



**UNIVERSITAS INDONESIA**

**UJI AKTIVITAS PENGHAMBATAN ENZIM ALFA-  
GLUKOSIDASE DAN PENAPISAN FITOKIMIA DARI BEBERAPA  
TANAMAN FAMILI APOCYNACEAE DAN RUBIACEAE**

**SKRIPSI**

**WULAN YULIASTUTI  
0606071046**

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



**UNIVERSITAS INDONESIA**

**UJI AKTIVITAS PENGHAMBATAN ENZIM ALFA-  
GLUKOSIDASE DAN PENAPISAN FITOKIMIA DARI BEBERAPA  
TANAMAN FAMILI APOCYNACEAE DAN RUBIACEAE**

**SKRIPSI**


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

**WULAN YULIASTUTI  
0606071046**

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

## HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

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

Nama : Wulan Yuliasuti  
NPM : 0606071046  
Tanda Tangan :   
Tanggal : 7 Juli 2011

## HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh :  
Nama : Wulan Yuliasuti  
NPM : 0606071046  
Program Studi : Farmasi  
Judul Skripsi : Uji Aktivitas Penghambatan Enzim Alfa-Glukosidase dan Penapisan Fitokimia dari Beberapa Tanaman Famili Apocynaceae dan Rubiaceae

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

### DEWAN PENGUJI


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

(  )

Pembimbing II : Dr. Katrin, M.S.

(  )

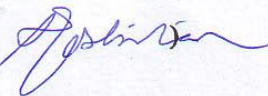
Penguji I : Dr. Abdul Mun'im, M.Si., Apt.

(  )

Penguji II : Dra. Juheini Amin, M.Si.

(  )

Penguji III : Pharm. Dr. Joshita Djajadisastra, M.S., Ph.D.

(  )

Ditetapkan di : Depok

Tanggal : 7 Juli 2011

## KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur hanya kepada Allah SWT atas segala limpahan rahmat dan kasih sayang-Nya sehingga penulis mampu menyelesaikan penelitian dan penyusunan skripsi ini. Penulisan skripsi ini dilakukan dalam rangka memenuhi salah satu syarat untuk mencapai gelar Sarjana Farmasi di Departemen Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia.

Penulis menyadari bahwa, tanpa bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak, dari masa perkuliahan sampai pada penyusunan skripsi ini, sangatlah sulit untuk menyelesaikan skripsi ini. Oleh karena itu, penulis mengucapkan terima kasih kepada:

- (1) Ibu Dr. Berna Elya, M.Si., selaku dosen pembimbing skripsi yang telah menyediakan waktu, bantuan, tenaga, dan pikiran untuk mengarahkan penulis dalam penyusunan skripsi ini;
- (2) Ibu Dr. Katrin, M.S., selaku dosen pembimbing skripsi yang telah menyediakan waktu, bantuan, tenaga, dan pikiran untuk mengarahkan penulis dalam penyusunan skripsi ini;
- (3) Ibu Prof. Dr. Yahdiana Harahap, M.S., selaku ketua Departemen Farmasi FMIPA UI;
- (4) Ibu Santi Purna Sari, M.Si. selaku pembimbing akademik yang telah memberikan bimbingan dan bantuan selama penulis menempuh pendidikan di Departemen Farmasi FMIPA UI;
- (5) Bapak dan Ibu staf pengajar Departemen Farmasi FMIPA UI atas ilmu pengetahuan dan bantuan yang telah diberikan selama menempuh pendidikan di Departemen Farmasi FMIPA UI;
- (6) Orang tua dan adik yang senantiasa memberikan dukungan dan doa demi kelancaran studi penulis;
- (7) Sahabat dan teman yang senantiasa memberikan semangat dan doa;
- (8) Semua pihak yang tidak dapat disebutkan namanya satu persatu yang telah membantu dalam menyelesaikan skripsi ini.

Akhir kata penulis berharap SWT berkenan membalas segala kebaikan semua pihak yang telah membantu. Semoga skripsi ini membawa manfaat bagi pengembangan ilmu.

Penulis  
2011





**HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI  
KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

---

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

Nama : Wulan Yuliasuti  
NPM : 0606071046  
Program Studi : 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 :

Uji Aktivitas Penghambatan Enzim Alfa-Glukosidase dan Penapisan Fitokimia dari Beberapa Tanaman Famili Apocynaceae dan Rubiaceae.

beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Indonesia berhak menyimpan, mengalihmedia/format-kan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (database), merawat, dan 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 : Depok

Pada tanggal : 7 Juli 2011

Yang menyatakan



(Wulan Yuliasuti)

## ABSTRAK

Nama : Wulan Yuliasuti  
Program Studi : Farmasi  
Judul Skripsi : Uji Aktivitas Penghambatan Enzim Alfa-Glukosidase dan Penapisan Fitokimia dari Beberapa Tanaman Famili Apocynaceae dan Rubiaceae

Diabetes melitus (DM) adalah gangguan metabolik yang ditandai dengan tingginya kadar gula darah sebagai akibat resistensi insulin, insufisiensi sekresi insulin, atau keduanya. Salah satu jenis DM adalah *Non-Insulin-Dependent Diabetes Mellitus* (DM tipe 2) dan salah satu cara pengobatannya yaitu dengan penghambatan kerja enzim  $\alpha$ -glukosidase. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas penghambatan enzim  $\alpha$ -glukosidase dari ekstrak etanol 80% beberapa simplisia dari famili Apocynaceae dan Rubiaceae, untuk mengetahui jenis mekanisme penghambatan dari ekstrak yang memiliki aktivitas paling baik, dan untuk mengetahui golongan senyawa kimia yang terkandung pada ekstrak-ekstrak tersebut. Pengujian aktivitas penghambatan enzim  $\alpha$ -glukosidase dilakukan secara *in vitro* menggunakan metode spektrofotometri. Nilai  $IC_{50}$  ekstrak-ekstrak dalam penelitian ini berkisar antara 3,64  $\mu$ g/mL sampai dengan 181,90  $\mu$ g/mL. Ekstrak daun *Amaracarpus pubescens* Blume. memiliki aktivitas penghambatan paling baik. Jenis mekanisme penghambatan kerja enzim  $\alpha$ -glukosidasenya adalah penghambat campuran (*mixed inhibitor*). Kandungan golongan senyawa kimia yang banyak ditemukan pada ekstrak etanol 80% dari lima simplisia famili Apocynaceae dalam penelitian ini adalah tanin, glikosida, saponin, dan antrakuinon. Sedangkan, pada ekstrak etanol 80% dari sepuluh simplisia famili Rubiaceae dalam penelitian ini adalah alkaloid, flavonoid, terpenoid, tanin, glikosida, dan antrakuinon.

Kata Kunci : diabetes melitus,  $\alpha$ -glukosidase, penapisan fitokimia, Apocynaceae, Rubiaceae  
xv+89 halaman ; 16 gambar; 30 tabel; 3 lampiran  
Daftar Pustaka : 51 (1954-2011)



## ABSTRACT

Name : Wulan Yulastuti  
Field Program : Pharmacy  
Title : Inhibition of Alpha-Glucosidase Activity Test and  
Phytochemical Screening from Some Plants of Apocynaceae  
and Rubiaceae

Diabetes mellitus (DM) is a metabolic disorder characterized by high blood sugar levels as a result of insulin resistance, insulin secretion insufficiency, or both. One type of DM is Non-Insulin-Dependent Diabetes Mellitus (type 2 DM) and one way of its treatment is by inhibiting the  $\alpha$ -glucosidase. The purpose of this study was to determine the  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activity of ethanol 80% extracts of several symplicia from the Apocynaceae and Rubiaceae, to determine inhibitory mechanism type of the extract that has the best activity, and to screen the phytochemical compounds contained in these extracts. Inhibitory activity testing of the  $\alpha$ -glucosidase was performed in vitro using spectrophotometric methods.  $IC_{50}$  value of extracts in this study ranged from 3.64  $\mu\text{g/mL}$  to 181.90  $\mu\text{g/mL}$ . *Amaracarpus pubescens* Blume. leaf extract has the best inhibitory activity. Its type of enzyme inhibition mechanism is the mixed inhibitor. The phytochemical compounds which are found in ethanol 80% extracts of five symplicia of Apocynaceae in this study are tannins, glycosides, saponins and anthraquinones. Meanwhile, in ethanol 80% extracts of ten symplicia of Rubiaceae in this study are alkaloids, flavonoids, terpenoids, tannins, glycosides, and anthraquinones.

