak 10  $\mu$ L dimetilsulfoksida ditambah dengan 490  $\mu$ L dapar fosfat pH 6,8 dan 250  $\mu$ L para-Nitrofenil- $\alpha$ -D-glukopiranosida (pNP-G) pada konsentrasi masing-masing 20 mM dan 10 mM, kemudian diinkubasi selama 5 menit pada suhu 37°C. Ke dalam sampel ditambahkan 250  $\mu$ L enzim pada konsentrasi masing-masing 0,3 unit/mL, 0,15 unit/mL, 0,075 unit/mL dan 0,0375 unit/mL, kemudian diinkubasi kembali pada waktu 15 menit pada suhu 37°C. Setelah inkubasi selesai ditambahkan 2000  $\mu$ L

200 mM natrium karbonat. Sampel diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 400 nm. Blanko dibuat dengan membalik pemberian natrium karbonat dan enzim.

#### 3.5.4.6 Penentuan Konsentrasi Optimum Substrat

Sebanyak 10  $\mu$ L dimetilsulfoksida ditambah dengan 490  $\mu$ L dapar fosfat pH 6,8 dan 250  $\mu$ L para-Nitrofenil- $\alpha$ -D-glukopiranosida (pNP-G) pada konsentrasi masing-masing 20 mM, 10 mM, 5 mM, 2,5 mM dan 1,25 mM, kemudian diinkubasi selama 5 menit pada suhu 37°C. Ke dalam sampel ditambahkan 250  $\mu$ L enzim pada konsentrasi optimumnya, kemudian diinkubasi kembali pada waktu 15 menit pada suhu 37°C. Setelah inkubasi selesai di tambahkan 2000  $\mu$ L 200 mM natrium karbonat. Sampel diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 400 nm. Blanko dibuat dengan membalik pemberian natrium karbonat dan enzim.

### 3.5.5 Pengujian Aktivitas Penghambatan $\alpha$ -Glukosidase (Dewi et al., 2007)

#### 3.5.5.1 Penyiapan Standar Akarbose

Standar ditimbang sebanyak 100 mg dan dilarutkan dengan 10,0 mL dapar fosfat pH 6,8 hingga diperoleh konsentrasi standar 1%. Larutan 1% dipipet 5,0 mL dan ditambahkan dengan dapar fosfat pH 6,8 ad 10,0 mL sehingga diperoleh konsentrasi standar 0,5%, demikian selanjutnya hingga diperoleh standar 0,25% dan 0,125%.

#### 3.5.5.2 Penyiapan Ekstrak

Sampel ditimbang sebanyak 100 mg dan dilarutkan dengan 10,0 mL dapar fosfat pH 6,8 hingga diperoleh konsentrasi sampel 1%. Larutan 1% dipipet 5,0 mL dan ditambahkan dengan 5,0 mL dapar fosfat pH 6,8 ad 10,0 mL sehingga diperoleh konsentrasi sampel 0,5%, demikian selanjutnya hingga diperoleh sampel 0,25% dan 0,125%.

#### 3.5.5.3 Pengujian Kontrol Blanko

Blanko 10  $\mu$ L dimetil sulfoksida ditambah dengan 490  $\mu$ L dapar fosfat pH 6,8 dan 250  $\mu$ L para-Nitrofenil- $\alpha$ -D-glukopiranosida (pNP-G) pada konsentrasi optimum,

diinkubasi selama 5 menit pada suhu 37°C. Ke dalam blanko ditambahkan 2000 µL 200 mM natrium karbonat, kemudian diinkubasi kembali selama 15 menit pada suhu 37°C. Setelah inkubasi selesai ditambahkan 250 µL enzim pada konsentrasi optimum. Blanko diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 400 nm.

#### 3.5.5.4 Pengujian Blanko

Blanko 10 µL dimetil sulfoksida ditambah dengan 490 µL dapar fosfat pH 6,8 dan 250 µL para-Nitrofenil- $\alpha$ -D-glukopiranosida (pNP-G) pada konsentrasi optimum, diinkubasi selama 5 menit pada suhu 37°C. Ke dalam blanko ditambahkan 250 µL enzim pada konsentrasi optimum, kemudian diinkubasi kembali pada selama 15 menit pada suhu 37°C. Setelah inkubasi selesai ditambahkan 2000 µL 200 mM natrium karbonat. Blanko diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 400 nm.

#### 3.5.5.5 Pengujian Kontrol Standar Akarbose

Standar 10 µL ditambah dengan 490 µL dapar fosfat pH 6,8 dan 250 µL para-Nitrofenil- $\alpha$ -D-glukopiranosida (pNP-G) pada konsentrasi optimum, diinkubasi selama 5 menit pada suhu 37°C. Ke dalam standar ditambahkan 2000 µL 200 mM natrium karbonat, kemudian diinkubasi kembali selama 15 menit pada suhu 37°C. Setelah inkubasi selesai ditambahkan 250 µL enzim pada konsentrasi optimum. Standar diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 400 nm.

#### 3.5.5.6 Pengujian Standar Akarbose

Standar 10 µL ditambah dengan 490 µL dapar fosfat pH 6,8 dan 250 µL para-Nitrofenil- $\alpha$ -D-glukopiranosida (pNP-G) pada konsentrasi optimum, diinkubasi selama 5 menit pada suhu 37°C. Ke dalam standar ditambahkan 250 µL enzim pada konsentrasi optimum, kemudian diinkubasi kembali selama 15 menit pada suhu 37°C. Setelah inkubasi selesai ditambahkan 2000 µL 200 mM natrium karbonat. Standar diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 400 nm.

### 3.5.5.7 Pengujian Kontrol Sampel

Sampel 10  $\mu\text{L}$  ditambah dengan 490  $\mu\text{L}$  dapar fosfat pH 6,8 dan 250  $\mu\text{L}$  para-Nitrofenil- $\alpha$ -D-glukopiranosida (pNP-G) pada konsentrasi optimum, diinkubasi selama 5 menit pada suhu 37°C. Ke dalam sampel ditambahkan 2000  $\mu\text{L}$  200 mM natrium karbonat, kemudian diinkubasi kembali selama 15 menit pada suhu 37°C. Setelah inkubasi selesai ditambahkan 250  $\mu\text{L}$  enzim pada konsentrasi optimum. Sampel diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 400 nm.

### 3.5.5.8 Pengujian Sampel

Sampel 10  $\mu\text{L}$  ditambah dengan 490  $\mu\text{L}$  dapar fosfat pH 6,8 dan 250  $\mu\text{L}$  para-Nitrofenil- $\alpha$ -D-glukopiranosida (pNP-G) pada konsentrasi optimum, diinkubasi selama 5 menit pada suhu 37°C. Ke dalam sampel ditambahkan 250  $\mu\text{L}$  enzim pada konsentrasi optimumnya, kemudian diinkubasi kembali selama 15 menit pada suhu 37°C. Setelah inkubasi selesai ditambahkan 2000  $\mu\text{L}$  200 mM natrium karbonat. Sampel diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 400 nm.

### 3.5.5.9 Penghitungan Aktivitas Penghambatan $\alpha$ -Glukosidase (Sugiwati, Setiasih & Afifah, 2009)

Perhitungan persen penghambatan (% Inhibisi) dihitung dengan rumus :

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{C - S}{C} \times 100\% \quad (3.3)$$

Keterangan :

C = selisih absorbansi blanko dan absorbansi kontrol blanko

S = selisih absorbansi sampel dan absorbansi kontrol sampel

$\text{IC}_{50}$  dihitung dengan menggunakan persamaan regresi linear, konsentrasi sampel sebagai sumbu x dan % inhibisi sebagai sumbu y. Dari persamaan  $y = a + bx$  dapat dihitung nilai  $\text{IC}_{50}$  dengan menggunakan rumus :

$$\text{IC}_{50} = \frac{50 - a}{b} \quad (3.4)$$

Sistem reaksi uji inhibisi  $\alpha$ -glukosidase dapat dilihat pada tabel 3.1.

**Tabel 3.1. Sistem reaksi uji inhibisi  $\alpha$ -glukosidase**

	Kontrol Blanko ( $\mu$ L)	Blanko ( $\mu$ L)	Kontrol Standar/Sampel ( $\mu$ L)	Standar/Sampel ( $\mu$ L)
Sampel	-	-	10	10
Dimetil sulfoksida	10	10	-	-
Dapar fosfat pH 6,8	490	490	490	490
para-Nitrofenil- $\alpha$ -D- glukopiranosida	250	250	250	250
Inkubasi pada suhu 37°C selama 5 menit				
Enzim $\alpha$ -glukosidase	-	250	-	250
Natrium Karbonat	2000	-	2000	-
Inkubasi pada suhu 37°C selama 15 menit				
Enzim $\alpha$ -glukosidase	250	-	250	-
Natrium Karbonat	-	2000	-	2000

### 3.5.6 Penentuan Kinetika Penghambatan Enzim (Dewi et al, 2007)

Penentuan kinetika inhibisi enzim diukur dengan menggunakan konsentrasi p-nitrofenil  $\alpha$ -D-glukopiranosida sebagai substrat dengan lima konsentrasi berbeda, serta menggunakan ekstrak pada empat konsentrasi berbeda dari larutan sampel serta satu larutan blanko. Jenis inhibisi ditentukan dengan analisis data menggunakan metode *Lineweaver-Burk* untuk memperoleh tetapan kinetika Michaelis-Menten (Dewi et al., 2007). Tetapan kinetika Michaelis-Menten dihitung berdasarkan persamaan regresi  $y = a + b x$ , dimana  $x$  adalah jumlah substrat dan  $y$  adalah absorbansi sampel.

Persamaan yang digambarkan kurva Lineweaver Burk (Champe; Harvey dan Ferrier, 1994) :

$$\frac{1}{V_o} = \frac{K_M}{V_{max} [S]} + \frac{1}{V_{max}} \quad (3.5)$$

Sehingga, jika  $y = 0 \rightarrow$

$$bx = -a$$

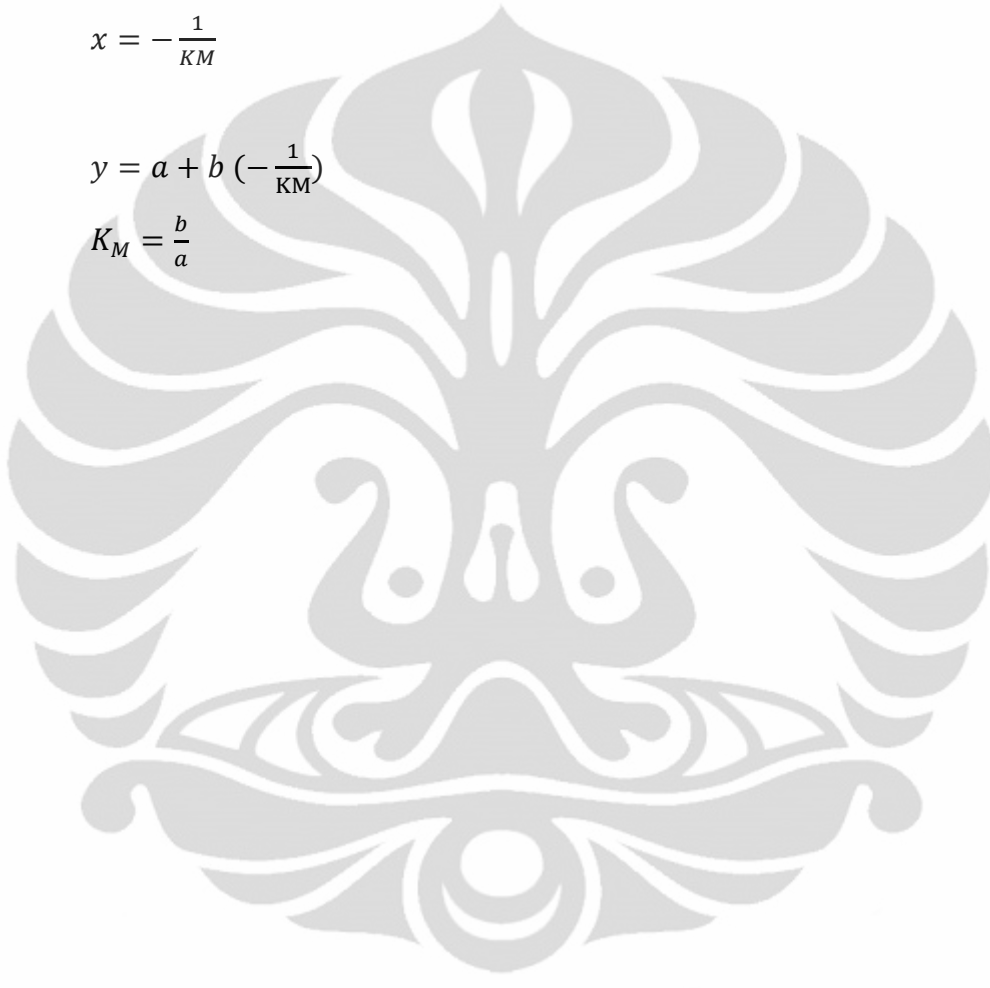
$$x = -\frac{a}{b}$$

$$x = -\frac{1}{V_{max}} x \frac{V_{max}}{K_M}$$

$$x = -\frac{1}{K_M} \tag{3.6}$$

$$y = a + b \left(-\frac{1}{K_M}\right)$$

$$K_M = \frac{b}{a} \tag{3.7}$$





## **BAB 4**

### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

#### **4.1. Penyiapan simplisia**

##### **4.1.1 Penyiapan bahan**

Simplisia yang digunakan adalah pada bagian daun dan kulit batang. Secara umum, daun diambil saat proses fotosintesis paling aktif, yaitu saat munculnya bunga dan sebelum penuaan buah dan biji, sedangkan kulit batang diambil saat proses pertumbuhan masih aktif dan kulit kayu telah terbentuk (Claus, 1961). Bagian daun diambil mulai dari daun ketiga dan kulit batang diambil pada cabang pertama dan kedua. Bagian simplisia tersebut digunakan dalam penelitian karena simplisia tersebut mudah diambil dan tidak mengganggu pertumbuhan tanaman yang diambil. Simplisia yang diperoleh disortasi basah untuk memisahkan kotoran dan bahan asing yang menempel pada tanaman. Gambar simplisia dapat dilihat pada Gambar 4.3 hingga 4.13. Bagian kulit batang dirajang untuk mempercepat pengeringan dan mempermudah penyerbukan, sedangkan daun dikeringkan setelah dilakukan sortasi basah. Simplisia kemudian ditimbang untuk mengetahui berat basah simplisia, kemudian simplisia dikeringkan. Hasil susut pengeringan dapat dilihat pada Tabel 4.2. Pengeringan dilakukan pada suhu di bawah 40<sup>0</sup>C. Tujuan pengeringan adalah untuk mendapatkan simplisia yang tidak mudah rusak, sehingga dapat disimpan dalam waktu yang lebih lama. Dengan mengurangi kadar air dan menghentikan reaksi enzimatik akan dicegah penurunan mutu atau perusakan simplisia. Simplisia yang telah kering kemudian diserbuk.