Key Words : diabetes mellitus,  $\alpha$ -glucosidase, phytochemical screening,  
Apocynaceae, Rubiaceae  
xv+89 pages ; 16 pictures; 30 tables; 3 appendices  
Bibliography : 51 (1954-2011)

## DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL .....	ii
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS .....	iii
HALAMAN PENGESAHAN .....	iv
KATA PENGANTAR .....	v
HALAMAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH .....	vii
ABSTRAK .....	viii
ABSTACT .....	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 .....	3
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA .....</b>	<b>4</b>
2.1. Famili Apocynaceae .....	4
2.2. Famili Rubiaceae .....	5
2.3. Simplisia .....	6
2.4. Ekstraksi dan ekstrak .....	6
2.5. Penapisan fitokimia .....	8
2.5.1 Alkaloid .....	8
2.5.2 Flavonoid .....	9
2.5.3 Terpenoid .....	9
2.5.4 Tanin .....	10
2.5.5 Glikosida .....	11
2.5.6 Saponin .....	11
2.5.7 Kuinon .....	12
2.6. Diabetes melitus .....	12
2.6.1 Klasifikasi diabetes melitus .....	13
2.6.2 Pengobatan diabetes melitus .....	15
2.7. Enzim $\alpha$ -glukosidase .....	15
2.8. Uji aktivitas penghambatan enzim $\alpha$ -glukosidase .....	17
2.9. Mekanisme penghambatan kerja enzim .....	17
2.10. Spektrofotometer UV-Vis .....	19
<b>BAB 3. METODE PENELITIAN .....</b>	<b>22</b>
3.1. Waktu dan tempat .....	22
3.2. Bahan .....	22
3.2.1 Bahan uji .....	22
3.2.2 Bahan kimia .....	22

3.3.	Alat .....	23
3.4.	Cara kerja .....	23
3.4.1	Penyiapan bahan uji .....	23
3.4.2	Ekstraksi .....	24
3.4.3	Identifikasi golongan senyawa kimia .....	24
3.4.4	Penyiapan bahan kimia .....	27
3.4.5	Uji pendahuluan .....	28
3.4.6	Uji aktivitas penghambatan enzim $\alpha$ -glukosidase .....	30
3.4.7	Penentuan kinetika penghambatan enzim $\alpha$ -glukosidase .....	33
<b>BAB 4.</b>	<b>HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>35</b>
4.1.	Penyiapan bahan uji .....	35
4.2.	Ekstraksi .....	36
4.3.	Identifikasi golongan senyawa kimia .....	36
4.4.	Uji pendahuluan .....	39
4.5.	Uji aktivitas penghambatan enzim $\alpha$ -glukosidase .....	42
4.6.	Penentuan kinetika penghambatan enzim $\alpha$ -glukosidase .....	45
<b>BAB 5.</b>	<b>KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>47</b>
5.1.	Kesimpulan .....	47
5.2.	Saran .....	47
<b>DAFTAR ACUAN</b>	<b>.....</b>	<b>48</b>

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1.	Struktur kimia Akarbose .....	16
Gambar 2.2.	Reaksi p-nitrofenil- $\alpha$ -D-glukopiranosida dan enzim $\alpha$ -glukosidase ....	17
Gambar 2.3.	Perbedaan struktur penghambatan kompetitif dan nonkompetitif .....	18
Gambar 2.4.	Plot Lineweaver-Burke penghambat kompetitif dan penghambat nonkompetitif .....	19
Gambar 2.5.	<i>Beaumontia multiflora</i> .....	53
Gambar 2.6.	<i>Carissa carandas</i> .....	53
Gambar 2.7.	<i>Ochrosia citrodora</i> .....	53
Gambar 2.8.	<i>Adina trichotoma</i> .....	54
Gambar 2.9.	<i>Amaracarpus pubescens</i> .....	54
Gambar 2.10.	<i>Chantium glabrum</i> .....	54
Gambar 2.11.	<i>Chiococca javanica</i> .....	55
Gambar 2.12.	<i>Hydnophytum formicarum</i> .....	55
Gambar 2.13.	<i>Nauclea calycina</i> .....	56
Gambar 2.14.	<i>Posoqueria latifolia</i> .....	56
Gambar 4.1.	Kurva Lineweaver-Burke larutan ekstrak daun <i>Amaracarpus pubescens</i> Blume. konsentrasi 0,25% (V4), 0,125% (V3), 0,0625 (V2), 0,03125% (V1), dan blangko (B) .....	57
Gambar 4.2.	Kurva Lineweaver-Burke larutan ekstrak daun <i>Amaracarpus pubescens</i> Blume. konsentrasi 0,0625% (V2) dan blangko .....	57

## DAFTAR TABEL

Tabel 4.1.	Susut pengeringan .....	58
Tabel 4.2.	Rendemen ekstrak .....	59
Tabel 4.3.	Hasil identifikasi alkaloid .....	60
Tabel 4.4.	Hasil identifikasi flavonoid .....	61
Tabel 4.5.	Hasil identifikasi terpenoid, saponin dan antrakuinon .....	62
Tabel 4.6.	Hasil identifikasi tanin .....	63
Tabel 4.7.	Hasil identifikasi glikosida .....	64
Tabel 4.8.	Hasil identifikasi kandungan golongan kimia .....	65
Tabel 4.9.	Hasil optimasi konsentrasi enzim $\alpha$ -glukosidase .....	66
Tabel 4.10.	Hasil optimasi konsentrasi substrat dengan konsentrasi enzim 0,15 U/mL .....	66
Tabel 4.11.	Hasil uji aktivitas penghambatan enzim $\alpha$ -glukosidase oleh akarbose ....	67
Tabel 4.12.	Hasil uji aktivitas penghambatan enzim $\alpha$ -glukosidase oleh ekstrak daun <i>Beaumontia multiflora</i> Teijsm. & Binn. ....	68
Tabel 4.13.	Hasil uji aktivitas penghambatan enzim $\alpha$ -glukosidase oleh ekstrak daun <i>Carissa Carandas</i> L. ....	69
Tabel 4.14.	Hasil uji aktivitas penghambatan enzim $\alpha$ -glukosidase oleh ekstrak daun <i>Ochrosia citrodora</i> Lauterb. & K. Schum. ....	70
Tabel 4.15.	Hasil uji aktivitas penghambatan enzim $\alpha$ -glukosidase oleh ekstrak daun <i>Adina trihotoma</i> Zoll. & Moritzi. ....	71
Tabel 4.16.	Hasil uji aktivitas penghambatan enzim $\alpha$ -glukosidase oleh ekstrak daun <i>Amaracarpus pubescens</i> Blume. ....	72
Tabel 4.17.	Hasil uji aktivitas penghambatan enzim $\alpha$ -glukosidase oleh ekstrak daun <i>Canthium glabrum</i> Blume. ....	73
Tabel 4.18.	Hasil uji aktivitas penghambatan enzim $\alpha$ -glukosidase oleh ekstrak daun <i>Chiococca javanicq</i> Blume. ....	74
Tabel 4.19.	Hasil uji aktivitas penghambatan enzim $\alpha$ -glukosidase oleh ekstrak daun <i>Hydnophytum formicarum</i> .....	75
Tabel 4.20.	Hasil uji aktivitas penghambatan enzim $\alpha$ -glukosidase oleh ekstrak daun <i>Nauclea calycina</i> (Batr. ex DC.) Merr. ....	76
Tabel 4.21.	Hasil uji aktivitas penghambatan enzim $\alpha$ -glukosidase oleh ekstrak daun <i>Posoqueria latifolia</i> (Lam.) Roem. & Schult. ....	77
Tabel 4.22.	Hasil uji aktivitas penghambatan enzim $\alpha$ -glukosidase oleh ekstrak ranting <i>Beaumontia multiflora</i> Teijsm. & Binn. ....	78
Tabel 4.23.	Hasil uji aktivitas penghambatan enzim $\alpha$ -glukosidase oleh ekstrak ranting <i>Carissa carandas</i> L. ....	79
Tabel 4.24.	Hasil uji aktivitas penghambatan enzim $\alpha$ -glukosidase oleh ekstrak ranting <i>Adina trichotoma</i> Zoll. & Moritzi. ....	80
Tabel 4.25.	Hasil uji aktivitas penghambatan enzim $\alpha$ -glukosidase oleh ekstrak ranting <i>Hydnophytum formicarum</i> .....	81



Tabel 4.26. Hasil uji aktivitas penghambatan enzim $\alpha$ -glukosidase oleh ekstrak ranting <i>Nauclea calycina</i> (Batl. ex DC.) Merr. ....	82
Tabel 4.27. Daftar IC <sub>50</sub> hasil uji aktivitas penghambatan enzim $\alpha$ -glukosidase .....	83
Tabel 4.28. Data serapan kinetika penghambatan enzim $\alpha$ -glukosidase oleh daun <i>Amaracarpus pubescens</i> .....	84
Tabel 4.29. Data kinetika penghambatan enzim $\alpha$ -glukosidase oleh daun <i>Amaracarpus pubescens</i> .....	85
Tabel 4.30. Hasil perhitungan konstanta Michaelis-Menten ( $K_M$ ) dan $V_{max}$ .....	85



## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Surat hasil identifikasi tanaman .....	86
Lampiran 2. Spektrum serapan p-nitrofenol akarbosa .....	88
Lampiran 3. Spektrum serapan p-nitrofenol ekstrak etanol 80% <i>Amaracarpus pubescens</i> Blume. ....	89



# BAB 1

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar belakang

Diabetes melitus adalah penyakit endokrin yang paling umum di dunia. Pada tahun 2005 sekitar 173 juta orang menderita diabetes melitus. Jumlah penderita diabetes melitus akan meningkat lebih dari dua kali lipat menjadi 366 juta pada tahun 2030 (Funke & Melzig, 2006). Pada tahun 2000, Indonesia menempati posisi keempat jumlah penderita diabetes melitus terbanyak, setelah India, Cina, dan Amerika Serikat, yaitu sekitar 8,4 juta jiwa. Jumlah tersebut diperkirakan akan meningkat menjadi 21,3 juta jiwa pada tahun 2030 (Wild, Roglic, Green, Sicree, & King, 2004).

Diabetes melitus terdiri dari beberapa tipe, salah satunya adalah *Non-Insulin-Dependent Diabetes Mellitus* (diabetes melitus tipe 2). Diabetes melitus tipe ini lebih umum terjadi yaitu mencapai 90-95% dari populasi penderita diabetes melitus (Dirjen Binfar Depkes RI, 2005). Peningkatan jumlah penderita diabetes melitus tipe 2 sudah menjadi perhatian serius. Berbagai penelitian dilakukan untuk menemukan agen terapeutik baru yang mampu mengobati diabetes melitus tipe ini. Meskipun pengobatan diabetes melitus tipe 2 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 (Lam, Chen, Kang, Chen, & Lee, 2008).

Salah satu cara pengobatan diabetes melitus tipe 2 yaitu dengan penghambatan kerja enzim  $\alpha$ -glukosidase yang berperan dalam konversi karbohidrat menjadi glukosa. Dengan dihambatnya kerja enzim  $\alpha$ -glukosidase, kadar glukosa dalam darah dapat dikembalikan dalam batas normal (Bösenberg, 2008).

Akarbose dan voglibose 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. 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 (Lam, Chen, Kang, Chen, & Lee, 2008).

Alam menyediakan berbagai kandungan senyawa kimia yang dapat kita eksplorasi untuk mendapatkan senyawa yang potensial untuk pengobatan (Lam, Chen, Kang, Chen, & Lee, 2008). Indonesia adalah negara *megabiodiversity* yang kaya akan tanaman obat, dan sangat potensial untuk dikembangkan, namun belum dikelola secara maksimal. Kekayaan alam tumbuhan di Indonesia meliputi 30.000 jenis tumbuhan dari total 40.000 jenis tumbuhan di dunia, 940 jenis di antaranya merupakan tumbuhan berkhasiat obat. Jumlah ini merupakan 90% dari jumlah tumbuhan obat di Asia. Berdasarkan hasil penelitian, dari sekian banyak jenis tanaman obat, baru 20-22% yang dibudidayakan. Sedangkan, sekitar 78% diperoleh melalui pengambilan langsung (eksplorasi) dari hutan (Kementrian Kehutanan RI, 2010)

Cukup banyak tanaman yang telah diteliti secara ilmiah potensinya sebagai bahan obat. Namun, masih banyak juga tanaman yang belum diteliti, padahal tanaman-tanaman tersebut dapat saja berpotensi untuk pengobatan. Oleh karena itu, peneliti akan mencoba mengeksplorasi potensi sebagai bahan obat antidiabetes dengan mekanisme kerja penghambatan enzim  $\alpha$ -glukosidase pada beberapa spesies tanaman dari dua famili, yaitu Apocynaceae dan Rubiaceae. Kedua famili tersebut dipilih karena beberapa spesies anggotanya telah terbukti secara ilmiah memiliki aktivitas antidiabetes. Tanaman-tanaman dengan famili yang sama umumnya memiliki kandungan kimia yang hampir sama, sehingga dapat saja memiliki potensi yang sama untuk pengobatan suatu penyakit (de Padua, Bunyapiaphatsara, & Lemmens, 1999).

Pengujian aktivitas penghambatan enzim  $\alpha$ -glukosidase dalam penelitian ini dilakukan pada ekstrak etanol 80% dari daun dan ranting beberapa spesies tanaman famili Apocynaceae dan Rubiaceae. Pengujian aktivitas dilakukan secara *in vitro* menggunakan metode spektrofotometri dengan substrat p-nitrofenil- $\alpha$ -D-glukopiranosida (pNPG). Kemudian ekstrak dengan aktivitas penghambatan

paling baik ditentukan jenis mekanisme penghambatannya dengan kinetika penghambatan enzim  $\alpha$ -glukosidase. Selain itu, penapisan fitokimia juga dilakukan terhadap ekstrak-ekstrak pada penelitian ini untuk mengidentifikasi golongan senyawa kimia yang terkandung di dalamnya.

## 1.2 Tujuan

Tujuan penelitian ini adalah:

1. Untuk mengetahui aktivitas penghambatan enzim  $\alpha$ -glukosidase oleh ekstrak etanol 80% beberapa simplisia dari famili Apocynaceae dan Rubiaceae;
2. Untuk mengetahui jenis mekanisme penghambatan kerja enzim  $\alpha$ -glukosidase dari ekstrak etanol 80% simplisia yang memiliki aktivitas penghambatan paling baik;
3. Untuk mengetahui golongan senyawa kimia yang terkandung pada ekstrak etanol 80% beberapa simplisia dari famili Apocynaceae dan Rubiaceae.



## BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Famili Apocynaceae

Famili Apocynaceae memiliki sekitar 2000 spesies tanaman yang terdiri dari pohon, perdu, semak, dan tanaman merambat. Tanaman anggota famili ini tumbuh di daerah tropis dan subtropis. Daun tanaman pada famili ini tunggal, seluruhnya berhadapan atau dalam karangan, tanpa daun penumpu, dan bertepi rata. Bunganya dalam anak payung, jarang berdiri sendiri, beraturan, berkelamin ganda, serta kebanyakan berjumlah lima. Mahkotanya berdaun lekat dengan letak yang terputar. Benang sari tertancap pada tabung mahkota berseling dengan lekukan. Kepala sari beruang dua. Tonjolan dasar bunga biasanya tidak ada, sering terdiri dari sisik. Bakal buah kebanyakan berjumlah dua, terpisah tetapi dihubungkan dengan tangkai putik, beruang satu atau dua. Tangkai putik berjumlah satu, sedangkan kepala putik bergigi dua atau berlekuk dua. Buah famili Apocynaceae berupa buah batu atau bumbung satu atau dua, kadang-kadang buah kotak yang berkatup dua (Hodgkiss, 2009; Van Steenis, den Hoed, Bloembergen, & Eyma, 1975).

Tanaman-tanaman famili Apocynaceae yang telah terbukti secara ilmiah berpotensi sebagai antidiabetes antara lain *Catharanthus roseus* (Rasineni, Bellamkonda, Singareddy, & Desireddy, 2010), *Chonemorpha fragrans* (Shende, Sawant, Turuskar, Chatap, & Vijaya, 2009), *Holarrhena antydysenterica* (Ali K.M., Chatterjee K., De D., Bera T. K., & Ghosh D., 2009), *Nerium indicum* (Sikarwar, Kokate, Sharma, & Bhat, 2009), dan *Picralima nitida* (Ajao et al., 2009). Kelima tanaman tersebut telah diuji secara *in vivo* dan hasil yang didapatkan menunjukkan bahwa kelimanya efektif dalam manajemen diabetes melitus. *Alstonia scholaris* (Jong-Anurakkun, Bhandari, & Kawabata, 2009) telah diuji potensi aktivitas antidiabetesnya secara *in vitro* dan terbukti merupakan agen penghambat enzim  $\alpha$ -glukosidase.

Tanaman-tanaman dari famili Apocynaceae yang akan digunakan pada penelitian ini adalah *Beaumontia multiflora* (daun dan ranting), *Carissa carandas*

(daun dan ranting), dan *Ochrosia citrodora* (daun). Foto tanaman dapat dilihat pada Gambar 2.5, Gambar 2.6, dan Gambar 2.7.

## 2.2 Famili Rubiaceae

Famili Rubiaceae memiliki sekitar 450 genus dan lebih dari 6500 spesies tanaman yang kebanyakan tumbuh di daerah tropis. Tanaman anggota famili ini biasanya berupa pohon, perdu atau herba, kadang-kadang merambat, dengan daun yang biasanya bersilang berhadapan atau kadang-kadang berkarang. Daunnya kebanyakan bertepi rata. Daun penumpu terletak antara tangkai daun, berlekatan berpasangan, kadang-kadang terbagi dalam taju. Bunga dari famili Rubiaceae terdapat di ketiak atau terminal, kadang-kadang tunggal, kebanyakan dalam berbagai bentuk karangan bunga beraturan, kebanyakan berkelamin ganda, kelopak dan mahkotanya berdaun lekat. Benang sari sama banyak dengan taju mahkota, berseling dan tertancap pada tabung atau leher mahkota dan kepala sari beruang. Bakal buah seluruhnya atau sebagian besar tenggelam, beruang banyak. Tangkai putiknya hanya satu. Buah famili Rubiaceae bermacam-macam, berupa buah kotak, buah buni, buah batu atau pecah dalam kendaga. Biji ada yang berjumlah satu hingga banyak dalam tiap ruangnya (Carr, 2006; Van Steenis, dan Hoed, Bloembergen, & Eyma, 1975).

Tanaman-tanaman pada famili Rubiaceae yang telah terbukti secara ilmiah berpotensi sebagai antidiabetes antara lain *Hintonia latiflora*, *Hintonia standleyana*, *Exostema caribaeum* (Guerrero-Analco et al., 2007), *Mitragyna inermis* (Konkon N.G., Adjoungoua A.L., Manda P., Simaga D., N'Guessan K.E., & Kone B.D., 2008), *Morinda citrifolia* (Horsfal, Olabiyi, Osinubi, Noronha, & Okanlawon, 2008), dan *Nauclea latifolia* (Gidado, Ameh, Atawodi, & Ibrahim, 2008). Keenam tanaman tersebut telah diuji secara *in vivo* dan hasil yang didapatkan menunjukkan bahwa kelimanya efektif dalam manajemen diabetes melitus.

Selain secara *in vivo*, beberapa tanaman pada famili ini juga yang telah diuji potensi aktivitas antidiabetesnya secara *in vitro*. Tanaman-tanaman yang telah terbukti merupakan agen penghambat enzim  $\alpha$ -glukosidase dengan aktivitas yang cukup tinggi antara lain *Morinda citrifolia* (Gunawan-Puteri, Bhandari, &

Kawabata, 2009), *Luculia pinciana* (Kang, Zhang, & Song, 2009), *Rubia cordifolia* (Kang, Zhang, & Song, 2009), dan *Rubia manjith* (Bhandari, Jong-Anurakkun, & Kawabata, 2009).

Tanaman-tanaman dari famili Rubiaceae yang akan digunakan pada penelitian ini adalah *Adina trichotoma* (daun dan ranting), *Amaracarpus pubescens* (daun), *Canthium glabrum* (daun), *Chiococca javanica* (daun), *Hydnophytum formicarum* (daun dan ranting), *Nauclea calycina* (daun dan ranting), dan *Posoqueria latifolia* (daun). Foto tanaman dapat dilihat pada Gambar 2.8 sampai dengan Gambar 2.14.