##### **4.1.2 Ekstraksi Simplisia**

Ekstraksi serbuk simplisia dilakukan dengan cara panas, yaitu dengan cara refluks menggunakan pelarut etanol 80%. Penggunaan serbuk simplisia bertujuan untuk memperluas permukaan pada sampel yang akan diekstraksi sehingga memungkinkan untuk menyari komponen kimia yang ada pada sampel dalam jumlah yang lebih banyak (Samuelsson, 1999). Suhu yang tinggi dari metode refluks memiliki pengaruh langsung terhadap kecepatan untuk terjadinya kesetimbangan, yaitu antara zat kimia terlarut di

dalam sel tanaman dan pelarut yang berada di sekeliling fragmen jaringan tanaman, sehingga pelarut dapat lebih cepat untuk melarutkan komponen senyawa kimia pada simplisia. Campuran etanol absolut dan air dipilih karena selektif terhadap komponen yang diekstraksi, yaitu memiliki kemampuan dalam melarutkan sebagian besar komponen kimia alami yang memiliki berat molekul kecil, seperti alkaloid, saponin dan flavonoid (Samuelsson, 1999). Etanol 80% dipilih sebagai pelarut karena mendekati kepolaran dari senyawa yang akan diekstraksi, yaitu senyawa dengan berat molekul rendah, seperti alkaloid, saponin dan flavonoid serta memenuhi syarat kefarmasian mengenai pelarut yang diperbolehkan untuk digunakan dalam sediaan obat (Depkes, 2000; Samuelsson, 1990).

Refluks dilakukan selama satu jam setelah itu larutan didinginkan. Larutan simplisia kemudian disaring untuk memisahkan antara ampas dan ekstrak cair etanol. Setelah disaring, ampas ditambahkan lagi pelarut etanol, kemudian proses ekstraksi diulangi kembali hingga tiga kali agar jumlah senyawa yang tersari bisa didapatkan lebih banyak. Ekstrak cair yang didapat diuapkan pelarutnya menggunakan penangas air hingga didapat ekstrak etanol lunak (*soft extract*). Penguapan dilakukan dengan suhu tidak lebih dari 55°C (Gaedck, Steinhoff & Blasius, 2000). Ekstrak lunak tersebut masih mengandung 15-25% air yang masih tersisa (Samuelsson, 1999). Ekstrak yang diperoleh diletakkan pada wadah kaca dan disimpan di lemari pendingin pada suhu 4°C. Ekstrak yang diperoleh kemudian ditimbang untuk dihitung rendemennya. Rendemen ekstrak dapat dilihat pada Tabel 4.3.

## 4.2 Identifikasi Kandungan Kimia

### 4.2.1 Identifikasi Alkaloid

Pada identifikasi alkaloid, daun *R.sumatrana*, kulit batang *S.caudatus*, kulit batang *S.gratus*, daun *T.sphaerocarpa*, dan kulit batang *W.tenuiflora* dari famili Apocynaceae memberikan hasil positif pada reaksi Mayer, Dragendorff dan Bouchardart. Pada famili Clusiaceae, daun *C.tomentosum*, daun *G.bancana*, *G.hombroniana* dan daun *G.rigida* memberikan hasil positif pada reaksi Mayer dan Dragendorff. Hasil positif dari reaksi Dragendorff terbentuk endapan merah atau jingga coklat. Hasil positif dari reaksi Mayer terbentuk endapan putih, sedangkan pada reaksi

Bouchardart terbentuk endapan merah bata, coklat atau hitam. Pada famili Apocynaceae, alkaloid umumnya cenderung memusat pada akar dan kulit kayu, sehingga hasil positif pada identifikasi kulit batang *S.gratus* dan *S.caudatus* dapat terjadi walaupun pada daun *S.gratus* dan *S.caudatus* didapatkan hasil negatif terhadap alkaloid (Farnsworth, 1966). Hasil identifikasi kandungan alkaloid tiap ekstrak tanaman secara lengkap dapat dilihat pada Tabel 4.4 hingga 4.7.

#### 4.2.2 Terpen/ Sterol

Identifikasi terpen/ sterol dilakukan dengan melarutkan ekstrak etanol dengan pelarut eter yang berfungsi untuk menjenuhkan sterol sehingga perubahan warna segera dapat diamati ketika dilakukan penambahan reaksi Liebermann-Burchard yang mengandung asam asetat anhidrat dan asam sulfat pekat dengan perbandingan 2:1 (Farnsworth, 1966). Hasil positif dari reaksi Liebermann-Burchard yaitu terbentuknya warna merah-hijau jika mengandung sterol dan warna violet-biru jika mengandung terpen. Pada 15 simplisia dari famili Apocynaceae dan Clusiaceae yang diuji, dapat diamati munculnya warna hijau muda hingga hijau lumut sehingga diketahui bahwa 15 simplisia yang diuji mengandung sterol. Hasil identifikasi kandungan alkaloid tiap ekstrak tanaman secara lengkap dapat dilihat pada Tabel 4.4 hingga 4.7.

#### 4.2.3 Saponin

Pada identifikasi saponin hasil positif didapat pada lima belas simplisia dari famili Apocynaceae dan Clusiaceae yang diidentifikasi. Buih yang terbentuk setinggi satu hingga lima sentimeter. Busa yang sedikit terbentuk dan hanya bertahan beberapa menit karena kemungkinan dalam bahan yang diperiksa terkandung protein, asam-asam tumbuhan tertentu atau saponin dalam konsentrasi kecil (Farnsworth, 1966). Hasil identifikasi kandungan saponin tiap ekstrak tanaman secara lengkap dapat dilihat pada Tabel 4.4 hingga 4.7.

#### 4.2.4 Tanin

Berdasarkan hasil identifikasi 15 simplisia didapatkan 10 simplisia yang positif mengandung tanin. Simplisia tersebut adalah kulit batang *S.caudatus*, daun dan kulit

batang *W.tenuiflora* dan daun *C.tomentosum* dari Famili Apocynaceae, serta daun *G.bancana*, daun dan kulit batang *G.daedalanthera*, daun *G. hombroniana*, daun *G. kydia* dan daun *G. rigida* dari famili Clusiaceae.

Hasil yang terbentuk dengan penambahan gelatin 10% adalah munculnya gumpalan-gumpalan putih pada tabung reaksi dan bila didiamkan selama kurang lebih 15 menit akan muncul endapan pada dasar tabung reaksi. Endapan pun muncul pada penambahan NaCl-gelatin, namun gumpalan putih yang terbentuk lebih cepat terjadi dan lebih banyak dibandingkan dengan hanya penambahan gelatin. Endapan yang terbentuk pada dasar tabung reaksi juga terbentuk dengan cepat. Reaksi menggunakan besi (II) klorida terbentuk senyawa kompleks berwarna dengan hasil positif jika terbentuk warna hijau lumut, hijau-coklat dan hijau kehitaman. Jika terbentuk warna hijau kehitaman maka yang terkandung dalam simplisia adalah tanin terkondensasi. Hasil identifikasi kandungan tanin tiap ekstrak tanaman secara lengkap dapat dilihat pada Tabel 4.4 hingga 4.7.

#### 4.2.5 Glikosida

Glikosida dihidrolisis oleh asam klorida 10% melalui pemanasan. Hidrolisis dari glikosida akan menghasilkan gula mereduksi dan aglikon yang dapat diklasifikasikan sebagai aldehida, alkohol, fenol maupun gugus lainnya (Sirait, 2007). Larutan percobaan kemudian dicuci dengan eter untuk menghilangkan komponen non-polar yang kemungkinan masih ada. Identifikasi adanya gugus gula melalui reaksi Molisch. Prinsipnya adalah terbentuknya cincin ungu pada lapisan uji disebabkan adanya reaksi alfa-naftol dengan furfural dan atau turunannya yang terbentuk dari dehidrasi gula oleh asam sulfat pekat (Dandekar, 2004). Pada identifikasi glikosida hasil positif terhadap reaksi Molisch didapat pada lima belas simplisia yang diidentifikasi, sedangkan pada reaksi Liebermann-Burchard hasil positif terjadi ketika perubahan warna menjadi hijau hingga hijau lumut didapat pada daun *R.sumatrana*, daun dan kulit batang *S.caudatus*, kulit batang *W.tenuiflora*, daun *G.daedalanthera* dan daun *G.hombroniana*. Contoh gambar hasil positif pada simplisia uji dapat dilihat pada Gambar 4.18. Hasil identifikasi kandungan glikosida tiap ekstrak tanaman secara lengkap dapat dilihat pada Tabel 4.4 hingga 4.7.

#### 4.2.6 Flavonoid

Identifikasi flavonoid dilakukan dengan melarutkan ekstrak etanol dengan etil asetat. Etil asetat merupakan pelarut organik yang tidak bercampur dengan air namun agak polar, sehingga dapat memisahkan flavonoid dari senyawa yang lebih polar seperti karbohidrat. Larutan percobaan kemudian diuapkan hingga terdapat residu. Residu ini dilarutkan dengan etanol 95% kemudian direaksikan dengan reaksi Shinoda yaitu mereaksikan dengan seng dalam asam klorida dan magnesium dalam asam klorida serta reaksi Wilson Taubock yang direaksikan dengan asam borat dan asam oksalat. Identifikasi flavonoid menggunakan reaksi Shinoda dilakukan berdasarkan reaksi reduksi dengan menggunakan magnesium dan seng (Farnsworth, 1966).

Reaksi kedua yaitu menggunakan reaksi Wilson-Taubock yaitu dengan mereaksikan asam borat dengan asam oksalat. Pada reaksi ini akan terbentuk kompleks yang akan menampakkan fluoresensi kuning yang intensif di bawah sinar ultraviolet 366 nm. Simplisia yang positif terhadap reaksi Shinoda dan Wilson Taubock adalah daun *G.daedalanthera* dan daun *G.kydia* dari famili Clusiaceae, sedangkan pada famili Apocynaceae tidak didapatkan hasil positif senyawa flavonoid. Hasil pengamatan dari daun *G.daedalanthera* menggunakan serbuk seng menghasilkan warna oranye ketika ditambahkan asam klorida pekat, sedangkan pada saat ditambahkan magnesium dan asam klorida pekat dihasilkan warna merah-keunguan. Pada reaksi Wilson taubock hasil fluoresensi menghasilkan warna kuning. Pada daun *G.kydia* reaksi Shinoda menggunakan serbuk seng menghasilkan warna merah darah, sedangkan pada saat direaksikan dengan magnesium dan asam klorida memberikan warna oranye. Pada reaksi Wilson Taubock hasil fluoresensi menghasilkan warna kuning. Hasil identifikasi kandungan glikosida tiap ekstrak tanaman secara lengkap dapat dilihat pada Tabel 4.4 hingga 4.7.

#### 4.2.7 Antrakuinon

Identifikasi antrakuinon dilakukan dengan menghidrolisis ekstrak etanol dengan asam sulfat 2 N kemudian dipanaskan. Larutan yang didapat disaring dan ditarik dengan *wash benzene*. Penggantian larutan benzen dengan *wash benzene* disebabkan pelarut yang sulit untuk didapat. Larutan pada lapisan *wash benzene* diambil kemudian

ditambahkan natrium hidroksida. Hasil positif adalah terbentuknya warna merah pada larutan natrium hidroksida. Tanaman yang memberikan hasil positif terhadap antrakuinon adalah daun dan kulit batang *G. daedalanthera*, daun *G. hombroniana*, daun *G. kydia* dan daun *G. rigida*. Hasil positif yang didapat dari hasil percobaan adalah terbentuknya warna oranye pada larutan natrium hidroksida. Warna yang tidak sama dengan hasil positif antrakuinon yaitu warna merah pada larutan natrium hidroksida dimungkinkan karena benzen yang digunakan untuk pereaksi pada identifikasi antrakuinon diganti penggunaannya dengan *wash benzene*, ataupun disebabkan hidrolisis yang tidak sempurna dari bentuk glikosidanya untuk menjadi aglikonnya. Hasil positif pada reaksi identifikasi antrakuinon pun hanya terbatas pada turunan antrakuinon yang memiliki gugus hidroksi pada posisi 1 dan 8, contohnya aloe-emodin (Robinson, 1983). Hasil identifikasi kandungan antrakuinon tiap ekstrak tanaman secara lengkap dapat dilihat pada Tabel 4.4 hingga 4.7.

#### 4.2.8 Kemotaksonomi

Adanya hubungan kekerabatan berdasarkan persamaan taksonomi dapat membantu memprediksi adanya zat aktif dalam kelompok-kelompok tertentu dari tanaman (Prosea, 2002). Analisis fitokimia tanaman dari pada famili yang sama, yaitu Clusiaceae diketahui adanya kandungan flavonoid (Ghamba, Agbo, Umar & Bukbuk, 2011; Pretto, Cechinel-Filho, Noldin & Sartori, 2004). Pada uji penapisan fitokimia ekstrak air pada genus yang sama, yaitu *Garcinia* mengungkapkan adanya flavonoid, tanin, saponin, sterol dan senyawa terpen dan namun tidak ditemukan kandungan senyawa alkaloid. Flavonoid yang merupakan bagian dari kandungan fitokimia pada salah satu genus *Garcinia* diketahui memiliki aktivitas hipoglikemik dan telah diteliti lebih lanjut dalam terapi diabetes (Ghamba, Agbo, Umar & Bukbuk, 2011).

Pada famili Apocynaceae diketahui bahwa berdasarkan literatur diketahui mengandung senyawa alkaloid (Prosea, 2002). Pada genus *Tabernaemontana* diteliti beberapa jenis mengandung alkaloid indol (Zhu, Kalt-Hadamowsky & Hesse, 1990), sedangkan pada genus *Rauvolfioideae* diketahui bahwa 12 jenis tanaman mengandung alkaloid (Middleton, 2004). Dari hasil identifikasi kimia yang dilakukan, diketahui adanya 5 simplisia yang positif mengandung alkaloid dari 8 simplisia yang diuji, selain

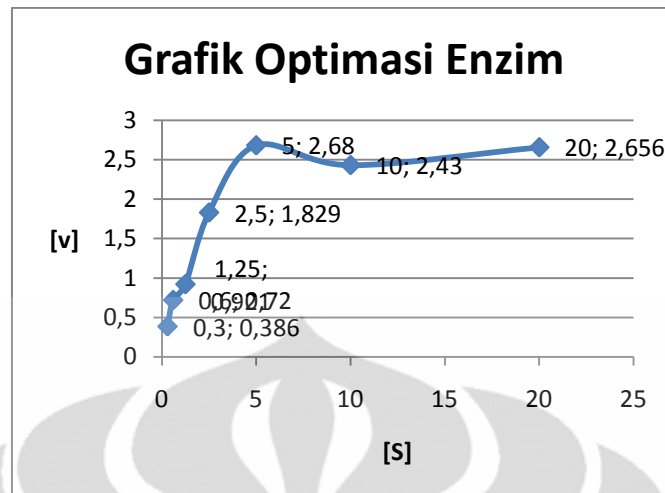
itu pada kedelapan simplisia mengandung terpen, saponin dan glikosida. Pada famili Clusiaceae, ketujuh simplisia uji dideteksi adanya kandungan tanin, terpen, saponin dan glikosida.

### 4.3 Uji pendahuluan

#### 4.3.1 Penentuan Konsentrasi Optimum Enzim dan Substrat

Penghambatan  $\alpha$ -glukosidase yang berasal dari *Saccharomyces cerevisiae* dengan metode enzimatik terjadi pada kisaran pH 2-10, secara potensial dipengaruhi oleh larutan buffer dan relatif stabil pada suhu 4-35°C (Tiengburanatom, et al., 2010). Melalui pengujian dari berbagai variasi enzim pada konsentrasi substrat 10 dan 20 mM didapatkan bahwa serapan pada konsentrasi enzim 0,3 unit/mL diluar batas deteksi alat spektrofometri UV-Vis, yaitu serapan di atas 3,999, sedangkan pada konsentrasi enzim 0,15 unit/mL, 0,075 unit/mL dan 0,0375 unit/mL belum terdapat serapan yang sama yang menunjukkan bahwa sisi-sisi enzim belum terisi penuh.