### 2.3 Simplisia

Simplisia adalah bahan alamiah yang dipergunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun juga dan kecuali dinyatakan lain, berupa bahan yang telah dikeringkan. Simplisia berdasarkan sumbernya dapat dibedakan menjadi tiga, yaitu simplisia nabati, simplisia hewani, dan simplisia pelikan (mineral). Simplisia nabati adalah simplisia yang berupa tanaman utuh, bagian tanaman atau eksudat tanaman. Eksudat tanaman adalah isi sel yang secara spontan keluar dari tanaman atau isi sel yang dengan cara tertentu dikeluarkan dari selnya, atau zat-zat nabati lainnya yang dengan cara tertentu dipisahkan dari tanamannya dan belum berupa zat kimia murni. Simplisia hewani adalah simplisia yang berupa hewan utuh, bagian hewan, atau zat-zat berguna yang dihasilkan oleh hewan dan belum berupa zat kimia murni. Simplisia pelikan adalah simplisia yang berupa bahan pelikan (mineral) yang belum diolah atau telah diolah dengan cara sederhana atau belum berupa zat kimia murni (Depkes RI, 1995b).

### 2.4 Ekstraksi dan ekstrak

Ekstraksi adalah kegiatan penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut dengan pelarut cair. Metode ekstraksi ada berbagai macam, salah satunya adalah ekstraksi dengan menggunakan pelarut. Cara ekstraksi dengan menggunakan pelarut ada dua jenis yaitu cara dingin dan cara panas. Cara dingin terdiri dari maserasi dan perkolasi.

Sedangkan, cara panas antara lain refluks, soxhlet, digesti, infus, dan dekok (Dirjen POM Depkes RI, 2000).

Maserasi adalah proses pengekstrakan simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan ( $\pm 25^{\circ}\text{C}$ ). 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 (Dirjen POM Depkes RI, 2000).

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 (Dirjen POM Depkes RI, 2000).

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 (Dirjen POM Depkes RI, 2000).

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 (Dirjen POM Depkes RI, 2000).

Digesti adalah maserasi kinetik (dengan pengadukan kontinu) pada temperatur yang lebih tinggi dari temperatur ruangan (kamar), yaitu secara umum dilakukan pada temperatur  $40-50^{\circ}\text{C}$  (Dirjen POM Depkes RI, 2000).

Infus adalah ekstraksi dengan pelarut air pada temperatur penangas air (bejana infus tercelup dalam penangas air mendidih, temperatur terukur  $96-98^{\circ}\text{C}$ ) selama waktu tertentu (15-20 menit). Sedangkan, dekok adalah infus pada waktu yang lebih lama ( $\geq 30$  menit) dan temperatur sampai titik didih air (Dirjen POM Depkes RI, 2000).

Cairan pelarut dalam proses pembuatan ekstrak adalah pelarut yang baik (optimal) untuk senyawa kandungan yang berkhasiat atau yang aktif, dengan demikian senyawa tersebut dapat terpisahkan dari bahan dan dari senyawa kandungan lainnya, serta ekstrak hanya mengandung sebagian besar senyawa kandungan yang diinginkan (Dirjen POM Depkes RI, 2000).

Syarat pelarut yang ideal antara lain selektif dalam mengekstraksi kandungan kimia yang aktif dari tanaman, memiliki kapasitas yang besar dalam mengekstraksi kandungan kimia dari tanaman, tidak beracun bagi manusia dan lingkungan, mudah menguap, dan ekonomis (Samuelsson, 1999). Sampai saat ini berlaku aturan bahwa pelarut yang diperbolehkan adalah air, etanol, atau campuran keduanya (Dirjen POM Depkes RI, 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 RI, 1995a).

## **2.5 Penapisan fitokimia**

Penapisan fitokimia 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, terpenoid, tanin, glikosida, saponin, dan kuinon (Harborne, 1987).

### **2.5.1 Alkaloid**

Alkaloid adalah senyawa bersifat basa yang mengandung satu atau lebih atom nitrogen sebagai bagian dari sistem siklik. Alkaloid sering kali beracun bagi manusia, namun juga memiliki banyak aktivitas fisiologi yang menonjol sehingga digunakan secara luas dalam bidang pengobatan. Alkaloid biasanya tidak berwarna, sering kali bersifat optis aktif, kebanyakan berbentuk kristal tetapi hanya sedikit yang berupa cairan pada suhu kamar. Fungsi alkaloid dalam tumbuhan masih belum jelas, meskipun masing-masing senyawa telah dinyatakan



terlibat sebagai pengatur tumbuh dan penghalau atau penarik serangga (Harborne, 1987). Alkaloid yang berkhasiat antara lain morfin sebagai analgesik narkotik, kodein untuk obat batuk, kolkisin untuk obat gout, dan kuinin sebagai antimalaria (de Padua, Bunyapiaphatsara, & Lemmens, 1999).

Kasuarin 6-O- $\alpha$ -glukosida, alkaloid yang diisolasi dari ekstrak metanol kulit batang *Syzygium malaccense* L. Merrill & L. M. Perry (Myrtaceae), menghambat  $\alpha$ -glukosidase dengan nilai IC<sub>50</sub> 5,7  $\mu$ g/mL. Derivat N-hidroksietil dari deoksinojirimisin, miglitol, tersedia secara komersial untuk pengobatan diabetes di beberapa negara (Jung, Park, Lee, Kang, Kang, & Kim, 2006).

### 2.5.2 Flavonoid

Flavonoid adalah senyawa yang terdiri dari C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>. Flavonoid umumnya terdapat pada tumbuhan sebagai glikosida. Gugusan gula bersenyawa pada satu atau lebih grup hidroksil fenolik. Flavonoid mengandung sistem aromatik yang terkonjugasi sehingga menunjukkan pita serapan kuat pada daerah spektrum UV dan spektrum tampak. Flavonoid terdapat pada seluruh bagian tanaman, termasuk pada buah, tepung sari, dan akar. Manfaat flavonoid bagi manusia antara lain dalam dosis kecil flavon bekerja sebagai stimulan pada jantung, hesperidin mempengaruhi pembuluh darah kapiler, dan flavon terhidroksilasi bekerja sebagai diuretik dan antioksidan pada lemak (Harborne, 1987; Sirait, 2007).

Lima 6-hidroksi-flavonoid, 6-hidroksiapigenin, 6-hidroksiapigenin-7-O- $\beta$ -D-glukopiranosida, 6-hidroksiluteolin-7-O- $\beta$ -D-glukopiranosida, 6-hidroksiapigenin-7-O-(6-O-feruloil)- $\beta$ -D-glukopiranosida, dan 6-hidroksiluteolin-7-O-(6-O-feruloil)- $\beta$ -D-glukopiranosida, diisolasi dari ekstrak metanol daun *Origanum majorana* L. (Lamiaceae). Semua menunjukkan aktivitas penghambatan terhadap  $\alpha$ -glucosidase usus tikus (Kawabata, Mizuhata, Sato, Nishioka, Aoyama, & Kasai, 2003).

### 2.5.3 Terpenoid

Terpenoid adalah suatu senyawa yang berasal dari molekul isoprena CH<sub>2</sub>=C(CH<sub>3</sub>)-CH=CH<sub>2</sub> dan kerangka karbonnya dibangun oleh penyambungan dua atau lebih satuan C<sub>5</sub> ini. Terpenoid terdiri atas beberapa macam senyawa,

mulai dari komponen minyak atsiri, yaitu monoterpen dan seskuiterpen yang mudah menguap ( $C_{10}$  dan  $C_{15}$ ), diterpen yang lebih sukar menguap ( $C_{20}$ ) sampai ke senyawa yang tidak menguap, yaitu triterpenoid dan sterol ( $C_{30}$ ), serta pigmen karotenoid ( $C_{40}$ ). Masing-masing golongan terpenoid itu penting, baik pada pertumbuhan dan metabolisme maupun pada ekologi tumbuhan. Secara umum senyawa ini larut dalam lemak dan terdapat dalam sitoplasma sel tumbuhan. Biasanya senyawa ini diekstraksi dengan menggunakan eter dan kloroform (Harborne, 1987; Sirait, 2007). Beberapa khasiat dari golongan senyawa ini antara lain sesquiterpen sebagai antibakteri, antijamur, antelmintik, dan antimalaria; dan diterpen, taxol sebagai antikanker (de Padua, Bunyapiaphatsara, & Lemmens, 1999). Empat senyawa baru dan empat senyawa yang sudah diketahui derivat sesquiterpen yang diisolasi dari akar *Ferula mongolica* Seud. (Umbelliferae) menunjukkan aktivitas penghambatan  $\alpha$ -glukosidase yang signifikan (Choudhary, 2001).

#### 2.5.4 Tanin

Tanin terdapat luas dalam tumbuhan berpembuluh, dalam angiospermae terdapat khusus dalam jaringan kayu. Tanin dapat bereaksi dengan protein membentuk kopolimer mantap yang tidak larut dalam air. Dalam industri tanin dimanfaatkan untuk mengubah kulit hewan mentah menjadi kulit siap pakai karena kemampuannya menyambung-silang protein (Harborne, 1987; Sirait, 2007).

Tanin secara kimia dikelompokkan menjadi dua golongan yaitu tanin terkondensasi dan tanin terhidrolisis. Tanin terkondensasi atau flavolan secara biosintesis dapat dianggap terbentuk dengan cara kondensasi katekin tunggal yang membentuk senyawa dimer dan kemudian oligomer yang lebih tinggi. Tanin terhidrolisis mengandung ikatan ester yang dapat terhidrolisis jika dididihkan dalam asam klorida encer (Harborne, 1987; Sirait, 2007).

Tanin digunakan untuk pengobatan diare dan sebagai antidot dalam keracunan logam berat. Namun, penggunaannya dikurangi setelah diketahui efek hepatotoksiknya akibat penyerapan asam tanat. Penelitian baru-baru ini melaporkan bahwa tanin memiliki aktivitas antikanker dan anti-HIV (de Padua,

Bunyapiaphatsara, & Lemmens, 1999). Sebuah penelitian membuktikan bahwa elagitanin dapat menghambat enzim  $\alpha$ -glukosidase walaupun potensinya tidak sebesar dalam menghambat  $\alpha$ -amilase (Pinto, de Carvalho, Lajolo, Genovese, & Shetty, 2010).

### 2.5.5 Glikosida

Glikosida adalah suatu senyawa yang bila dihidrolisis akan terurai menjadi gula (glikon) dan senyawa lain (aglikon atau genin). Glikosida yang gulanya berupa glukosa disebut glukosida. Berdasarkan konfigurasi glikosida dibedakan menjadi  $\alpha$ -glikosida dan  $\beta$ -glikosida. Pada tanaman, glikosida biasanya terdapat dalam bentuk beta (Harborne, 1987; Sirait, 2007).

Umumnya glikosida mudah terhidrolisis oleh asam mineral atau enzim. Hidrolisis oleh asam memerlukan panas. Sedangkan, hidrolisis oleh enzim tidak memerlukan panas. Pada tanaman, hidrolisis enzim terjadi pada proses perkecambahan, luka, dan aktivitas fisiologis dari sel. Hidrolisis glikosida dengan asam lemah atau enzim akan menghasilkan gula mereduksi dan aglikon yang dapat diklasifikasikan sebagai aldehid, alkohol, fenol, dan lain-lain. Glikosida memiliki banyak manfaat bagi manusia, antara lain sebagai obat jantung, diuretik, ekspektoran, dan prekursor hormon steroid (Harborne, 1987; Sirait, 2007). Senyawa yang memiliki struktur mirip gula seperti glikosida juga memiliki potensi dalam penghambatan  $\alpha$ -glukosidase (Jung, Park, Lee, Kang, Kang, & Kim, 2006).

### 2.5.6 Saponin

Saponin terdapat pada tanaman tinggi. Senyawa ini dapat membentuk larutan koloidal dalam air dan bila dikocok akan membuih. Saponin berasa pahit atau getir. Senyawa ini dapat mengiritasi membran mukosa dan membentuk senyawa kompleks dengan kolesterol. Selain itu, saponin juga bersifat toksik terhadap ikan dan hewan berdarah dingin lainnya. Hal ini menyebabkan saponin dimanfaatkan sebagai racun ikan. Pada konsentrasi yang rendah, saponin sering menyebabkan hemolisis sel darah merah pada tikus. Saponin juga dapat dimanfaatkan sebagai sumber sapogenin yang dapat diubah menjadi sterol hewan

yang mempunyai manfaat terapeutik antara lain kortison dan kontraseptik estrogen (Harborne, 1987; Sirait, 2007).

### 2.5.7 Kuinon

Kuinon adalah senyawa berwarna dan mempunyai kromofor dasar seperti kromofor pada benzokuinon, yang terdiri atas dua gugus karbonil yang berkonjugasi dengan dua ikatan rangkap karbon-karbon. Untuk tujuan identifikasi, kuinon dipilah menjadi empat kelompok: benzokuinon, naftokuinon, antrakuinon, dan kuinon isoprenoid. Tiga kelompok pertama biasanya terhidroksilasi dan bersifat senyawa fenol serta mungkin terdapat *in vivo* dalam bentuk gabungan dengan gula sebagai glikosida atau dalam bentuk kuinol tanpa warna, kadang-kadang juga bentuk dimer. Dalam hal demikian, diperlukan hidrolisis asam untuk melepaskan kuinon bebasnya (Harborne, 1987; Sirait, 2007). Salah satu manfaat antrakuinon adalah sebagai pencahar. Antrakuinon yang diisolasi dari tanaman yang memiliki aktivitas sebagai pencahar antara lain senosida, aloin, dan emodin (de Padua, Bunyapiaphatsara, & Lemmens, 1999). Antrakuinon dari akar dan batang *Polygonatum sibiricum* Red. menunjukkan aktivitas penghambatan  $\alpha$ -glukosidase sebesar 35,95% (Li & Jing, 2008).

## 2.6 Diabetes melitus

Diabetes melitus (DM) adalah gangguan metabolik yang ditandai dengan hiperglikemia. DM berhubungan dengan kelainan metabolisme karbohidrat, lemak dan protein. DM dapat menyebabkan komplikasi kronis termasuk gangguan mikrovaskular, makrovaskular, dan neuropatik. DM ditandai dengan tingginya kadar gula darah sebagai akibat resistensi terhadap insulin, insufisiensi sekresi insulin, atau keduanya (DiPiro, Talbert, Yee, Matzke, Wells, & Posey, 2005).

Diagnosis klinis DM umumnya akan dipikirkan apabila ada keluhan khas DM berupa poliuria, polidipsia, polifagia, dan penurunan berat badan yang tidak dapat dijelaskan penyebabnya. Keluhan lain yang mungkin disampaikan penderita antara lain badan terasa lemah, sering kesemutan, gatal-gatal, mata kabur, disfungsi ereksi pada pria, dan pruritus vulvae pada wanita. Apabila ada keluhan khas, hasil pemeriksaan kadar glukosa darah sewaktu  $>200$  mg/dl sudah cukup

untuk menegakkan diagnosis DM. Hasil pemeriksaan kadar glukosa darah puasa  $>126$  mg/dl juga dapat digunakan sebagai patokan diagnosis DM (Dirjen Binar Depkes, 2005).

Untuk kelompok tanpa keluhan khas, hasil pemeriksaan kadar glukosa darah abnormal tinggi (hiperglikemia) satu kali saja tidak cukup kuat untuk menegakkan diagnosis DM. Konfirmasi atau pemastian lebih lanjut diperlukan dengan mendapatkan paling tidak satu kali lagi kadar gula darah sewaktu yang abnormal tinggi ( $>200$  mg/dl) pada hari lain, kadar glukosa darah puasa yang abnormal tinggi ( $>126$  mg/dl), atau dari hasil uji toleransi glukosa oral didapatkan kadar glukosa darah paska beban  $>200$  mg/dl (Dirjen Binar Depkes, 2005).

## 2.6.1 Klasifikasi diabetes melitus

### 2.6.1.1 Diabetes melitus tipe 1 (*Insulin-Dependent Diabetes Melitus*)

Gangguan produksi insulin pada DM Tipe 1 umumnya terjadi karena kerusakan sel-sel  $\beta$  pulau Langerhans yang disebabkan oleh reaksi otoimun. Penanda (*marker*) kerusakan kekebalan sel  $\beta$  ditemukan pada diagnosis 90% dari penderita DM dan mencakup sel islet antibodi, antibodi terhadap dekarboksilase asam glutamat, dan antibodi terhadap insulin. DM tipe ini dapat terjadi pada semua usia, anak-anak sampai orang tua. Penderita yang berusia lebih muda biasanya memiliki tingkat kerusakan sel  $\beta$  yang cepat dan menimbulkan ketoasidosis, sedangkan orang dewasa sering mempertahankan sekresi insulin yang cukup untuk mencegah ketoasidosis selama bertahun-tahun (DiPiro, Talbert, Yee, Matzke, Wells, & Posey, 2005). Diabetes tipe ini merupakan diabetes yang jarang atau sedikit populasinya, diperkirakan kurang dari 5-10% dari keseluruhan populasi penderita diabetes (Dirjen Binar Depkes, 2005).

### 2.6.1.2 Diabetes melitus tipe 2 (*Non-Insulin-Dependent Diabetes Melitus*)

Berbeda dengan DM Tipe 1, pada penderita DM Tipe 2, terutama yang berada pada tahap awal, umumnya dapat dideteksi jumlah insulin yang cukup di dalam darahnya, disamping kadar glukosa yang juga tinggi. Awal patofisiologi DM Tipe 2 bukan disebabkan oleh kurangnya sekresi insulin, tetapi karena sel-sel

sasaran insulin gagal atau tak mampu merespon insulin secara normal. Keadaan ini disebut sebagai resistensi insulin (DiPiro, Talbert, Yee, Matzke, Wells, & Posey, 2005). Resistensi insulin banyak terjadi di negara-negara maju seperti Amerika Serikat, antara lain sebagai akibat dari obesitas, gaya hidup kurang gerak (*sedentary*), dan penuaan (Dirjen Binfar Depkes, 2005).

Selain resistensi insulin, pada penderita DM Tipe 2 dapat juga timbul gangguan sekresi insulin dan produksi glukosa hepatik yang berlebihan. Namun demikian, tidak terjadi pengrusakan sel-sel  $\beta$  Langerhans secara otoimun sebagaimana yang terjadi pada DM Tipe 1. Dengan demikian defisiensi fungsi insulin pada penderita DM Tipe 2 hanya bersifat relatif, tidak absolut. Oleh sebab itu, dalam penanganannya umumnya tidak memerlukan terapi pemberian insulin (Dirjen Binfar Depkes, 2005).

Diabetes Tipe 2 merupakan tipe diabetes yang lebih umum, lebih banyak penderitanya dibandingkan dengan DM Tipe 1. Penderita DM Tipe 2 mencapai 90-95% dari keseluruhan populasi penderita diabetes, umumnya berusia di atas 45 tahun, tetapi akhir-akhir ini penderita DM Tipe 2 di kalangan remaja dan anak-anak populasinya meningkat (Dirjen Binfar Depkes, 2005).