Konsentrasi enzim 0,15 unit/mL digunakan untuk menentukan konsentrasi optimum substrat karena serapan yang didapatkan lebih memudahkan pengamatan bila terjadi inhibisi oleh ekstrak simplisia uji. Pada konsentrasi enzim 0,15 unit/mL didapat serapan 2,092 pada konsentrasi 10 mM dan serapan 1,945 pada 20 mM. Selanjutnya dilakukan pengukuran serapan dengan berbagai variasi substrat dengan konsentrasi enzim 0,15 unit/mL untuk mengetahui serapan yang konstan pada berbagai variasi konsentrasi enzim. Berdasarkan hasil pengukuran, mulai konsentrasi substrat 5 mM serapan yang terukur mulai konstan, yaitu serapan rata-rata yang didapatkan pada konsentrasi 5 mM sebesar 2,701; 10 mM sebesar 2,473 dan 20 mM sebesar 2,728. Serapan yang didapat menunjukkan bahwa enzim telah optimum dan konsentrasi substrat dan enzim telah seimbang. Data lengkap dapat dilihat pada Gambar 4.1, 4.13 serta Tabel 4.8 dan 4.9.



**Gambar 4.1** Grafik optimasi enzim  $\alpha$ -glukosidase 0,15 unit/mL pada berbagai variasi konsentrasi substrat, yaitu 20; 10; 5; 2,5; 1,25; 0,6 dan 0,3 mM

#### 4.4 Pengujian Aktivitas Penghambatan $\alpha$ -Glukosidase

Prinsip pengujian ini adalah mengukur serapan dari *p*-nitrofenol. *P*-nitrofenol merupakan produk dari reaksi *p*-nitrofenil  $\alpha$ -D-glukopiranosida yang merupakan substrat dari  $\alpha$ -glukosidase sesuai dengan reaksi pada Gambar 2.6 (Sugiwati, Setiasi dan Afifah, 2009). Reaksi ini berlangsung secara *in vitro*, sementara di dalam tubuh yang berfungsi sebagai substrat adalah karbohidrat. Penggunaan inhibitor  $\alpha$ -glukosidase sebagai antihiperqlikemik berdasarkan penghambatan kompetitif secara *reversible* terhadap enzim pencernaan karbohidrat yang ada pada usus halus yaitu  $\alpha$ -glukosidase (Koolman & Roehm, 2005) dan terdiri dari  $\alpha$ -amilase, isomaltase, sukrase, dan maltase. Enzim-enzim ini berfungsi pada proses hidrolisis karbohidrat menjadi glukosa. Pada penderita diabetes inhibisi enzim tersebut menyebabkan terhambatnya absorpsi glukosa dan menurunkan hiperglikemia *post prandial* (Sugiwati, Setiawati & Afifah, 2009).

##### 4.4.1 Pengujian Standar Akarbose

Akarbose digunakan sebagai standar dan merupakan hasil fermentasi mikroorganisme *Actinoplanes utahensis* (Rodriguez, Lucas, Carmona & Canas, 2007). Akarbose digunakan sebagai standar karena akarbose telah digunakan secara luas sebagai obat di Indonesia serta standar lebih mudah didapat dibanding miglitol atau vioglibose. Pada pengujian aktivitas penghambatan akarbose terhadap  $\alpha$ -glukosidase



didapatkan  $IC_{50}$  116,95  $\mu\text{g/mL}$ . Pada literatur, didapatkan nilai  $IC_{50}$  128  $\mu\text{g/mL}$ . Perbedaan nilai konsentrasi penghambatan dapat terjadi karena perbedaan jumlah konsentrasi substrat dan enzim yang digunakan oleh literatur, yaitu 2 mM dan 0,1 unit/mL serta jenis spektrofotometer UV-Vis yang digunakan (Andrade-Cetto, Becerra-Jim'enez, & V'azquez, 2008). Data selengkapnya dapat dilihat pada Gambar 4.14 dan Tabel 4.10.

#### 4.4.2 Pengujian Sampel

Pada pengujian sampel digunakan ekstrak etanol dari 15 simplisia yang akan diuji. Ekstrak etanol dilarutkan dengan buffer fosfat pH 6,8 dengan penambahan dimetil sulfoksida sebanyak 10-20 tetes untuk membantu melarutkan ekstrak etanol. Larutan sampel dibuat sebanyak empat konsentrasi, yaitu 1%, 0,5%, 0,25% dan 0,125% untuk melihat perubahan aktivitas penghambatan terhadap enzim  $\alpha$ -glukosidase serta menghitung  $IC_{50}$ . Larutan uji yang digunakan untuk mengukur aktivitas penghambatan enzim terdiri larutan sampel atau dimetil sulfoksida, buffer fosfat pH 6,8, substrat pNP-G, enzim glukosidase dan natrium karbonat. Buffer fosfat digunakan untuk menjaga pH dari larutan enzim dan pNP-G tetap pada pH 6,8, sedangkan larutan natrium karbonat digunakan sebagai larutan penghenti enzim. Natrium karbonat dipilih karena p-nitrofenil merupakan senyawa yang akan memberikan warna kuning pada pH larutan di atas 8, sedangkan pada pH asam yaitu di bawah pH 4,8 atau pH netral, p-nitrofenil tidak memberikan warna (Huggins & Smith, 1947). Larutan uji dibuat sebagai kontrol blangko, blangko, kontrol sampel dan sampel.

Tujuan dibuat kontrol blangko adalah untuk mengetahui bila bahan-bahan yang digunakan dalam larutan uji memberikan serapan pada panjang gelombang 400 nm dan untuk mengetahui kemungkinan enzim  $\alpha$ -glukosidase masih aktif setelah penambahan larutan penghenti natrium karbonat. Kontrol sampel dibuat untuk mengetahui apakah larutan sampel yang diuji memberikan serapan pada panjang gelombang 400 nm. Pengukuran sampel dilakukan untuk mengetahui apakah sampel memiliki aktivitas penghambatan terhadap enzim  $\alpha$ -glukosidase.

Uji aktivitas penghambatan enzim glukosidase dilakukan pada suhu optimum  $37^{\circ}\text{C}$  dengan konsentrasi enzim optimum 0,15 unit/mL dan substrat 5 mM pada panjang

gelombang 400 nm. Semua sampel diukur aktivitas penghambatannya menggunakan spektrofotometer UV-Vis Shimadzu 265. Hasil pengujian menunjukkan konsentrasi penghambatan yang dapat menghambat 50% aktivitas enzim terjadi pada rentang 2,33  $\mu\text{g/mL}$  hingga 706,81  $\mu\text{g/mL}$ . Pada famili Apocynaceae diketahui  $\text{IC}_{50}$  terendah terdapat pada daun *Willughbeia tenuiflora* yaitu sebesar 8,16  $\mu\text{g/mL}$  sedangkan  $\text{IC}_{50}$  tertinggi pada daun *S.caudatus* sebesar 706,81  $\mu\text{g/mL}$ .

Pada famili Clusiaceae  $\text{IC}_{50}$  terendah pada daun *G.daedalanthera* dengan nilai 2,3298  $\mu\text{g/mL}$ , sedangkan  $\text{IC}_{50}$  tertinggi pada daun *G.rigida* dengan nilai 24,48  $\mu\text{g/mL}$ . Nilai  $\text{IC}_{50}$  yang kecil disebabkan oleh persen inhibisi yang besar dari variasi konsentrasi ekstrak, sedangkan besarnya nilai persen inhibisi disebabkan kandungan zat aktif yang menghambat enzim  $\alpha$ -glukosidase juga besar. Konsentrasi dari sampel yang memiliki nilai penghambatan yang besar ini diturunkan konsentrasinya agar konsentrasi yang digunakan dalam pengukuran adalah konsentrasi di bawah dan di atas konsentrasi yang diperkirakan memberikan nilai  $\text{IC}_{50}$ . Jika dibandingkan dengan  $\text{IC}_{50}$  standar akarbose, yaitu 116,95  $\mu\text{g/mL}$ , terdapat 11 simplisia yang berada di bawah  $\text{IC}_{50}$  akarbose, yaitu kulit batang *S.caudatus*, daun *S.gratus*, daun dan kulit batang *W.tenuiflora*, daun *C.tomentosum*, daun *G.bancana*, daun dan kulit batang *G.daedalanthera*, daun *G.hombroniana*, daun *G.kydia* dan daun *G.rigida*.

Tiga simplisia uji dari famili Apocynaceae didapatkan hasil  $\text{IC}_{50}$  yang memiliki  $\text{IC}_{50}$  di bawah akarbose, di mana berdasarkan pada literatur diketahui pula bahwa daun *Alstonia scholaris* pada genus yang sama memiliki aktivitas penghambatan terhadap enzim  $\alpha$ -glukosidase (Jong-Anurakkun, Bhandari & Kawabata, 2006). Pada simplisia uji dari genus *Garcinia* dari famili Clusiaceae didapatkan hasil  $\text{IC}_{50}$  yang seluruhnya memiliki  $\text{IC}_{50}$  di bawah akarbose, di mana berdasarkan pada literatur diketahui pula bahwa kulit batang *G.brevipedicellata* yang memiliki genus yang sama memiliki aktivitas penghambatan terhadap enzim  $\alpha$ -glukosidase (Ngoupayo, 2008). Hasil yang diperoleh dapat menambah informasi tanaman dari Famili Apocynaceae dan Clusiaceae yang memiliki aktivitas penghambatan  $\alpha$ -glukosidase.  $\text{IC}_{50}$  yang lebih kecil dibandingkan dengan akarbose menunjukkan adanya aktivitas penghambatan enzim  $\alpha$ -glukosidase, sehingga simplisia tersebut sangatlah menarik untuk diteliti lebih lanjut

guna mencari adanya kemungkinan adanya kandungan senyawa yang aktif pada simplisia tersebut. Data selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 4.11 hingga 4.25.

**Tabel 4.1 Nilai IC<sub>50</sub> dari standar akarbose dan simplisia uji**

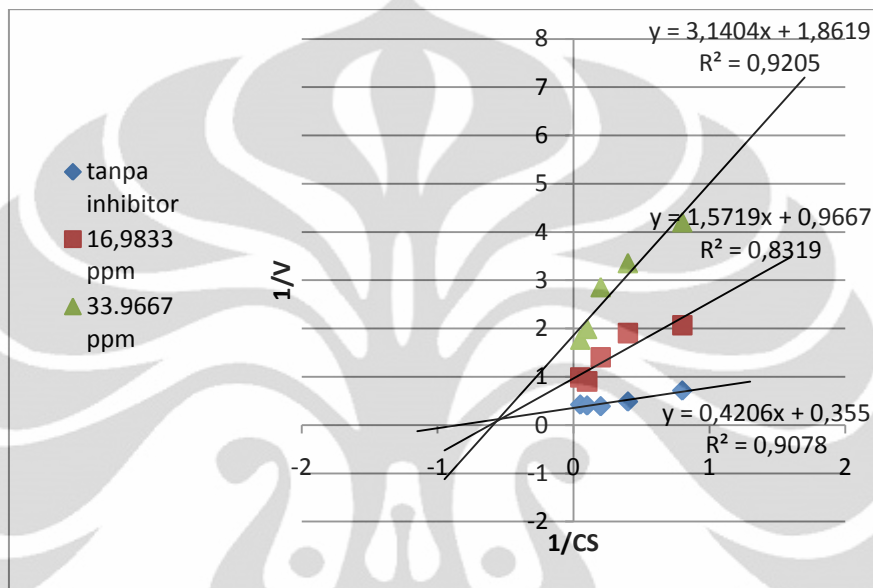
No	Simplisia Uji	Bagian yang Digunakan	IC <sub>50</sub> (µg/mL)
1.	Akarbose	-	116,95
2.	<i>Rauvolfia sumatrana</i> Jack	daun	174,27
3.	<i>Strophanthus caudatus</i> (Blume.f.)Kurz	daun	706,81
4.	<i>Strophanthus caudatus</i> (Blume.f.)Kurz	kulit batang	13,93
5.	<i>Strophanthus gratus</i> Baill.	daun	50,61
6.	<i>Strophanthus gratus</i> Baill.	kulit batang	202,17
7.	<i>Tabernaemontana sphaerocarpa</i> Blume	daun	554,32
8.	<i>Willughbeia tenuiflora</i> Dyer ex Hook.f	daun	8,16
9.	<i>Willughbeia tenuiflora</i> Dyer ex Hook.f	kulit batang	42,11
10.	<i>Calophyllum tomentosum</i> Wight.	daun	15,83
11.	<i>Garcinia bancana</i> Miq.	daun	22,41
12.	<i>Garcinia daedalanthera</i> Pierre.	daun	2,33
13.	<i>Garcinia daedalanthera</i> Pierre.	kulit batang	3,71
14.	<i>Garcinia hombroniana</i> Pierre.	daun	11,30
15.	<i>Garcinia kydia</i> Roxb.	daun	3,88
16.	<i>Garcinia rigida</i> Miq.	daun	24,48

#### 4.5 Penentuan Kinetika Inhibisi Enzim

Pada pengujian aktivitas penghambatan sampel didapatkan bahwa daun dan kulit batang *G.daedalanthera* serta daun *G.kydia* memiliki IC<sub>50</sub><5 µg/mL, namun daun *G. kydia* memiliki nilai penghambatan yang sebanding dengan peningkatan konsentrasi dibanding daun dan kulit batang *G.daedalanthera*, sehingga dipilih daun *G.kydia* untuk menentukan kinetika inhibisi dari enzim α-glukosidase. Gambar spektrum uji aktivitas penghambatan enzim α–glukosidase dapat dilihat pada Gambar 4.15. Data selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 4.11 hingga 4.25. Berdasarkan pengolahan data pada Tabel 4.26 dan 4.27 dapat dinyatakan bahwa kinetika inhibisi enzim α-glukosidase pada ekstrak etanol daun *G.kydia* merupakan inhibisi yang bersifat non-kompetitif sesuai pada Gambar 4.1. Grafik menunjukkan bahwa titik potong (*intersep*) berada didekat sumbu x, yang menunjukkan nilai K<sub>M</sub> yang sama. Hal ini merupakan ciri dari kinetika

inhibisi non kompetitif (McPherson & Pincus, 2007). Adanya penurunan  $V_{max}$  pada grafik inhibitor menunjukkan bahwa adanya inhibitor menyebabkan penurunan laju aktivitas enzim walaupun afinitas ikatan enzim-substrat tidak dipengaruhi (McPherson & Pincus, 2007). Nilai konstanta Michaelis-Menten ( $K_m$ ) yaitu 1,455; 1,352; 1,157 dan 0,709  $\mu\text{M}/\text{ml}$ .

**Gambar 4.2 Grafik Kinetika Enzim  $\alpha$ -Glukosidase**



**Grafik Kinetika Enzimatis *G.kydia* pada konsentrasi substrat pNP 1,25; 2,5; 5; 10 dan 20 ppm, serta konsentrasi ekstrak 4,25; 8,49; 16,98 dan 33, 97 ppm**

Hasil serapan yang besar pada pengukuran produk nitrofenol dapat menyebabkan bias dari nilai yang didapat, sehingga nilai yang didapat tidak menggambarkan nilai yang sebenarnya. Hal ini dapat diketahui dari kecilnya nilai  $r$  yang didapat persamaan regresi linear pada kurva hubungan antara konsentrasi pada sumbu x dan % inhibisi pada sumbu y. Data dari hasil penelitian masih dapat digunakan karena merupakan tahap awal untuk skrining pada tanaman yang punya aktivitas penghambatan terhadap  $\alpha$ -glukosidase, sedangkan untuk penelitian selanjutnya sebaiknya digunakan serapan yang sesuai pada literatur yaitu berkisar 0,2-0,8; di mana kesalahan dalam pembacaan (kesalahan fotometrik) kecil yaitu 0,005 atau 0,5% (Depkes, 1995a; Gandjar, 2007).