#### 2.6.1.3 Diabetes melitus gestasional (*Gestational Diabetes Mellitus*)

Diabetes Melitus Gestasional (GDM) adalah keadaan diabetes atau intoleransi glukosa yang timbul selama masa kehamilan, dan biasanya berlangsung hanya sementara atau temporer. Sekitar 7% wanita hamil diketahui menderita GDM, dan umumnya terdeteksi pada atau setelah trimester kedua (DiPiro, Talbert, Yee, Matzke, Wells, & Posey, 2005).

Diabetes dalam masa kehamilan, walaupun umumnya kelak dapat pulih sendiri beberapa saat setelah melahirkan, 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 di masa depan. Kontrol metabolisme yang ketat dapat mengurangi risiko-risiko tersebut (Dirjen Binfar Depkes, 2005).

### 2.6.2 Pengobatan diabetes melitus

Terapi insulin merupakan satu keharusan bagi penderita DM Tipe 1. Pada DM Tipe 1, sel-sel  $\beta$  Langerhans kelenjar pankreas penderita rusak, sehingga tidak lagi dapat memproduksi insulin. Sebagai penggantinya, maka penderita DM Tipe 1 harus mendapat insulin eksogen untuk membantu agar metabolisme karbohidrat di dalam tubuhnya dapat berjalan normal. Walaupun sebagian besar penderita DM Tipe 2 tidak memerlukan terapi insulin, namun hampir 30% ternyata memerlukan terapi insulin disamping terapi hipoglikemik oral ((DiPiro, Talbert, Yee, Matzke, Wells, & Posey, 2005).

Berdasarkan mekanisme kerjanya, obat-obat hipoglikemik oral dapat dibagi menjadi tiga golongan (Dirjen Binfar Depkes, 2005), yaitu:

- a. Obat-obat yang meningkatkan sekresi insulin, meliputi obat hipoglikemik oral golongan sulfonilurea dan glinida (meglitinida dan turunan fenilalanin).
- b. Sensitiser insulin (obat-obat yang dapat meningkatkan sensitifitas sel terhadap insulin), meliputi obat-obat hipoglikemik golongan biguanida dan tiazolidindion, yang dapat membantu tubuh untuk memanfaatkan insulin secara lebih efektif.
- c. Penghambat katabolisme karbohidrat, antara lain penghambat  $\alpha$ -amilase dan  $\alpha$ -glukosidase yang bekerja menghambat absorpsi glukosa dan umum digunakan untuk mengendalikan hiperglikemia *post-prandial* (*post-meal hyperglycemia*).

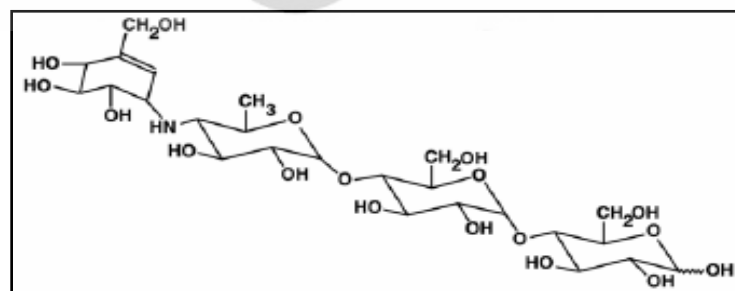
### 2.7 Enzim $\alpha$ -glukosidase

Enzim  $\alpha$ -glukosidase adalah enzim yang berperan pada 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. Proses pencernaan karbohidrat tersebut 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).

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

Obat yang termasuk penghambat enzim  $\alpha$ -glukosidase adalah Akarbose, Miglitol dan Voglibose. Di Indonesia Akarbose telah dipasarkan dengan nama dagang Glucobay<sup>®</sup> dan Eclid<sup>®</sup>. Akarbose adalah suatu oligosakarida yang diperoleh dari proses fermentasi mikroorganisme, *Actinoplanes utahensis*, dengan nama kimia *O*-4,6-dideoksi-4[[*(1S,4R,5S,6S)*-4,5,6-trihidroksi-3-(hidroksimetil)-2-sikloheks-en-1-il]amino]- $\alpha$ -D-glukopiranosil-(1 $\rightarrow$ 4)-*O*- $\alpha$ -D-glukopiranosil-(1 $\rightarrow$ 4)-D-glukosa. Akarbose merupakan serbuk berwarna putih dengan berat molekul 645,6, bersifat larut dalam air dan memiliki pKa 5,1. Rumus empiriknya adalah C<sub>25</sub>H<sub>43</sub>NO<sub>18</sub> (Bayer, 2008).



[Sumber: Bayer, 2008]

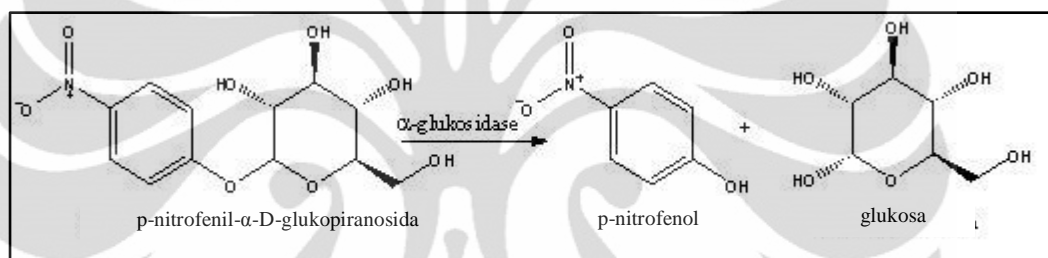
**Gambar 2.1. Struktur kimia Akarbose**



## 2.8 Uji aktivitas penghambatan enzim $\alpha$ -glukosidase

Pengujian aktivitas penghambatan enzim  $\alpha$ -glukosidase dapat dilakukan secara *in vivo* dan *in vitro*. Metode spektrofotometri banyak digunakan dalam pengujian *in vitro* dengan menggunakan substrat seperti p-nitrofenil- $\alpha$ -D-glukopiranosida (pNPG) (Matsumoto, Takemata, Takayama, Abesundara, Matsui, & Katayama, 2002).

Enzim  $\alpha$ -glukosidase akan menghidrolisis p-nitrofenil- $\alpha$ -D-glukopiranosida menjadi p-nitrofenol yang berwarna kuning dan glukosa. Aktivitas enzim diukur berdasarkan hasil absorbansi warna kuning p-nitrofenol (Sugiwati, Setiasih, & Afifah, 2009).



[Sumber: Sugiwati, Setiasih, & Afifah, 2009]

**Gambar 2.2. Reaksi p-nitrofenil- $\alpha$ -D-glukopiranosida dan enzim  $\alpha$ -glukosidase**

## 2.9 Mekanisme penghambatan kerja enzim

Substansi apapun yang dapat mengurangi kecepatan reaksi yang dikatalisis oleh enzim disebut sebagai penghambat (*inhibitor*). Penghambat *reversible* berikatan dengan enzim melalui ikatan nonkovalen. Pengenceran dari kompleks enzim-penghambat dapat melepaskan ikatan tersebut dan mengembalikan aktivitas enzim. Penghambatan *irreversible* terjadi ketika pada pengenceran kompleks enzim-penghambat, ikatan tidak dapat terlepas atau setelah pelepasan enzim yang dihambat tidak aktif kembali (Champe, Harvey, & Ferrier, 2005). Terdapat dua tipe penghambatan enzim *reversible* yang paling sering ditemui, yaitu:

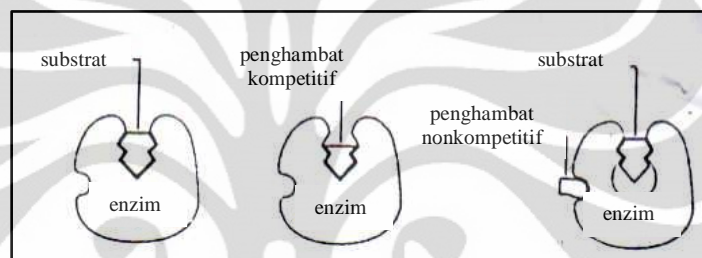
### a. Penghambatan Kompetitif

Tipe penghambatan ini terjadi ketika penghambat secara *reversible* berikatan dengan sisi aktif enzim dimana yang secara normal ditempati oleh

substrat. Penghambat bersaing dengan substrat untuk menempati sisi aktif enzim tersebut (Champe, Harvey, & Ferrier, 2005; Ophardt, 2003).

#### b. Penghambatan Nonkompetitif

Pada tipe penghambatan ini, penghambat tidak terikat pada sisi aktif enzim, tetapi terikat pada bagian lain dari enzim. Terikatnya penghambat pada enzim menyebabkan perubahan bentuk enzim yang mengakibatkan penurunan aktivitas enzim. Karena penghambat terikat pada sisi yang berbeda dari substrat, maka enzim dapat berikatan dengan penghambat dan substrat secara bersamaan (Champe, Harvey, & Ferrier, 2005; Ophardt, 2003).