## BAB 5

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### 5.1 Kesimpulan

1. Pada pengujian aktivitas penghambatan sampel diketahui terdapat 11 simplisia yang memiliki  $IC_{50}$  di bawah akarbose, yaitu pada kulit batang *S.caudatus*, daun *S.gratus*, daun dan kulit batang *W.tenuiflora*, daun *C.tomentosum*, daun *G.bancana*, daun dan kulit batang *G.daedalanthera*, daun *G.hombroniana*, daun *G.kydia* serta daun *G.rigida*.
2. Hasil identifikasi menunjukkan golongan kandungan kimia dari famili Apocynaceae mengandung antara lain alkaloid, terpen, saponin dan glikosida, sedangkan pada famili Clusiaceae mengandung tanin, terpen, saponin, glikosida dan antrakuinon.

#### 5.2.Saran

Perlu diadakan penelitian lebih lanjut seperti fraksinasi, isolasi senyawa aktif dalam simplisia serta uji *in vivo* dari ekstrak tanaman yang memiliki aktivitas penghambatan kuat terhadap  $\alpha$ -glukosidase.

## DAFTAR ACUAN

- Akarbose. (2001). *Akarbose*. <http://www.medicinenet.com/akarbose/article.htm> (15/01/2011)
- Adaramoye dan Adeyemi. (2006). *Hypoglycemic and Hypolipidaemic Effects of Fractions from Kolaviron, A Biflavonoid Complex from Garcinia Kola in Streptozotocin-induced Diabetes Mellitus Rats*. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 58(1):121-128.
- Ali, K .M., Chatterjee, K., De, D., Bera, T. K., Ghosh, D. (2009). *Efficacy Of Aqueous Extract Of Seed Of Holarrhena Antidysenterica For The Management Of Diabetes In Experimental Model Rat: A Correlative Study With Antihyperlipidemic Activity*. *International Journal of Applied Research in Natural Products* 2(3), 13-21
- Andrade-Cetto, A., Becerra-Jim'enez, J., V'azquez, C. (2008). *Alfa-glucosidase-inhibiting activity of some Mexican plants used in the treatment of type 2 diabetes*. *Journal of Ethnopharmacology*, 116, 27-32
- Backer, C.A dan Brink, R.C.B. (1965). *Flora of Java (Spermatopytes only): Vol 1 Angiospermae Families*. The Netherlands: Groningen. hal. 111-160.
- Balai Penelitian dan Pengembangan Penelitian. (2007). *Teknologi Penyimpanan Simplisia Terstandar Tanaman Obat*. *Warta Penelitian dan Pengembangan Tanaman Industri*, 13(2), 1-5.
- Bayer. (2004). *Precose (Akarbose Tablets)*. <http://www.drug.com/PDR/PrecoseTablets.html>.(10 Jan.2011,pukul 10.54 WIB).
- Biology. (n.d). *Biology*. [http://hsc.csu.edu.au/biology/core/balance/9\\_2\\_1/921\\_net.html](http://hsc.csu.edu.au/biology/core/balance/9_2_1/921_net.html) (23 Mei 2011 pukul 02.20 WIB).
- Blaber. (2001). *Enzyme Inhibition, Reaction Involving Two or More Substrates, Ribozymes and Abazymes*. <http://www.mikeblaber.org/oldwine/BCH4053/Lecture25/Lecture25.htm> (23 Mei 2011 pukul 02.45 WIB).
- Bösenberg, L.H. (2008). *The mechanism of action of oral antidiabetic drugs: a review of recent literature*. *The Journal of Endocrinology, Metabolism and Diabetes of South Africa*, 13, 3, 80-88.
- Champe, P. C., Harvey, R. A., Ferrier, D. R. (1994). *Lippincott's Illustrated Reviews: Biochemistry*. *Lippincott Williams & Wilkins*. USA: Philadelphia.

- Cheng, A.Y.Y, dan Fantus, I.G. (2005). *Oral antihyperglycemic therapy for type 2 diabetes mellitus*. Canadian Medical Association Journal, 2, 172.
- Corwin, Elizabeth J. (2003). *Buku Saku Patofisiologi. Terjemahan dari: Phytochemical Handbook of Pathophysiology* (Brahm U.Pendit, Penerjemah). Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran.
- Coulson, C. J. (1995). *Molecular Mechanism of Drug Action Second Edition*. United of Kingdom : Glaxo Group Research, hal. 70-71.
- Dandekar, Suncheta P dan Rane, S. A. (2004). *Practical and Viva in Medical Biochemistry*. Delhi : Rajkarnal Electric Press.
- Departemen Farmakologi dan Terapeutik. (2007). *Farmakologi dan Terapi 5<sup>th</sup> Edition*. Jakarta : Gaya Baru, hal. 485-495.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (1979). *Farmakope Indonesia edisi ketiga*. Jakarta : Departemen Kesehatan Republik Indonesia, hal.773.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (1995a). *Farmakope Indonesia edisi keempat*. Jakarta : Departemen Kesehatan Republik Indonesia, hal.1061.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (1995b). *Materia Medika Indonesia Volume VI*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (2000). *Parameter standar umum ekstrak tumbuhan obat*. Jakarta : Departemen Kesehatan, hal.1-12.
- Dewi, R.T., et al. (2007). *Inhibitory effect of Koji Aspergillus terreus on  $\alpha$ -glucosidase activity and postprandial hyperglycemia*. Pakistan Journal of Biological Science, 18, 3131-3135.
- Direktorat Jenderal Bina Kefarmasian dan Alat Kesehatan Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (2005). *Pharmaceutical Care untuk Penyakit Diabetes Mellitus*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Ebadi, Manuchair. (2001). *Pharmacodynamics basis of herbal medicine*. United States of America. hal. 447-456.
- EISAI. (1986). *Indeks Tumbuh-Tumbuhan Obat di Indonesia*. PT. EISAI.
- Enzyme Inhibition. (n.d). *Enzyme Inhibition*. <http://www.civil.uwaterloo.ca/enve375/Background.htm>.
- Farnsworth, N.R. (1966). *Biological and Phytochemical Screening of Plants*. Journal of Pharmaceutical Sciences, 55(3), 225-276.

- Flora Malesiana. (2007). *Apocynaceae (Subfamilies Rauvolfioideae dan Apocynaceae)*. Seri I-Seed Plants.
- Gaedcke, F., Steinhoff, B. & Blasius, H. (2000). *Herbal Medicinal Products*. Jerman: Medpharm Scientific Publishers.
- Gandjar, I. G. & Rohma, A. (2007). *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Ghamba, P.E., Agbo, E. B., Umar, A. F., dan Bukbuk, D. N. (2011). *The effects of Diethyl ether and Aqueous Garcinia kola seeds extracts on some bacterial isolates*. Academia Arena, 3(2).
- Harborne, JB. (1997). *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan* (Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro, Penerjemah). Bandung: Penerbit ITB.
- Hargreaves, T. (2003). *Chemical Formulation: An Overview of Surfactant-Based Preparations Used In Everyday Life*. RSC Paperbacks: Cambridge.
- Harley, J. H. & Wiberley, S. E. (1954). *Instrumental Analysis*. USA: John Wiley & Sons.
- Hongxiang H., Tang, G., dan Liang, V.W. (2009). *Hypoglycemic herbs and their action mechanisms*. Chinese Medicine.
- Huggins, C dan Smith, D. R., (1947). *Chromogenic Substrates*. University of Chicago. <http://www.jbc.org/content/170/1/391.full.pdf>. (15.Jun 2011).
- Jong-Anurakkun, Bhandari M. R dan Kawabata J. (2006).  *$\alpha$ -Glukosidase inhibitor from Devil tree (Alstonia scholaris)*. Food Chemistry 103,1319-1323.
- Kementrian Kehutanan. (2010). Lokakarya Nasional Tanaman Obat Indonesia. Kementrian Kehutanan RI. <http://www.dephut.go.id/index.php?q=id/node/6603>. (15 Jun 2011)
- Koolman, J., Roehm, K.J. (2005). *Color Atlas of Biochemistry* (2nd ed.). New York: Thieme.
- Kumar, C. K. A. (2008). Oral hypoglycemic agents for treatment of Type-II Diabetes Mellitus : A Review. <http://www.pharmainfo.net/reviews/oral-hypoglycemic-agents-treatment-type-ii-diabetes-mellitus-review> ( 1 Mei 2011 pukul 00.15 WIB)



- Li Y., et. al. (2005). *Punica granatum flower extract, a potent  $\alpha$ -glucosidase inhibitor, improves postprandial hyperglycemia in Zucker diabetic fatty rats*. Journal of Ethnopharmacology, 99, 239-244.
- Matsumoto, K., Takemata, K., Takayama, K., Abesundara, K. J. M., Matsui, T., & Katayama, H. (2002). *A Novel Method for the Assay of  $\alpha$ -Glucosidase Inhibitory Activity Using a Multi-channel Oxygen Sensor*. Analytical Sciences, 18.
- Matthaei et al., (2003). *Medical antihyperglycemic treatment of diabetes mellitus type 2*. German Diabetes Association.
- McPherson, R. A. & Pincus, M. R. (2007). *Henry's Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods 21<sup>th</sup> Edition*. China: Saunders-Elsevier. Hal.245-259.
- Middleton, D. J. (2004). *A revision of Kopsia (Apocynaceae : Rauvolfioideae)*. Harvard Papers in Botany, 9(1), 89-142.
- Ngoupayo, Joseph. (2008).  *$\alpha$ -Glucosidase Inhibitors from Garcinia brevipedicellata (Clusiaceae)*. Chemical Pharmaceutical Bulletin, 56 (10) 1466-1469.
- Ophardt, C.E. (2004). *Mechanism of drug action by enzyme inhibition*. <http://www.elmhurst.edu/~chm/chembook/651enzymeinhibit.html> (07 Jan.2011, Pukul 09.00).
- Pretto, J.B., Cechinel-Filho, V., Noldin, V. F., Sartori, R. K. (2004). *Antimicrobial Activity of Fractions and Compounds from Calophyllum brasiliense (Clusiaceae/Guttiferae)*. Zeitschrift für Naturforsch, 59c, 657-662.
- Prosea. (2002). *Plant Resources of South-East Asia 12 (2) Medicinal and Poisonous Plants 2*. (Valkenburg dan Bunyapraphatsara, editor). Indonesia: Bogor.
- Rasineni, et al. (2010). *Antihyperglycemic Activity of Catharanthus roseus leaf powder in Streptozotocin-induced Diabetic Rats*. Pharmacognosy Research, 2(3), 195-201.
- Robinson, T. (1983). *The Organic Constituents of Higher Plant: Their Chemistry and Interrelationship 5<sup>th</sup> Edition*. North Amherst : Cordus Press.
- Roth, H. J. 1988. *Analisis Farmasi*. Yogyakarta : Gadjah Mada University Press.
- Samuelsson. (1999). *Drugs of Natural Origin: A Text Book of Pharmacognosy 4<sup>th</sup> Edition*. Swedia : Apotekarsocieteten. hal. 46-47.

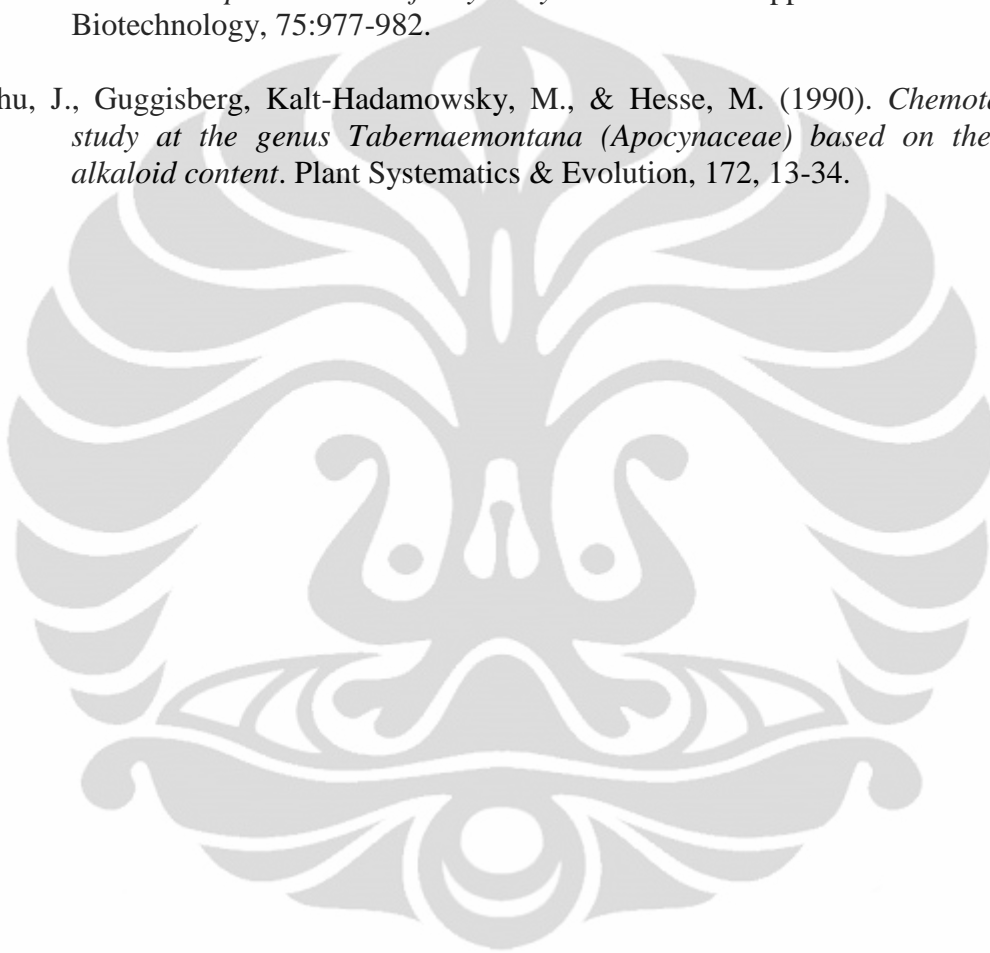
- Shende, et al. (2009). *Evaluation of Hypoglycemic and Antihyperglycemic Effects of Alcoholic Extract of Chonemorpha fragrans root in Normal and Alloxan induced Diabetic Rats*. Pharmacognosy Magazine, 5(19),36-41.
- Sikarwar, et al. (2009). *Antidiabetic Activity of Nerium Indicum Leaf Extract in Alloxan-induced Diabetic Rats*. Journal of Young Pharmacists,4, 1, 330-335.
- Sio-Hong Lam, et al. (2007).  *$\alpha$ -Glucoside Inhibitors from the Seeds of Syagrus romanzoffiana*. Phytochemistry, 69, 1173-1178.
- Sirait, Midian. (2007). *Penuntun fitokimia dalam Farmasi*. Bandung: Penerbit ITB.
- Slagle, M. (2002). *Alpha-glucosidase inhibitor*. Southern Medical Journal
- Soumyanath, A., & Sriyanta, S. (2006). *Traditional Medicines for Modern Times: Antidiabetic Plants*. London: Taylor & Francis Group.
- Sugiwati, S., Setiasih, S. & Afifah, E. (2009). *Antihyperglycemic Activity of the Mahkota Dewa (Phaleria macrocarpa (Scheff.)Boerl.) Leaf Extracts As An Alpha-Glucosidase Inhibitor*. Makara Kesehatan, 13(2), 74-78
- Suharmiati. (2003). *Pengujian bioaktivitas anti diabetes mellitus tumbuhan obat*. Tinjauan Kepustakaan, 140,13.
- Tiengburanatham, N., et al. (2010). *A novel  $\alpha$ -glucosidase inhibitor protein from the rhizomes of Zingiber ottensii Valetton*. Applied Biochemistry and Biotechnology, 162(7), 1938-1951.
- Tjay, T. H., dan Rahadja. K. (2002). *Obat-obat penting: Khasiat, penggunaan, dan efek-efek sampingnya*. Jakarta : PT. Elex Media Computindo.
- Trease, G.E dan Evans, W.C. (1978). *Pharmacognosy 11<sup>th</sup> edition*. London: Bailliere Tindall. hal. 584-585.
- Widyatmoko, D. dan Zinch, F. (1998). *The Flora of Bukit 30 National Park, Kerumutan Sanctuary dan Mahato Protective Reserve Riau Indonesia*. Indonesian Botanic Garden dan Yayasan Sosial Chevron & Texaco Indonesia.
- Wild S., et. al. (2004). *Global prevalence of diabetes : Estimates for the year 2000 and projections for 2030*. Diabetes Care 27,1047–1053.
- Williams, L dan Wilkins. (2004). *Diabetes Mellitus : A Fundamental and Clinical Text. 3<sup>rd</sup> Edition*. Philadelphia : USA.
- World Health Organization. (2005). *World Diabetes Day : Too many people are losing lower limbs unnecessarily to diabetes*. Media Centre.