[Sumber: McPherson & Pincus, 2007]

**Gambar 2.3. Perbedaan struktur penghambatan kompetitif dan nonkompetitif**

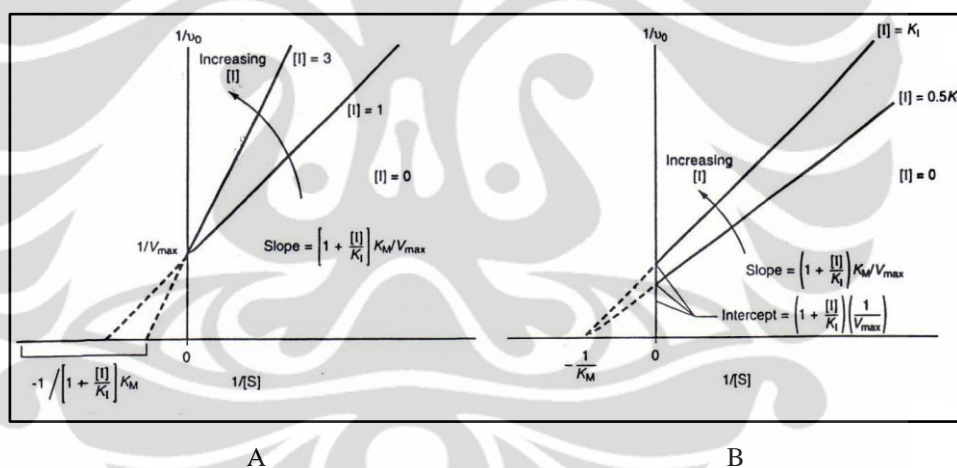
Selain penghambat kompetitif dan nonkompetitif, dikenal juga penghambat unkompetitif. Penghambat jenis ini tidak berikatan dengan enzim bebas, namun berikatan dengan enzim yang telah terikat dengan substrat. Tidak ada kompleks enzim-penghambat yang terbentuk. Ikatan dengan substrat menyebabkan perubahan konformasi yang membentuk tempat untuk ikatan dengan penghambat (McPherson & Pincus, 2007).

Mekanisme penghambatan kerja enzim  $\alpha$ -glukosidase dapat diperkirakan melalui penentuan kinetika penghambatan enzim. Penentuan kinetika meliputi penentuan nilai konstanta Michaelis-Menten ( $K_M$ ) dan plot Lineweaver-Burke. Konstanta Michaelis-Menten ( $K_M$ ) adalah karakteristik dari suatu enzim dan substratnya.  $K_M$  menunjukkan afinitas enzim untuk substrat. Nilai  $K_M$  sebanding dengan konsentrasi substrat. Sedangkan plot Lineweaver-Burke adalah plot kurva substrat-penghambat dan substrat-tanpa penghambat dengan  $1/[S]$  sebagai sumbu x dan  $1/v_o$  sebagai sumbu y. S adalah variasi konsentrasi substrat, sedangkan  $v_o$

adalah kecepatan inisial (*initial velocity*) atau kecepatan awal (Champe, Harvey, & Ferrier, 2005).

Penghambat kompetitif memiliki nilai  $K_M$  yang meningkat dan  $V_{max}$  (kecepatan maksimal) yang sama dibandingkan tanpa penghambat, sedangkan penghambat nonkompetitif memiliki nilai  $K_M$  yang sama dan  $V_{max}$  yang menurun dibandingkan dengan tanpa penghambat (Champe, Harvey, & Ferrier, 2005).

Perbedaan plot Lineweaver-Burke antara penghambat kompetitif dan nonkompetitif dapat dilihat pada Gambar 2.4. Kurva dari penghambat kompetitif dan kurva dari tanpa penghambat berpotongan di sumbu y. Sedangkan, kurva dari penghambat nonkompetitif dan kurva dari tanpa penghambat berpotongan di sumbu x.



[Sumber: McPherson & Pincus, 2007]

**Gambar 2.4. Plot Lineweaver-Burke penghambat kompetitif (A) dan penghambat nonkompetitif (B)**

## 2.10 Spektrofotometer UV-Vis (Harley & Wiberley, 1954)

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 (kecuali kalau dibiaskan atau dipantulkan) 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). Karena bersifat sebagai gelombang maka beberapa parameter perlu diketahui, misalnya panjang gelombang, frekuensi, bilangan gelombang dan serapan.

Spektrum serapan adalah hubungan antara serapan dengan panjang gelombang yang biasanya digambarkan dalam bentuk grafik. Untuk mengidentifikasi suatu zat pada daerah ultraviolet 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. Blangko 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.

Senyawa atau zat yang dapat diperiksa adalah yang memiliki ikatan rangkap terkonjugasi yang lebih dikenal dengan istilah kromofor. 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>, -NO<sub>2</sub>, -X.

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 blangko.

Spektrofotometer UV-Vis digunakan terutama untuk analisis kuantitatif, namun dapat juga digunakan untuk analisis kualitatif. Analisis kuantitatif dengan cara pembuatan kurva kalibrasi atau dengan menggunakan rumus Lambert-Beer. Analisis secara kualitatif dengan membandingkan  $\lambda$  maksimum, membandingkan serapan, daya serap, persen ekstingsi dan membandingkan spektrum serapannya.

Spektrum serapan dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu jenis pelarut, pH pelarut, kadar larutan, tebal larutan, dan lebar celah.



## BAB 3

### METODE PENELITIAN

#### 3.1 Waktu dan tempat

Penelitian dilakukan pada bulan Januari 2011 sampai dengan Mei 2011 di Laboratorium Penelitian Fitokimia dan Laboratorium KFA Kuantitatif Departemen Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia (FMIPA UI) Depok.

#### 3.2 Bahan

##### 3.2.1 Bahan uji

Simplisia yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun dan ranting *Beaumontia multiflora* Teijsm. & Binn., daun dan ranting *Carissa carandas* L., daun *Ochrosia citrodora* Lauterb. & K. Schum., daun dan ranting *Adina trichotoma* Zoll. & Moritzi., daun *Amaracarpus pubescens* Blume., daun *Canthium glabrum* Blume., daun *Chiococca javanica* Blume., daun dan ranting *Hydnophytum formicarum*, daun dan ranting *Nauclea calycina* (Bartl. ex DC.) Merr., dan daun *Posoqueria latifolia* (Lam.) Roem. & Schult. Simplisia-simplisia tersebut diperoleh dari Kebun Raya Bogor dan telah diidentifikasi oleh LIPI Kebun Raya Bogor.

##### 3.2.2 Bahan kimia

Enzim  $\alpha$ -glukosidase dari *Saccharomyces cerevisiae* (Sigma Aldrich, USA), p-nitrofenil- $\alpha$ -D-glukopiranosida (Sigma Aldrich, Swiss), akarbosa, *bovine serum albumin* (Merck, Jerman), dimetil sulfoksida (Merck, Jerman), natrium karbonat (Merck, Jerman), etanol (teknis), kalium dihidrogen fosfat (Merck, Jerman), natrium hidroksida (Univar, USA), asam klorida (Merck, Jerman), iodium, kalium iodida, raksa (II) klorida, bismut nitrat (Merck, Jerman), asam nitrat (Merck, Jerman), metanol (Merck, Jerman), etil asetat (teknis), sebuk seng (Merck, Jerman), serbuk magnesium (Merck, Jerman), serbuk asam borat (Merck, Jerman), serbuk asam oksalat (Merck, Jerman), eter (teknis), asam sulfat (Merck,

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

### 3.3 Alat

Alat refluks, spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu 265, Jepang), kuvet kuarsa (Merck, Jerman), pipet mikro (Eppendorf, Jerman; Socorex, Swiss), *shakingbath incubator* (Lab-line), oven vakum (Hotpack Vacuum Oven), *vortex* (VM 2000), timbangan analitik (Acculab), blender (Phillips), penguap vakum putar (Janke & Kunkel IKA, Jerman), pH meter (Eutech pH-510), penangas air, lemari pendingin (Panasonic), labu Erlenmeyer (Pyrex), cawan penguap (Jangkar), *beaker glass* (Pyrex), labu takar (Duran dan Pyrex), gelas ukur (Pyrex), plat tetes (Jangkar), pipet volume (Duran), botol vial, termometer, tabung reaksi dan alat-alat gelas lain.

### 3.4 Cara kerja

Cara kerja penelitian ini terdiri dari beberapa tahap yaitu penyiapan bahan uji, ekstraksi, identifikasi golongan senyawa kimia meliputi identifikasi alkaloid, flavonoid, terpenoid/ sterol, tanin, glikosida, saponin, dan antrakuinon, uji pendahuluan meliputi optimasi konsentrasi enzim  $\alpha$ -glukosidase dan optimasi konsentrasi substrat (p-nitrofenil- $\alpha$ -D-glukopiranosida), uji aktivitas penghambatan  $\alpha$ -glukosidase, dan penentuan kinetika penghambatan enzim  $\alpha$ -glukosidase.

#### 3.4.1 Penyiapan bahan uji

Penyiapan bahan uji terdiri dari proses sebagai berikut:

##### 3.4.1.1 Pengumpulan bahan baku

Tanaman yang digunakan diperoleh dari Kebun Raya Bogor.

#### 3.4.1.2 Sortasi basah dan pencucian

Bagian tanaman dipilih sesuai dengan yang digunakan dalam penelitian ini kemudian dibersihkan dari kotoran dengan dicuci air mengalir.

#### 3.4.1.3 Perajangan

Bagian tanaman yang telah bersih dirajang atau diperkecil ukurannya untuk mempermudah proses pengeringan.

#### 3.4.1.4 Pengeringan

Bagian tanaman dikeringkan di udara terbuka kemudian dioven pada suhu kurang dari 40°C. Berat bagian tanaman ditimbang sebelum dan sesudah dikeringkan untuk mengetahui penyusutan berat.

#### 3.4.1.5 Pembuatan serbuk

Bagian tanaman yang telah kering dibuat serbuk dengan menggunakan blender.

#### 3.4.2 Ekstraksi

Masing-masing 20 gram serbuk simplisia diekstraksi menggunakan pelarut etanol 80% dengan cara direfluks selama satu jam, kemudian ekstrak yang didapat dipisahkan filtrat dan ampasnya. Ampasnya diekstraksi kembali dengan pelarut dan cara yang sama seperti sebelumnya, proses ini diulangi sebanyak dua kali. Filtrat-filtrat yang didapat digabungkan, kemudian diuapkan pelarutnya di atas penangas air hingga menjadi ekstrak kental.