<http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2005/pr61/en/> (10 Jan. 2011, pukul 12.00 WIB).

World Health Organization. (2011). *Health Topic: Traditional Medicine*. [http://www.who.int/topics/traditional\\_medicine/en/](http://www.who.int/topics/traditional_medicine/en/) (10 Jan. 2011, pukul 11.00 WIB).

Yamada, T., Hida H., Yamada, Y. (2007). *Chemistry, physiological properties, and microbial production of hydroxycitric acid*. *Application of Microbial Biotechnology*, 75:977-982.

Zhu, J., Guggisberg, Kalt-Hadamowsky, M., & Hesse, M. (1990). *Chemotaxonomic study at the genus *Tabernaemontana* (Apocynaceae) based on their indole alkaloid content*. *Plant Systematics & Evolution*, 172, 13-34.







Gambar 4.3 *Rauvolfia sumatrana*  
Jack



Gambar 4.4 *Strophanthus caudatus*  
(Blume.f.) Kurz



Gambar 4.5 *Strophanthus gratus* Bail.



Gambar 4.6 *Tabernaemontana*  
*sphaerocarpa* Blume



Gambar 4.7 *Willughbeia tenuiflora* Dyer  
ex Hook.f



Gambar 4.8 *Calophyllum tomentosum*  
Wight.





Gambar 4.9 *Garcinia bancana* Miq.



Gambar 4.10 *Garcinia daedalanthera* Pierre.



Gambar 4.11 *Garcinia hombroniana* Pierre.

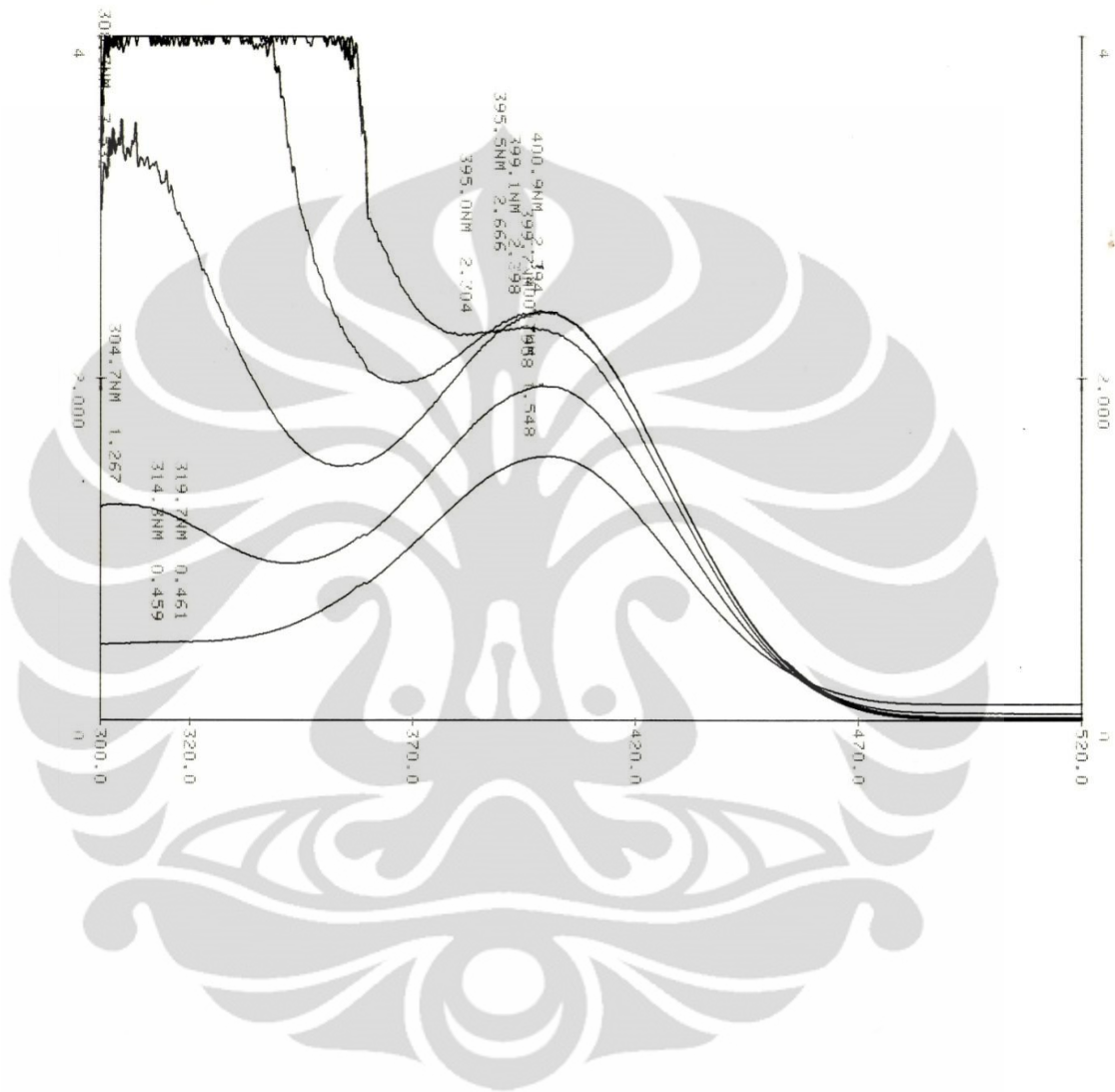


Gambar 4.12 *Garcinia kydia* Rox

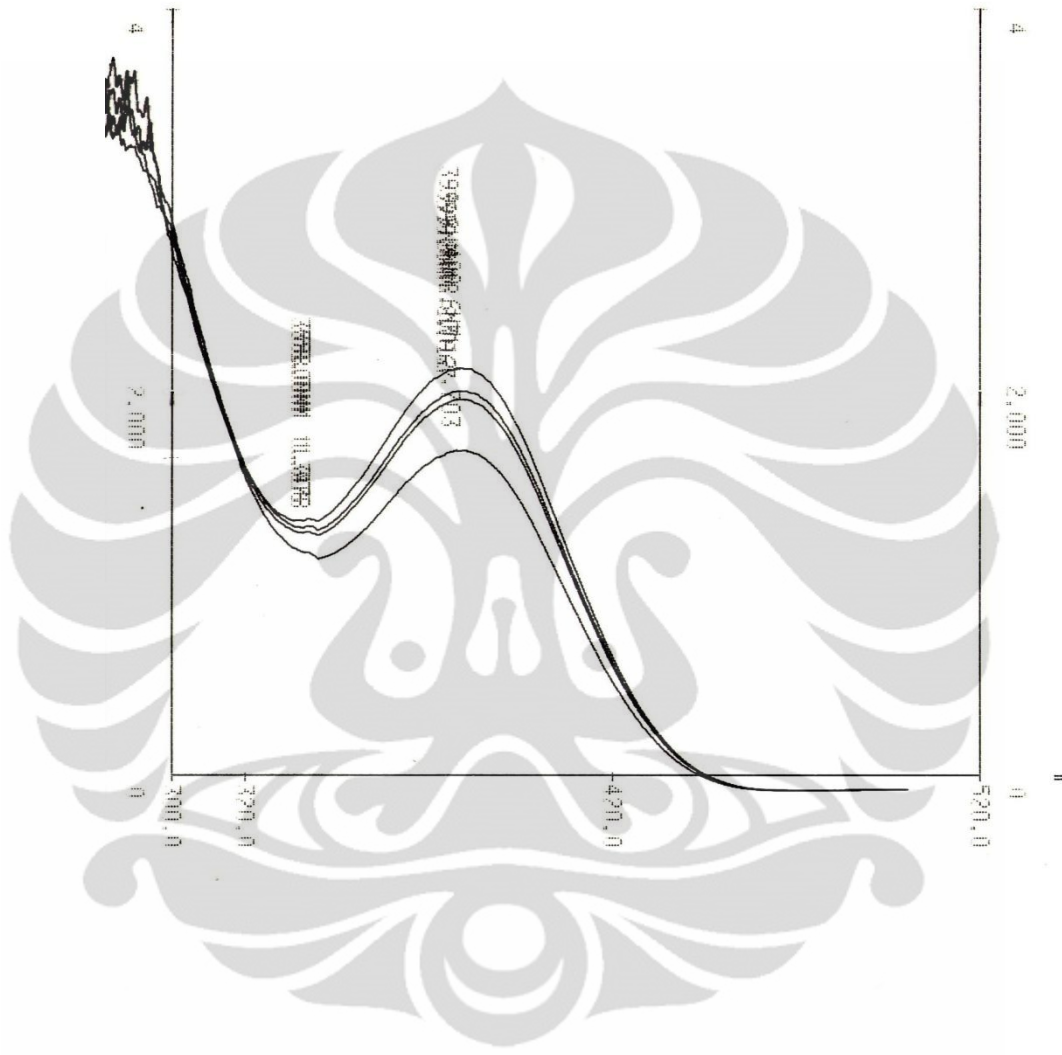


Gambar 4.13 *Garcinia rigida* Miq.

**Gambar 4.13** Optimasi substrat pada konsentrasi 20; 10; 5; 2,5; dan 1,25 mM dengan konsentrasi enzim 0,15 unit/ ml

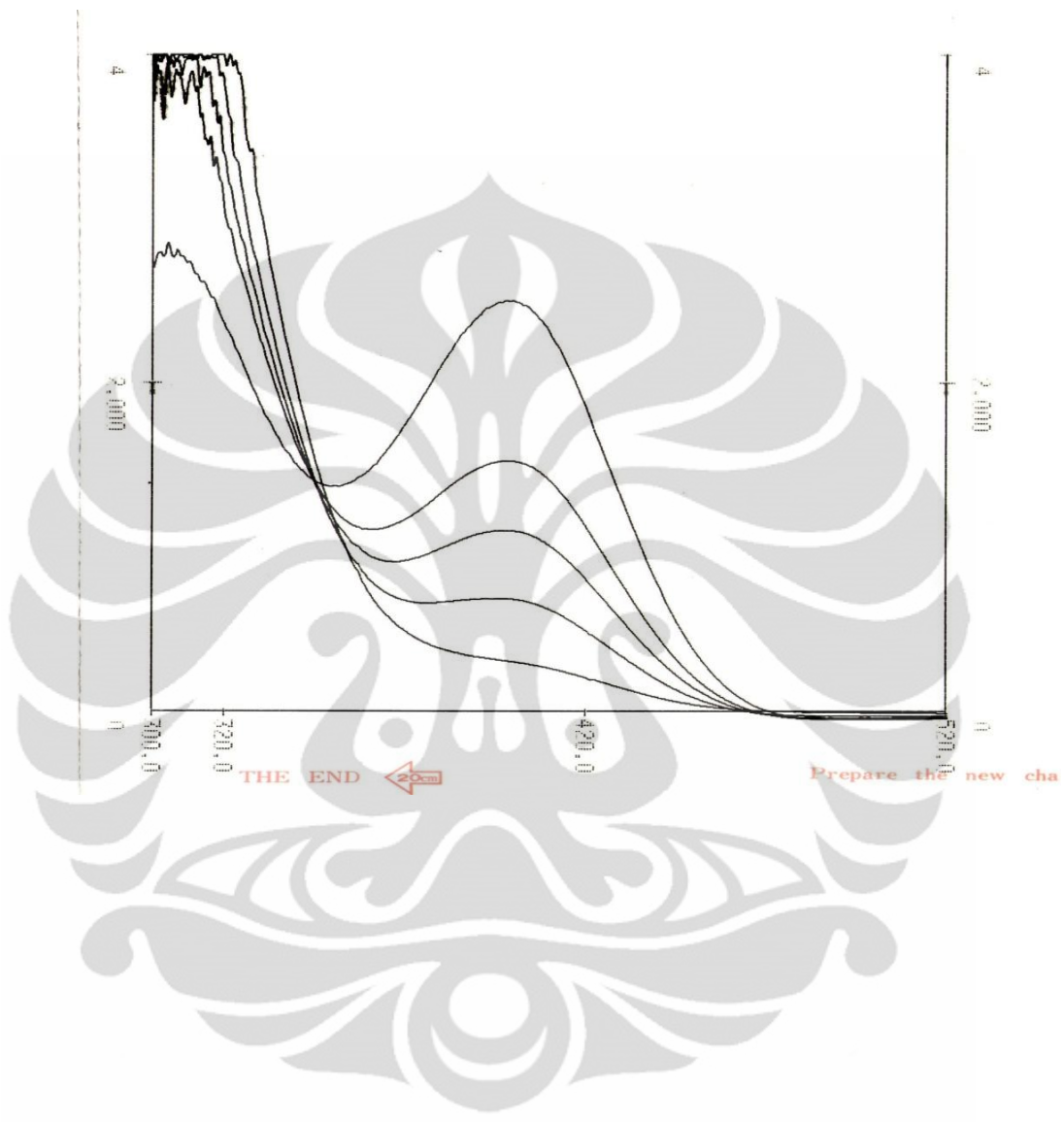


**Gambar 4.14 Uji aktivitas penghambatan standar akarbose pada konsentrasi 1%; 0,5%; 0,25% dan 0,125% terhadap enzim  $\alpha$ -Glukosidase dengan konsentrasi 0,15 unit/mL**





Gambar 4.15 Uji aktivitas penghambatan *Garcinia kydia* terhadap enzim  $\alpha$ -glukosidase dengan konsentrasi 0,15 unit/ml





**Tabel 4.2 Tabel susut pengeringan**

Nama Tanaman	Bagian yang digunakan	Bobot sebelum dikeringkan (g)	Bobot setelah dikeringkan (g)	Susut pengeringan (%)
<i>Rauvolfia sumatrana</i> Jack	daun	437	73	83,30
<i>Strophanthus caudatus</i> (Blume.f.)Kurz	daun	201	49	75,62
<i>Strophanthus caudatus</i> (Blume.f.)Kurz	kulit batang	44	25	43,18
<i>Strophanthus gratus</i> Baill.	daun	25	10	60,0
<i>Strophanthus gratus</i> Baill.	kulit batang	33	25	24,24
<i>Tabernaemontana sphaerocarpa</i> Blume	daun	502	65	87,05
<i>Willughbeia tenuiflora</i> Dyer ex Hook.f	daun	282	84	70,21
<i>Willughbeia tenuiflora</i> Dyer ex Hook.f	kulit batang	75	49	34,67
<i>Calophyllum tomentosum</i> Wight.	daun	103	51	50,49
<i>Garcinia bancana</i> Miq.	daun	122	45	63,11
<i>Garcinia daedalanthera</i> Pierre.	daun	113	28	75,22
<i>Garcinia daedalanthera</i> Pierre.	kulit batang	110	47	57,27
<i>Garcinia hombroniana</i> Pierre.	daun	88	36	59,09
<i>Garcinia kydia</i> Roxb.	daun	113	50	55,75
<i>Garcinia rigida</i> Miq.	daun	37	32	13,51

**Tabel 4.3 Rendemen ekstrak**

Nama Tanaman	Bagian yang digunakan	Bobot simplisia (g)	Bobot ekstrak (g)	Rendemen ekstrak (%)
<i>Rauvolfia sumatrana</i> Jack	daun	20,0359	2,1488	10,72
<i>Strophanthus caudatus</i> (Blume.f.)Kurz	daun	20,1172	4,3085	21,42
<i>Strophanthus caudatus</i> (Blume.f.)Kurz	kulit batang	20,8504	2,6545	12,73
<i>Strophanthus gratus</i> Baill.	daun	20,0145	3,7449	18,71
<i>Strophanthus gratus</i> Baill.	kulit batang	21,1154	2,0120	9,53
<i>Tabernaemontana sphaerocarpa</i> Blume	daun	20,0245	3,3359	16,66
<i>Willughbeia tenuiflora</i> Dyer ex Hook.f	daun	20,0738	5,5614	27,70
<i>Willughbeia tenuiflora</i> Dyer ex Hook.f	kulit batang	20,1561	1,9393	9,62
<i>Calophyllum tomentosum</i> Wight.	daun	20,0192	3,6429	18,20
<i>Garcinia bancana</i> Miq.	daun	20,0105	5,9846	29,91
<i>Garcinia daedalanthera</i> Pierre.	daun	20,0738	4,2855	21,35
<i>Garcinia daedalanthera</i> Pierre.	kulit batang	20,0031	2,0303	10,15
<i>Garcinia hombroniana</i> Pierre.	daun	20,1248	5,4361	27,01
<i>Garcinia kydia</i> Roxb.	daun	19,9989	5,6996	28,50
<i>Garcinia rigida</i> Miq.	daun	20,0103	7,3753	36,86

Tabel 4.4 Identifikasi kandungan kimia pada famili Apocynaceae

Kandungan Kimia	Pereaksi Kimia	Daun <i>R.sumatrana</i>	Daun <i>S.caudatus</i>	Kulit Batang <i>S.caudatus</i>	Daun <i>S.gratus</i>	Kulit Batang <i>S.gratus</i>	Daun <i>T.sphaerocarpa</i>	Daun <i>W.tenuiflora</i>	Kulit Batang <i>W.tenuiflora</i>
Alkaloid	Mayer LP	+	-	+	-	+	+	-	+
	Bouchardart LP	+	-	+	-	+	+	-	+
	Dragendorf LP	+	-	+	-	-	+	-	+
Terpen	Asam asetat anhidrat-asam sulfat pekat	+	+	+	+	+	+	+	+
Saponin	Air Panas	+	+	+	+	+	+	+	+
Tanin	FeCl <sub>3</sub> 1%	-	-	+	-	-	-	+	+
	gelatin 10%	-	-	+	-	-	-	+	+
	Natrium klorida-gelatin	-	-	+	-	-	-	+	+
Glikosida	Asam asetat anhidrat-asam sulfat pekat	+	+	+	-	-	-	-	+
	Molisch	+	+	+	+	+	+	+	+

**Tabel 4.4 Lanjutan**

Flavonoid	Seng + asam klorida 2N + asam klorida pekat	-	-	-	-	-	-	-	-
	Magnesium + asam klorida pekat	-	-	-	-	-	-	-	-
	Aseton	-	-	-	-	-	+	-	-
Antrakuinon	Wash benzen + Natrium hid-oksida 2N	-	+	-	-	-	-	-	-

Keterangan :

+ : terdeteksi

- : tidak terdeteksi

Tabel 4.5 Hasil identifikasi kandungan kimia famili Apocynaceae

Kandungan Kimia	Pereaksi Kimia	Daun <i>R.sumatrana</i>	Daun <i>S.caudatus</i>	Kulit Batang <i>S.caudatus</i>	Daun <i>S.gratus</i>	Kulit Batang <i>S.gratus</i>	Daun <i>T.sphaerocarpa</i>	Daun <i>W.tenuiflora</i>	Kulit Batang <i>W.tenuiflora</i>
Alkaloid	Mayer LP	↓ kuning	tidak ada endapan	↓ putih	tidak ada endapan	↓ kuning	↓ kuning	tidak ada endapan	↓ putih
	Bouchardart LP	↓ merah bata coklat	tidak ada endapan	↓ coklat	tidak ada endapan	↓ merah bata coklat	↓ merah bata coklat	tidak ada endapan	↓ merah bata
	Dragendorff LP	↓ jingga cokelat	tidak ada endapan	↓ coklat	tidak ada endapan	tidak ada endapan	↓ coklat	tidak ada endapan	↓ coklat hitam
Terpen	Asam asetat anhidrat-asam sulfat pekat	w. hijau pekat	w. hijau muda	w. coklat-hijau	w. hijau lumut	w. hijau lumut	w. hijau tua	w. hijau muda	w. hijau lumut-coklat
Saponin	Air Panas	t.b.0,1-0,3 cm	t.b.0,8-1cm	t.b 0,1-0,8 cm	t.b.3,7-4,5 cm	t.b.1,5-3 cm	t.b.0,7-1 cm	t.b.0,8-2 cm	t.b.4,5-5,5 cm
Tanin	FeCl <sub>3</sub> 1%	w.kuning	w.hijau lemah	w.hijau hitam	w.hijau lemah	w.hijau lemah	w.hijau lemah	w.hijau-hitam	w.hijau hitam
	gelatin 10%	tidak ada endapan	tidak ada endapan	↓ dan gumpalan	tidak ada endapan	tidak ada endapan	tidak ada endapan	gumpalan putih	↓ merah dan gumpalan putih
	Natrium klorida-gelatin	Tidak ada endapan	Tidak ada endapan	↓ dan gumpalan	Tidak ada endapan	Tidak ada endapan	Tidak ada endapan	↓ dan gumpalan	↓ dan gumpalan

Tabel 4.5 Lanjutan

Glikosida	Asam asetat anhidrat-asam sulfat pekat	w.hitam-hijau	w.coklat- hijau	w.coklat merah	w.coklat tua	w.coklat tua	w.coklat tua	w.coklat tua	hjaiu-coklat
	Molisch	cincin ungu	cincin ungu	cincin ungu tua	cincing ungu	cincin ungu	cincin tipis ungu	cincing ungu	cincin ungu
Flavonoid	Seng + asam klorida 2N + asam klorida pekat	w.kuning kecoklatan	tidak berwarna	tidak berwarna	tidak berwarna	tidak berwarna	tidak berwarna	w.kuning kecoklatan	tidak berwarna
	Magnesium + asam klorida pekat	w.hijau	w.hijau muda	w.kuning	w.hijau	tidak berwarna	w.coklat	w.kuning	w.kuning
	Aseton	f.jingga	f.jinga terang	f.jingga	f.jingga- merah	f.jingga	f.kuning terang	f.oranye	f.jingga
Antrakuinon	Wash benzen + Natrium hid- roksida 2N	w.hijau	w.jingga	tidak berwarna	tidak berwarna	tidak berwarna	tidak berwarna	tidak berwarna	tidak berwarna

Keterangan :

↓ : endapan

w : warna

t.b. : tinggi buih

f : fluoresensi



Tabel 4.6 Identifikasi kandungan kimia pada famili Clusiaceae

Kandungan Kimia	Pereaksi Kimia	Daun <i>C.tomentosum</i>	Daun <i>G.bancana</i>	Daun <i>G.daedalanthera</i>	Kulit Batang <i>G.daedalanthera</i>	Daun <i>G.hombroniana</i>	Daun <i>G.kydia</i>	Daun <i>G.rigida</i>
Alkaloid	Mayer LP	-	-	-	-	-	-	-
	Bouchardart LP	+	+	-	-	+	-	+
	Dragendorf LP	+	+	-	-	+	-	+
Terpen	Asam asetat anhidrat-asam sulfat pekat	+	+	+	+	+	+	+
Saponin	Air Panas	+	+	+	+	+	+	+
Tanin	FeCl <sub>3</sub> 1%	+	+	+	+	+	+	+
	gelatin 10%	+	+	+	+	+	+	+
	Natrium klorida-gelatin	+	+	+	+	+	+	+
Glikosida	Asam asetat anhidrat-asam sulfat pekat	-	-	+	-	+	-	-
	Molisch	+	+	+	+	+	+	+

**Tabel 4.6 Lanjutan**

Flavonoid	Seng + asam klorida 2N + asam klorida pekat	+	-	+	-	-	+	+
	Magnesium + asam klorida pekat	-	-	+	+	-	+	-
	Aseton	+	-	+	-	-	+	+
Antrakuinon	Wash benzen + Natrium hid- roksida 2N	-	-	+	+	+	+	+

Keterangan :

+ : terdeteksi

- : tidak terdeteksi

Tabel 4.7 Hasil identifikasi kandungan kimia famili Clusiaceae

Kandungan Kimia	Pereaksi Kimia	Daun <i>C.tomentosum</i>	Daun <i>G.bancana</i>	Daun <i>G.daedalanthera</i>	Kulit Batang <i>G.daedalanthera</i>	Daun <i>G.hombroniana</i>	Daun <i>G.kydia</i>	Daun <i>G.rigida</i>
Alkaloid	Mayer LP	tidak ada endapan	tidak ada endapan	tidak ada endapan	tidak ada endapan	tidak ada endapan	tidak ada endapan	tidak ada endapan
	Bouchardart LP	↓ merah coklat	↓ coklat-merah	tidak ada endapan	tidak ada endapan	↓ coklat muda hijau	tidak ada endapan	↓ coklat hijau
	Dragendorf LP	↓ kuning coklat	↓ coklat merah	tidak ada endapan	tidak ada endapan	↓ coklat tua	tidak ada endapan	↓ hitam
Terpen	Asam asetat anhidrat-asam sulfat pekat	hijau	hijau-oranye	hijau	hijau	hijau	kuning-hijau	hijau
Saponin	Air Panas	t.b. 1,8-2 cm	t.b. 1,3-1,4 cm	t.b. 1,3-1,8 cm	t.b. 3-3,3 cm	t.b. 2-2,5 cm	t.b.0,8-1 cm	t.b.1,5-2 cm
Tanin	FeCl <sub>3</sub> 1%	w.hijau tua	w.hijau-coklat	w.hitam	w.hitam-hijau	w.hijau tua	w.hitam-coklat	w.hijau tua
	gelatin 10%	↓ coklat & gumpalan	↓ coklat & gumpalan	↓ coklat & gumpalan	↓ dan gumpalan	↓ dan gumpalan	↓ dan gumpalan	↓ dan gumpalan
	Natrium klorida-gelatin	↓ coklat & gumpalan	↓ coklat & gumpalan	↓ putih & gumpalan	↓ dan gumpalan	↓ dan gumpalan	↓ dan gumpalan	↓ dan gumpalan

Tabel 4.7 Lanjutan

Glikosida	Asam asetat anhidrat-asam sulfat pekat	w.coklat tua	w.coklat tua	w.hijau muda	w.coklat muda	w.merah-coklat	w.hitam- coklat	w.coklat
	Molisch	cincin ungu	cincin ungu pekat	cincin ungu	cincin ungu muda	cincin ungu	cincin ungu pekat	cincin ungu
Flavonoid	Seng + asam klorida 2N + asam klorida pekat	w.oranye	w.kuning lemah	w.oranye-kuning	w.kuning	w.kuning	w.oranye	w.oranye- merah
	Magnesium + asam klorida pekat	w.kuning-hijau	w.kuning lemah	w.merah-ungu	w.jingga-coklat	w.hijau muda	w.merah	w.hijau muda
	Aseton	f.kuning	f.hijau	f.kuning hijau	f.hijau muda	f.jingga	f.kuning hijau	f.hijau muda
Antrakuinon	Wash benzen + Natrium hid- roksida 2N	tidak berwarna	w.oranye- kuning	w.kuning-oranye	w.kuning-oranye	w.oranye-jingga	tidak berwarna	w.kuning- kemerahan

Keterangan :

↓ : endapan

w : warna

t.b. : tinggi buih

f : fluoresensi

**Tabel 4.8 Optimasi konsentrasi enzim  $\alpha$ -Glukosidase dengan substrat 10 mM dan 20 mM**

Enzim (unit/ ml)	Substrat 10 mM		Substrat 20 mM	
	Kontrol Blangko (A)	Blangko (A)	Kontrol Blangko (A)	Blangko (A)
0,3	0,064	-	0,067	-
0,15	0,056	2,092	0,051	1,945
0,075	0,062	1,066	0,058	1,038
0,0375	0,059	0,370	0,051	0,505

**Tabel 4.9 Optimasi substrat p-Nitrofenil- $\alpha$ -D-Glukopiranosida (pNP) dengan enzim 0,15 unit/ ml**

Konsentrasi Substrat (mM)	Kontrol Blangko (A)	Blangko (A)
0,3	0,002	0,424
	0,002	0,351
0,6	0,003	0,665
	0,003	0,780
1,25	0,004	1,426
	0,004	1,424
2,5	0,007	1,968
	0,005	1,702
5	0,021	2,669
	0,021	2,733
10	0,043	2,525
	0,043	2,420
20	0,069	2,797
	0,072	2,658

**Tabel 4.10 Uji Aktivitas Penghambatan Standar Akarbose**

Serapan kontrol blangko	Rata-rata serapan kontrol blangko (a)	Serapan Blangko	Rata-rata serapan Blangko (b)	(b-a)	Konsentrasi Sampel (ppm)	Serapan Kontrol Sampel	Rata-rata Serapan Kontrol Sampel (c)	Serapan Sampel	Rata-rata Serapan Sampel (d)	(d-c)	Penghambatan (%)	IC <sub>50</sub> (µg/ml)
0,014	0,014	2,551	2,544	2,530	4,1667	0,016	0,018	2,444	2,443	2,425	4,1502	116,9458
0,014		2,537				0,019		2,441				
					8,3333	0,019	0,018	2,398	2,400	2,382	5,8498	
						0,017		2,401				
					16,6667	0,021	0,020	2,264	2,266	2,246	11,2253	
						0,018		2,267				
					33,3333	0,018	0,020	2,153	2,151	2,131	15,7708	
						0,021		2,149				

Keterangan :

a = 2,9644

b = 0,4022

**Tabel 4.11 Uji Aktivitas Penghambatan Ekstrak *Rauvolfia sumatrana* Folium**

Serapan kontrol blangko	Rata-rata serapan kontrol blangko (a)	Serapan Blangko	Rata-rata serapan Blangko (b)	(b-a)	Konsentrasi Sampel (ppm)	Serapan Kontrol Sampel	Rata-rata Serapan Kontrol Sampel (c)	Serapan Sampel	Rata-rata Serapan Sampel (d)	(d-c)	Penghambatan (%)	IC <sub>50</sub> (µg/ml)
0,015	0,016	2,716	2,704	2,688	4,1708	0,023	0,023	2,776	2,781	2,758	- *	174,2710
0,017		2,692				2,786						
						0,020	0,022	2,639	2,662	2,640	8,3417	
						0,024		2,685				
					16,6833	0,028	0,025	2,558	2,610	2,585	3,8318	
						0,020		2,661				
					33,3667	0,020	0,023	2,515	2,469	2,446	9,0030	
						0,026		2,422				

Keterangan :

\*= data tidak digunakan

a = -0,8000

b = 0,2915



**Tabel 4.12 Uji Aktivitas Penghambatan Ekstrak *Strophantus caudatus* Folium**

Serapan kontrol blangko	Rata-rata serapan kontrol blangko (a)	Serapan Blangko	Rata-rata serapan Blangko (b)	(b-a)	Konsentrasi Sampel (ppm)	Serapan Kontrol Sampel	Rata-rata Serapan Kontrol Sampel (c)	Serapan Sampel	Rata-rata Serapan Sampel (d)	(d-c)	Penghambatan (%)	IC <sub>50</sub> (µg/ml)
0,015	0,015	2,860	2,796	2,781	4,175	0,019	0,020	2,775	2,750	2,730	1,8339	706,8059
0,015		2,732				0,020		2,724				
					8,3417	0,020	0,020	2,628	2,612	2,592	6,7962 *	
						0,020		2,596				
					16,700	0,027	0,027	2,794	2,757	2,730	1,8339	
						0,026		2,773				
					33,400	0,042	0,039	2,741	2,715	2,676	3,7756	
						0,035		2,765				

Keterangan :

\*= data tidak digunakan

a = 1,2304

b = 0,069

**Tabel 4.13 Uji Aktivitas Penghambatan Ekstrak *Strophantus caudatus* Cortex**

Serapan kontrol blangko	Rata-rata serapan kontrol blangko (a)	Serapan blangko	Rata-rata serapan Blangko (b)	(b-a)	Konsentrasi Sampel (ppm)	Serapan Kontrol Sampel	Rata-rata Serapan Kontrol Sampel (c)	Serapan Sampel	Rata-rata Serapan Sampel (d)	(d-c)	Penghambatan (%)	IC <sub>50</sub> (µg/ml)
0,025	0,030	2,618	2,592	2,562	4,1708	0,018	0,018	2,105	2,163	2,145	16,2763	13,9345
0,035		2,565				0,018		2,221				
						0,026	0,025	1,759	1,664	1,639	35,0507	
						0,023		1,569				
						0,041	0,040	0,714	0,720	0,680	73,4582	
						0,039		0,725				
						0,066	0,069	0,246	0,258	0,189	92,6230	
						0,072		0,269				

Keterangan :  
a = 14,4503  
b = 2,5512

Tabel 4.14 Uji Aktivitas Penghambatan Ekstrak *Strophantus gratus* Folium

Serapan kontrol blangko	Rata-rata serapan kontrol blangko (a)	Serapan blangko	Rata-rata serapan Blangko (b)	(b-a)	Konsentrasi Sampel (ppm)	Serapan Kontrol Sampel	Rata-rata Serapan Kontrol Sampel (c)	Serapan Sampel	Rata-rata Serapan Sampel (d)	(d-c)	Penghambatan (%)	IC <sub>50</sub> (µg/ml)
0,027	0,020	2,657	2,589	2,569	4,2667	0,019	0,018	2,687	2,628	2,610	-	*
0,013		2,520				0,018		2,569				
					8,5330	0,025	0,024	2,601	2,331	2,307	10,1985	50,6085
					0,023	2,060						
					16,6777	0,039	0,038	2,288	2,011	1,973	23,1997	
					0,036	2,039						
					33,3333	0,058	0,058	1,824	1,767	1,709	33,4761	
					0,057	2,066						

Keterangan :

\* = data tidak digunakan

a = 14,4503

b = 2,5512

**Tabel 4.15 Uji Aktivitas Penghambatan Ekstrak *Strophantus gratus* Cortex**

Serapan kontrol blangko	Rata-rata serapan kontrol blangko (a)	Serapan blangko	Rata-rata serapan Blangko (b)	(b-a)	Konsentrasi Sampel (ppm)	Serapan Kontrol Sampel	Rata-rata Serapan Kontrol Sampel (c)	Serapan Sampel	Rata-rata Serapan Sampel (d)	(d-c)	Penghambatan (%)	IC <sub>50</sub> (µg/ml)
0,013	0,014	2,641	2,610	2,596	4,1625	0,037	0,037	2,448	2,456	2,419	6,8182	202,1742
0,014		2,578				0,037		2,464				
					8,3250	0,033	0,035	2,420	2,444	2,409	7,2034	
						0,036		2,467				
					16,6500	0,038	0,042	2,343	2,347	2,305	11,2096	
						0,045		2,350				
					33,3000	0,055	0,053	2,357	2,316	2,263	12,8274	
						0,051		2,266				

Keterangan :  
a = 6,1282  
b = 0,2170

**Tabel 4.16 Uji Aktivitas Penghambatan Ekstrak *Tabernaemontana sphaerocarpa* Folium**

Serapan kontrol blangko	Rata-rata serapan kontrol blangko (a)	Serapan blangko	Rata-rata serapan Blangko (b)	(b-a)	Konsentrasi Sampel (ppm)	Serapan Kontrol Sampel	Rata-rata Serapan Kontrol Sampel (c)	Serapan Sampel	Rata-rata Serapan Sampel (d)	(d-c)	Penghambatan (%)	IC <sub>50</sub> (µg/ml)
0,011	0,030	2,862	2,861	2,831	4,1777	0,018	0,018	2,380	2,451	2,433	14,0586 *	554,3156
0,049		2,860				0,017		2,521				
					8,3333	0,016	0,018	2,657	2,604	2,586	8,6542	
						0,020		2,550				
					16,6777	0,017	0,019	2,658	2,563	2,544	10,1378	
						0,021		2,467				
					33,3333	0,027	0,027	2,622	2,555	2,528	10,7029	
						0,027		2,487				

Keterangan :

\*= data tidak digunakan

a = 8,3709

b = 0,0751

**Tabel 4.17 Uji Aktivitas Penghambatan Ekstrak *Willughbeia tenuiflora* Folium**

Serapan kontrol blangko	Rata-rata serapan kontrol blangko (a)	Serapan blangko	Rata-rata serapan Blangko (b)	(b-a)	Konsentrasi Sampel (ppm)	Serapan Kontrol Sampel	Rata-rata Serapan Kontrol Sampel (c)	Serapan Sampel	Rata-rata Serapan Sampel (d)	(d-c)	Penghambatan (%)	IC <sub>50</sub> (µg/ml)
0,013	0,012	2,537	2,608	2,596	4,1777	0,007	0,008	1,879	1,874	1,866	28,1202	8,1610
0,011		2,678				0,008		1,869				
						0,013	0,014	1,282	1,289	1,275	50,8860	
						0,015		1,296				
						0,035	0,043	0,301	0,254	0,211	91,1872	
						0,051		0,207				
						0,108	0,109	0,110	0,117	0,008	99,6918	
						0,109		0,124				

Keterangan :

a = 30,9114

b = 2,3390

**Tabel 4.18 Uji Aktivitas Penghambatan Ekstrak *Willughbeia tenuiflora* Cortex**

Serapan kontrol blangko	Rata-rata serapan kontrol blangko (a)	Serapan blangko	Rata-rata serapan Blangko (b)	(b-a)	Konsentrasi Sampel (ppm)	Serapan Kontrol Sampel	Rata-rata Serapan Kontrol Sampel (c)	Serapan Sampel	Rata-rata Serapan Sampel (d)	(d-c)	Pengham-batan (%)	IC <sub>50</sub> (µg/ml)
0,011	0,013	2,724	2,717	2,704	4,1708	0,024	0,024	1,825	1,833	1,809	33,0991	42,1131
0,014		2,709				0,023		1,840				
					8,3417	0,026	0,026	1,742	1,747	1,721	36,3536	
						0,026		1,752				
					16,6833	0,025	0,025	1,621	1,625	1,600	40,8284	
						0,025		1,628				
					33,3667	0,038	0,037	1,511	1,505	1,468	45,7101	
						0,035		1,499				

Keterangan :  
a = 32,4978  
b = 0,4156

**Tabel 4.19 Uji Aktivitas Penghambatan Ekstrak *Calophyllum tomentosum* Folium**

Serapan kontrol blangko	Rata-rata serapan kontrol blangko (a)	Serapan blangko	Rata-rata serapan Blangko (b)	(b-a)	Konsentrasi Sampel (ppm)	Serapan Kontrol Sampel	Rata-rata Serapan Kontrol Sampel (c)	Serapan Sampel	Rata-rata Serapan Sampel (d)	(d-c)	Penghambatan (%)	IC <sub>50</sub> (µg/ml)
0,014	0,014	2,733	2,725	2,711	4,1777	0,006	0,019	2,407	2,465	2,446	9,7750	15,8309
0,013		2,716				0,031		2,522				
					8,3333	0,035	0,034	1,726	1,672	1,638	39,5795	
						0,032		1,618				
					16,6777	0,045	0,064	1,000	1,122	1,058	60,9738	
						0,082		1,243				
					33,3333	0,097	0,097	0,399	0,430	0,333	87,7167	
						0,097		0,460				

Keterangan :  
a = 11,4169  
b = 2,4372



Tabel 4.20 Uji Aktivitas Penghambatan Ekstrak *Garcinia bancana* Folium

Serapan kontrol blangko	Rata-rata serapan kontrol blangko (a)	Serapan blangko	Rata-rata serapan Blangko (b)	(b-a)	Konsentrasi Sampel (ppm)	Serapan Kontrol Sampel	Rata-rata Serapan Kontrol Sampel (c)	Serapan Sampel	Rata-rata Serapan Sampel (d)	(d-c)	Penghambatan (%)	IC <sub>50</sub> (µg/ml)
0,015	0,017	2,553	2,537	2,520	4,2208	0,020	0,021	2,221	2,255	2,234	11,3492	22,4081
0,018		2,520				0,022		2,289				
					8,4417	0,040	0,033	2,171	2,154	2,121	15,8333	
						0,025		2,137				
					16,8833	0,035	0,035	1,441	1,398	1,363	45,9127	
								0,034				
					33,7667	0,045	0,049	0,758	0,770	0,721	71,3889	
								0,052				

Keterangan :

a = 2,7347

b = 2,1093

**Tabel 4.21 Uji Aktivitas Penghambatan Ekstrak *Garcinia daedalanthera* Folium**

Serapan kontrol blangko	Rata-rata serapan kontrol blangko (a)	Serapan blangko	Rata-rata serapan Blangko (b)	(b-a)	Konsentrasi Sampel (ppm)	Serapan Kontrol Sampel	Rata-rata Serapan Kontrol Sampel (c)	Serapan Sampel	Rata-rata Serapan Sampel (d)	(d-c)	Penghambatan (%)	IC <sub>50</sub> (µg/ml)
0,014	0,015	2,847	2,730	2,715	0,5208	0,020	0,020	2,523	2,440	2,420	10,8656	2,3298
0,015		2,612				0,020		2,357				
					1,0417	0,020	0,021	2,386	2,375	2,354	13,2965	
						0,022		2,363				
					2,0833	0,018	0,021	0,755	0,830	0,809	70,2026	
						0,024		0,904				
					4,1667	0,028	0,025	0,638	0,663	0,638	76,5010	
						0,022		0,688				

Keterangan :  
a = 4,9523  
b = 19,3352

**Tabel 4.22 Uji Aktivitas Penghambatan Ekstrak *Garcinia daedalanthera* Cortex**

Serapan kontrol blangko	Rata-rata serapan kontrol blangko (a)	Serapan blangko	Rata-rata serapan Blangko (b)	(b-a)	Konsentrasi Sampel (ppm)	Serapan Kontrol Sampel	Rata-rata Serapan Kontrol Sampel (c)	Serapan Sampel	Rata-rata Serapan Sampel (d)	(d-c)	Penghambatan (%)	IC <sub>50</sub> (µg/ml)
0,011	0,014	2,501	2,541	2,527	2,0813	0,022	0,022	1,580	1,575	1,553	38,5437	3,7089
0,016		2,581				0,022		1,569				
						0,040	0,042	1,401	1,416	1,374	45,6470	
						0,043		1,430				
						0,058	0,059	0,412	0,408	0,349	86,1892	
						0,060		0,404				
						0,110	0,106	0,265	0,259	0,153	93,9454	
						0,102		0,253				

Keterangan :  
 a = 35,4372  
 b = 3,9264

**Tabel 4.23 Uji Aktivitas Penghambatan Ekstrak *Garcinia hombroniana* Folium**

Serapan kontrol blangko	Rata-rata serapan kontrol blangko (a)	Serapan blangko	Rata-rata serapan Blangko (b)	(b-a)	Konsentrasi Sampel (ppm)	Serapan Kontrol Sampel	Rata-rata Serapan Kontrol Sampel (c)	Serapan Sampel	Rata-rata Serapan Sampel (d)	(d-c)	Penghambatan (%)	IC <sub>50</sub> (µg/ml)
0,011	0,012	2,635	2,636	2,624	4,1708	0,019	0,022	2,149	2,090	2,068	21,1890	11,2956
0,013		2,637				0,024		2,030				
					8,3833	0,040	0,033	1,855	1,648	1,615	38,4527	
						0,026		1,440				
					16,7667	0,041	0,041	0,363	0,355	0,314	88,0335	
						0,040		0,346				
					33,3667	0,066	0,071	0,131	0,117	0,046	98,2470	
						0,076		0,103				

Keterangan :

a = 20,3682

b = 2,6233

Tabel 4.24 Uji Aktivitas Penghambatan Ekstrak *Garcinia kydia* Folium

Serapan kontrol blangko	Rata-rata serapan kontrol blangko (a)	Serapan blangko	Rata-rata serapan Blangko (b)	(b-a)	Konsentrasi Sampel (ppm)	Serapan Kontrol Sampel	Rata-rata Serapan Kontrol Sampel (c)	Serapan Sampel	Rata-rata Serapan Sampel (d)	(d-c)	Penghambatan (%)	IC <sub>50</sub> (µg/ml)
0,011	0,013	2,501	2,529	2,516	2,1667	0,033	0,033	1,593	1,591	1,558	38,0763	3,8827
0,015		2,557				0,033		1,589				
						0,021	0,021	1,187	1,199	1,178	53,1800	
						0,021		1,211				
						0,052	0,052	0,766	0,754	0,702	72,0986	
						0,052		0,742				
						0,025	0,026	0,460	0,481	0,455	81,9157	
						0,027		0,502				

Keterangan :  
a = 39,0101  
b = 2,8305

Tabel 4.25 Uji Aktivitas Penghambatan Ekstrak *Garcinia rigida* Folium

Serapan kontrol blangko	Rata-rata serapan kontrol blangko (a)	Serapan blangko	Rata-rata serapan Blangko (b)	(b-a)	Konsentrasi Sampel (ppm)	Serapan Kontrol Sampel	Rata-rata Serapan Kontrol Sampel (c)	Serapan Sampel	Rata-rata Serapan Sampel (d)	(d-c)	Penghambatan (%)	IC <sub>50</sub> (µg/ml)
0,009	0,011	2,720	2,721	2,710	4,1750	0,020	0,025	2,449	2,456	2,431	10,2952	24,4847
0,012		2,722				0,030		2,463				
					8,3250	0,045	0,036	2,392	2,300	2,264	16,4576	
						0,026		2,207				
					16,650	0,037	0,040	1,573	1,559	1,519	43,9483	
						0,042		1,544				
					33,300	0,078	0,085	1,014	1,081	0,996	63,2472	
						0,091		1,147				

Keterangan :

a = 4,4290

b = 1,8612

**Tabel 4.26 Uji Kinetika Penghambatan Enzim  $\alpha$ -Glukosidase**

Konsentrasi pNp (S)	Absorbansi Sampel (V)						1/CS	1/V	1/V	1/V	1/V	1/V
		Blangko	4,2458	8,4917	16,9833	33,9667		Blangko	4,2458	8,4917	16,9833	33,9667
20	V1	2,364	1,725	1,574	1,028	0,564	0,05	0,425	1,770	0,987	0,614	0,556
	V2	2,338	1,873	1,682	0,997	0,565						
	Vrata-rata	2,351	1,779	1,628	1,013	0,565						
10	V1	2,459	2,108	1,365	1,152	0,503	0,1	0,406	1,992	0,905	0,714	0,479
	V2	2,470	2,064	1,426	1,058	0,500						
	Vrata-rata	2,465	2,086	1,400	1,105	0,502						
5	V1	2,561	1,773	1,133	0,709	0,319	0,2	0,391	2,857	1,403	0,874	0,597
	V2	2,551	1,575	1,155	0,717	0,380						
	Vrata-rata	2,556	1,674	1,144	0,713	0,350						
2,5	V1	2,096	1,572	1,273	0,483	0,301	0,4	0,488	3,356	1,905	0,822	0,638
	V2	2,002	1,564	1,158	0,567	0,295						
	Vrata-rata	2,049	1,568	1,216	0,525	0,298						
1,25	V1	1,376	1,227	0,826	0,497	0,240	0,8	0,717	4,202	2,070	1,227	0,787
	V2	1,413	1,312	0,803	0,469	0,235						
	Vrata-rata	1,395	1,270	0,815	0,483	0,238						

**Tabel 4.27 Hasil Perhitungan Tetapan Michaelis-Menten**

Sampel	a	b	r	$K_M$
V1	0,355	0,421	0,953	1,186
V2	1,994	2,901	0,921	1,455
V3	0,968	1,309	0,703	1,352
V4	0,626	0,724	0,947	1,157
V5	0,501	0,355	0,948	0,709

Keterangan :

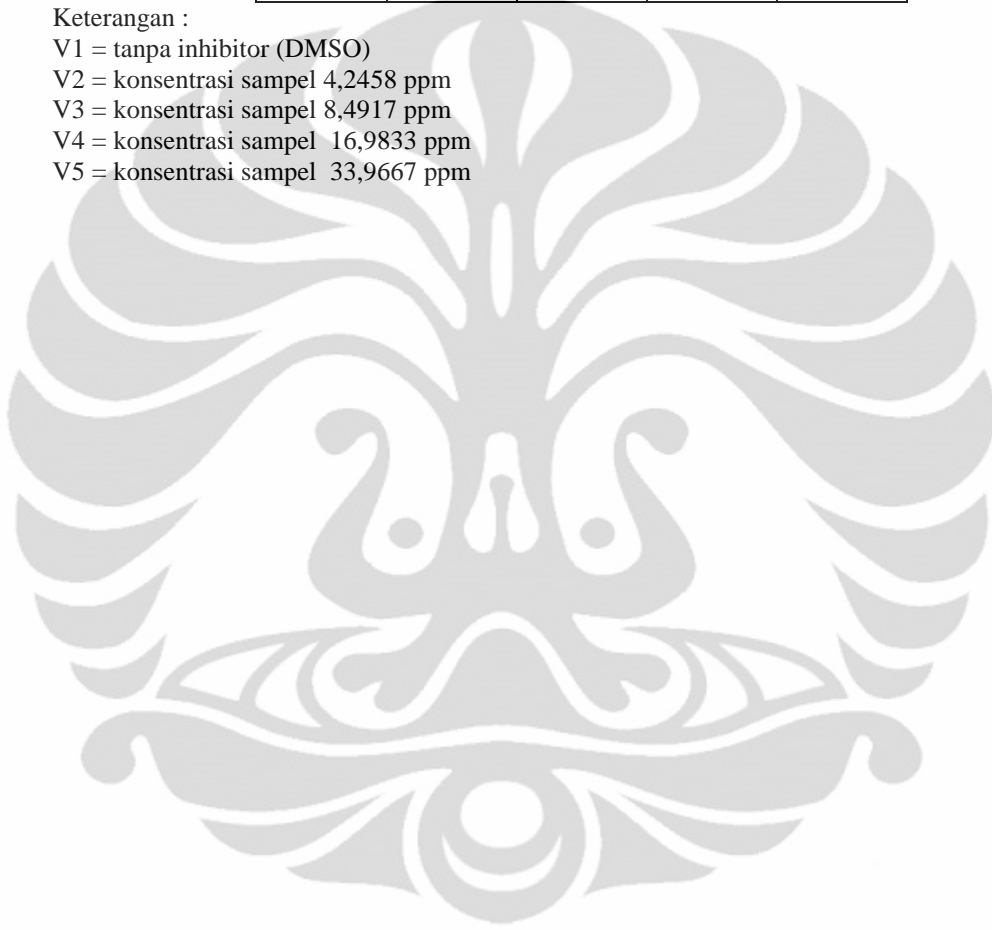
V1 = tanpa inhibitor (DMSO)

V2 = konsentrasi sampel 4,2458 ppm

V3 = konsentrasi sampel 8,4917 ppm

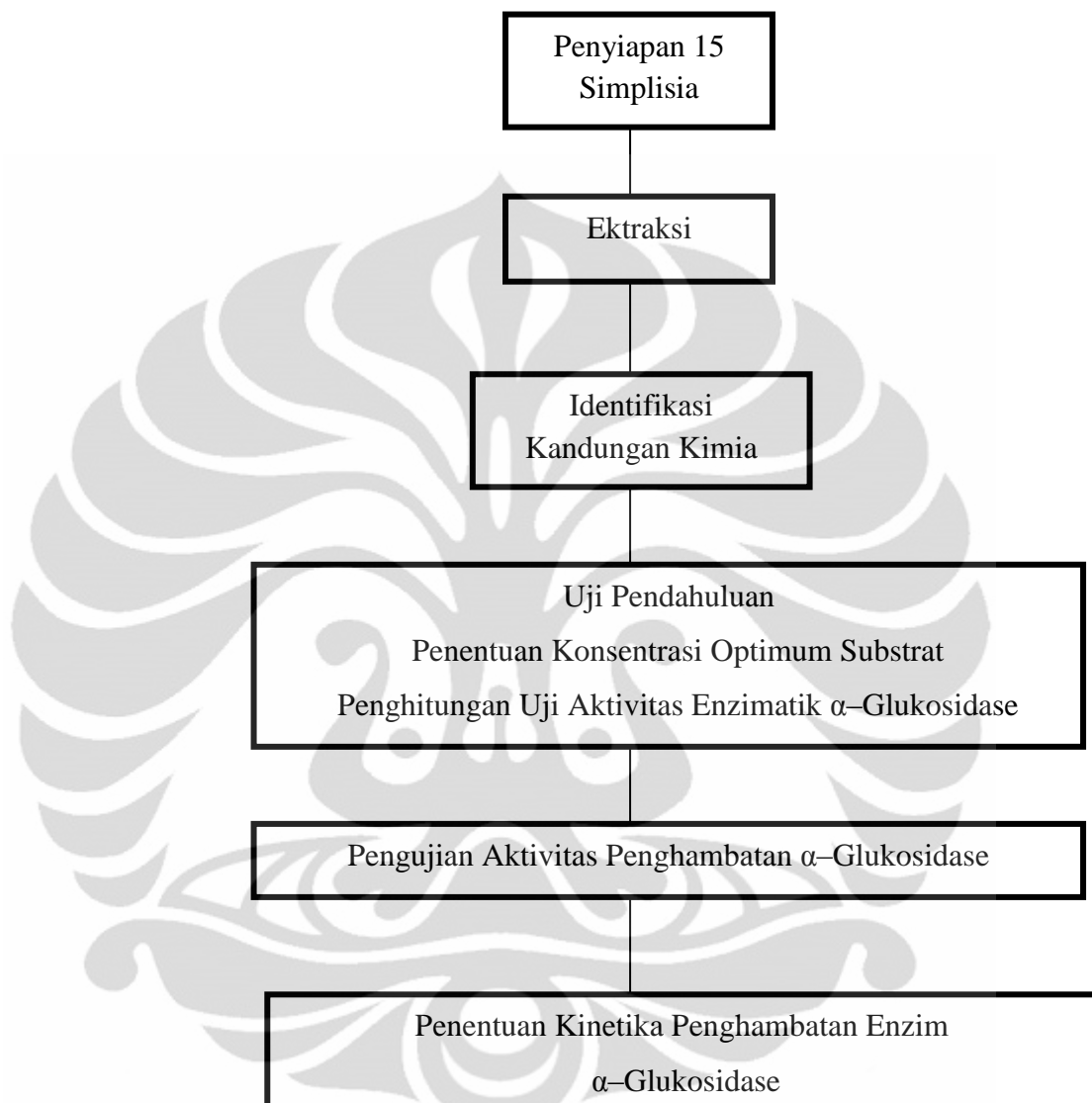
V4 = konsentrasi sampel 16,9833 ppm

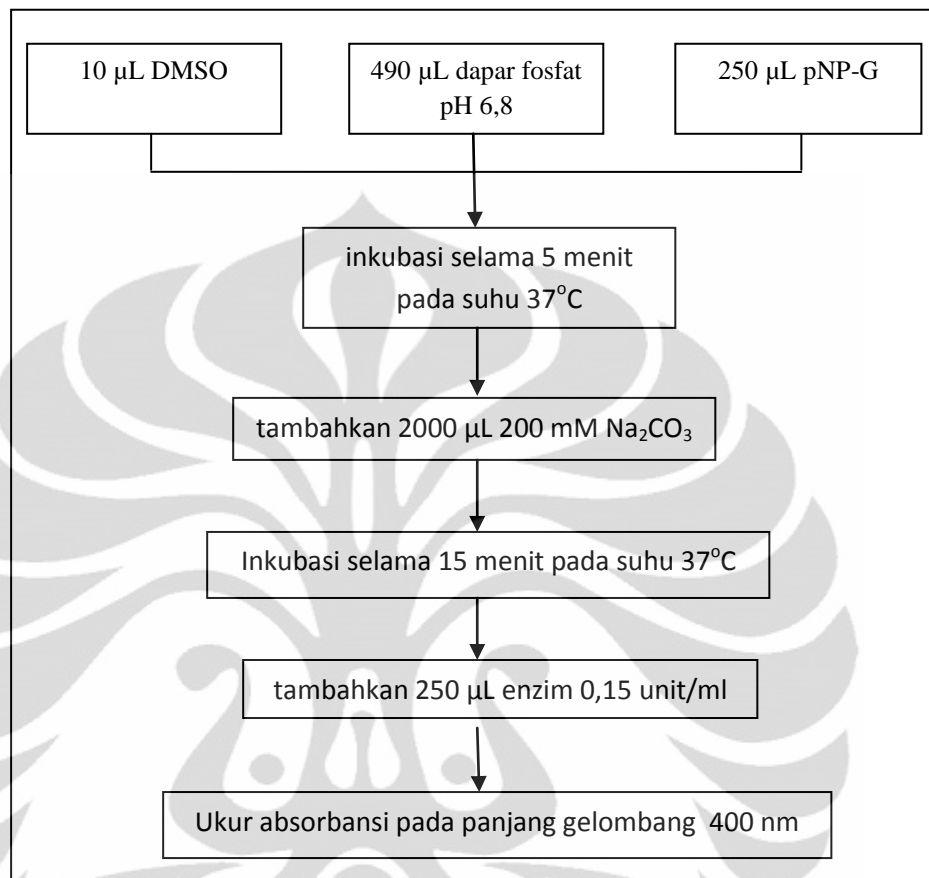
V5 = konsentrasi sampel 33,9667 ppm

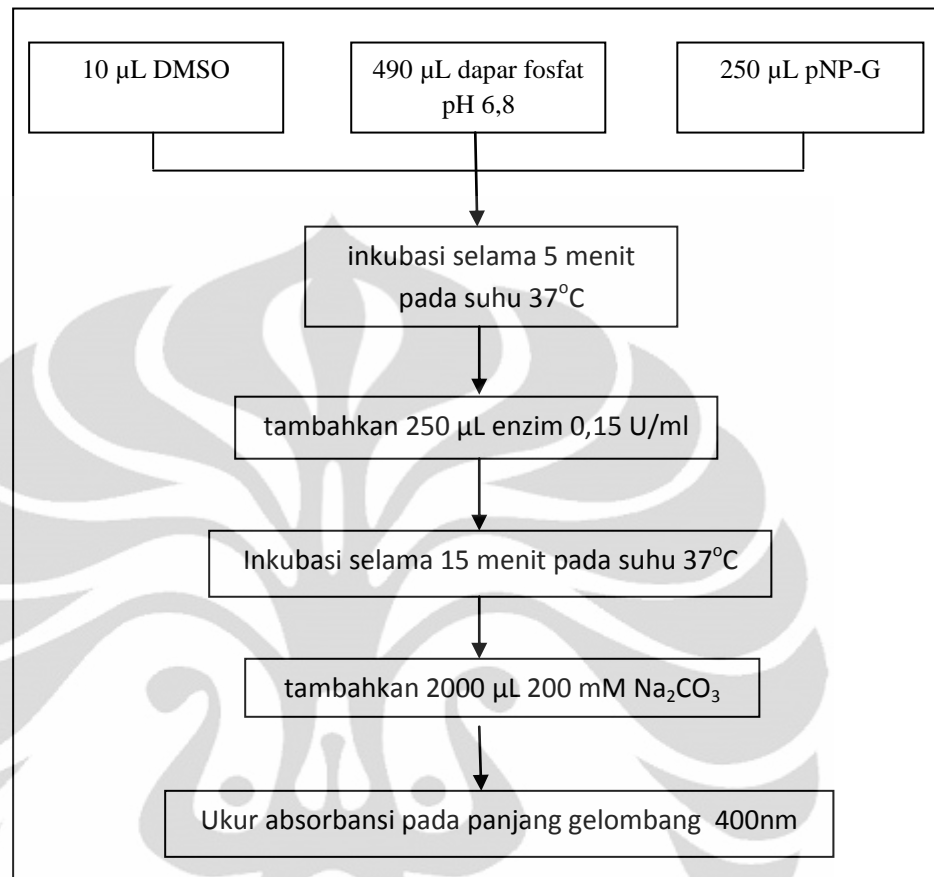




# LAMPIRAN

**Lampiran 1. Skema kerja**

**Lampiran 2.a. Skema pengujian aktivitas penghambatan  $\alpha$ -glukosidase**

**Lampiran 2.b. Skema pengukuran sampel**



### Lampiran 3.b Lanjutan surat determinasi tanaman uji

**Daftar Sampel Material Tanaman Untuk Penelitian Mahasiswa Jurusan Farmasi  
Universitas Indonesia  
Tanggal 5 November 2010**

No	Nama Tanaman	Famili	Jenis Material
1.	<i>Rauwolfia sumatrana</i> Jack	Apocynaceae	Daun, ranting
2.	<i>Strophanthus caudatus</i> (Blume.f.)Kurz	Apocynaceae	Daun, ranting
3.	<i>Strophanthus gratus</i> Baill.	Apocynaceae	Daun, ranting
4.	<i>Tabernaemontana sphaerocarpa</i> Blume	Apocynaceae	Daun, ranting
5.	<i>Willughbeia tenuiflora</i> Dyer ex Hook.f	Apocynaceae	Daun, ranting
6.	<i>Calophyllum tomentosum</i> Wight.	Clusiaceae	Daun, ranting
7.	<i>Garcinia bancana</i> Miq.	Clusiaceae	Daun, ranting
8.	<i>Garcinia daedalanthera</i> Pierre.	Clusiaceae	Daun, ranting
9.	<i>Garcinia hombroniana</i> Pierre.	Clusiaceae	Daun, ranting
10.	<i>Garcinia kydia</i> Roxb.	Clusiaceae	Daun, ranting
11.	<i>Garcinia rigida</i> Miq.	Clusiaceae	Daun, ranting