#### 3.4.3 Identifikasi golongan senyawa kimia

##### 3.4.3.1 Identifikasi alkaloid (Depkes RI, 1995b)

Beberapa miligram ekstrak kental dilarutkan dalam 10 mL campuran air suling dan asam klorida 2 N (9:1), kemudian dipanaskan selama 2 menit di atas penangas air. Selanjutnya didinginkan dan disaring. Filtrat yang didapatkan digunakan sebagai larutan percobaan yang selanjutnya dilakukan sebagai berikut:



- a. larutan percobaan diambil 1 mL kemudian ditambahkan 2 tetes Bouchardat LP, hasil positif dengan terbentuknya endapan coklat hitam,
- b. larutan percobaan diambil 1 mL kemudian ditambahkan 2 tetes Mayer LP, hasil positif dengan terbentuknya endapan putih,
- c. larutan percobaan diambil 1 mL kemudian ditambahkan 2 tetes Dragendorf LP, hasil positif dengan terbentuknya endapan jingga coklat.

#### 3.4.3.2 Identifikasi flavonoid (Depkes RI, 1995b)

Beberapa milligram ekstrak kental dilarutkan dalam 5 mL etil asetat dan disaring. Filtrat yang didapatkan dibagi menjadi tiga bagian kemudian masing-masing diuapkan hingga kering. Filtrat yang telah kering masing-masing dilakukan percobaan sebagai berikut:

- a. dilarutkan dalam 1-2 mL etanol 95%, kemudian ditambahkan 0,5 gram serbuk seng P dan 2 mL asam klorida 2 N. Setelah didiamkan selama 1 menit, campuran ditambahkan 10 tetes asam klorida pekat P, jika dalam waktu 2 sampai 5 menit terjadi warna merah intensif, menunjukkan adanya flavonoid (glikosida-3-flavonol),
- b. dilarutkan dalam 1 mL etanol 95%, kemudian ditambahkan 0,1 gram serbuk magnesium P dan 10 tetes asam klorida pekat. Jika terjadi warna merah jingga sampai merah ungu menunjukkan adanya flavonoid. Jika warna kuning jingga menunjukkan adanya flavon, kalkon dan auron,
- c. dibasahkan dengan aseton, kemudian ditambahkan sedikit serbuk halus asam borat P dan serbuk halus asam oksalat P, dipanaskan hati-hati di atas penangas air. Sisa yang didapatkan dicampur dengan 10 mL eter P. Amati dengan sinar ultraviolet 366 nm; larutan berfluoresensi kuning intensif menunjukkan adanya flavonoid.

#### 3.4.3.3 Identifikasi terpenoid (Farnsworth, 1966)

Beberapa miligram ekstrak kental ditambahkan 5 mL eter, kemudian disaring dan diuapkan di dalam cawan penguap hingga kering, ke dalam residu ditambahkan 10 tetes asam asetat anhidrat dan 5 tetes asam sulfat pekat. Hasil positif ditunjukkan oleh terbentuknya warna merah-violet-biru.

#### 3.4.3.4 Identifikasi tanin (Farnsworth, 1966; Trease, 1961)

Beberapa miligram ekstrak kental dilarutkan dalam 10 mL air suling dan dipanaskan hingga mendidih selama 5 menit. Kemudian larutan didinginkan dan disaring. Filtrat sebanyak masing-masing 1 mL dikerjakan sebagai berikut:

- a. ditambahkan 2 tetes larutan gelatin 10%, hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya endapan putih,
- b. ditambahkan 2 tetes larutan besi (III) klorida 1%, hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna hijau violet,
- c. ditambahkan 3 tetes larutan natrium klorida-gelatin (larutan gelatin 1% dalam larutan natrium klorida 10%), hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya endapan.

#### 3.4.3.5 Identifikasi glikosida (Depkes RI, 1995b)

Larutan percobaan dibuat dengan melarutkan beberapa miligram ekstrak kental dengan 15 mL asam klorida 10%, kemudian dipanaskan hingga mendidih selama 10 menit. Setelah dingin, larutan disaring dan filtrat yang didapatkan disari dengan 5 mL eter sebanyak tiga kali. Pada kumpulan sari ditambahkan natrium sulfat anhidrat P, kemudian disaring dan diuapkan pada suhu tidak lebih dari 50°C. Sisa dilarutkan dengan 2 mL metanol P dan diuapkan lagi hingga kering. Sisa yang didapatkan dibagi dua dan masing-masing diperlakukan sebagai berikut:

- a. ditambahkan 10 tetes asam asetat anhidrat P, kemudian ditambahkan 5 tetes asam sulfat P; terjadinya warna biru atau hijau menunjukkan adanya glikosida (reaksi Liebermann Burchard),
- b. ditambahkan 1 mL air dan 5 tetes Molish LP, selanjutnya ditambahkan hati-hati 1 mL asam sulfat P; terbentuk cincin berwarna ungu pada batas cairan, menunjukkan adanya ikatan gula (reaksi Molisch).

#### 3.4.3.6 Identifikasi saponin (Depkes RI, 1995b)

Beberapa miligram ekstrak kental ditambahkan 10 mL air suling panas, kemudian didinginkan dan dikocok kuat-kuat selama 10 detik. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya buih yang mantap selama tidak kurang dari

10 menit, setinggi 1 cm sampai 10 cm. Pada penambahan 1 tetes asam klorida 2 N, buih tidak hilang.

#### 3.4.3.7 Identifikasi antrakuinon (Depkes RI, 1995b)

Beberapa miligram ekstrak kental dilarutkan dengan 5 mL asam sulfat 2 N, dipanaskan sebentar kemudian didinginkan. Selanjutnya ditambahkan 10 mL *wash benzene* P, dikocok, dan didiamkan. Lapisan *wash benzene* dipisahkan, disaring, filtrat berwarna kuning menunjukkan adanya antrakuinon. Lapisan *wash benzene* dikocok dengan 1 mL sampai 2 mL natrium hidroksida 2 N, kemudian didiamkan, lapisan air akan berwarna merah intensif dan lapisan *wash benzene* tidak berwarna.

### 3.4.4 Penyiapan bahan kimia

#### 3.4.4.1 Pembuatan larutan dapar fosfat pH 6,8

Larutan kalium dihidrogen fosfat 0,2 M sebanyak 250,0 mL dicampur dengan larutan natrium hidroksida 0,2 N sebanyak 112,0 mL, kemudian diencerkan dengan air suling bebas CO<sub>2</sub> hingga volume 1000 mL.

#### 3.4.4.2 Penyiapan larutan substrat

Larutan substrat dibuat dengan melarutkan 60,25 mg p-nitrofenil- $\alpha$ -D-glukopiranosida (pNPG) dalam 10 mL dapar fosfat pH 6,8 hingga diperoleh konsentrasi substrat 20 mM. Larutan substrat 20 mM tersebut selanjutnya diencerkan hingga mencapai konsentrasi 10 mM, 5 mM, 2,5 mM, 1,25 mM, 0,625 mM, dan 0,3125 mM.

#### 3.4.4.3 Penyiapan larutan enzim

Larutan induk enzim dibuat dengan melarutkan 100 Unit enzim  $\alpha$ -glukosidase dalam 100 mL dapar fosfat pH 6,8 yang mengandung 200 mg bovine serum albumin. Sebelum digunakan larutan induk enzim diencerkan hingga mencapai konsentrasi 0,3 U/mL, 0,15 U/mL, 0,075 U/mL, dan 0,0375 U/mL.

### 3.4.5 Uji pendahuluan

#### 3.4.5.1 Optimasi konsentrasi enzim $\alpha$ -glukosidase

Larutan dimetil sulfoksida (DMSO) sebanyak 10  $\mu$ L ditambahkan 490  $\mu$ L larutan dapar fosfat pH 6,8 dan 250  $\mu$ L p-nitrofenil- $\alpha$ -D-glukopiranosida (pNPG) 20 mM, campuran diinkubasi selama 5 menit pada suhu 37°C. Setelah inkubasi, ke dalam campuran ditambahkan 250  $\mu$ L larutan enzim dengan konsentrasi 0,3 U/mL, campuran diinkubasi kembali selama 15 menit pada suhu 37°C. Reaksi dihentikan dengan penambahan 2000  $\mu$ L natrium karbonat ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) 200 mM. Campuran diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 400 nm. Percobaan diulangi dengan mengganti konsentrasi p-nitrofenil- $\alpha$ -D-glukopiranosida (pNPG) menjadi 10 mM dan mengganti konsentrasi larutan enzim  $\alpha$ -glukosidase menjadi 0,15 U/mL, 0,075 U/mL, dan 0,0375 U/mL.

Larutan kontrol dibuat dengan mencampurkan 10  $\mu$ L larutan dimetil sulfoksida (DMSO), 490  $\mu$ L larutan dapar fosfat pH 6,8 dan 250  $\mu$ L p-nitrofenil- $\alpha$ -D-glukopiranosida (pNPG) 20 mM. Kemudian campuran diinkubasi selama 5 menit pada suhu 37°C. Setelah inkubasi, ke dalam campuran ditambahkan 2000  $\mu$ L natrium karbonat ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) 200 mM, campuran diinkubasi kembali selama 15 menit pada suhu 37°C. Selanjutnya campuran ditambahkan larutan enzim dengan konsentrasi 0,3 U/mL sebanyak 250  $\mu$ L. Campuran diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 400 nm. Pembuatan kontrol diulangi dengan mengganti konsentrasi p-nitrofenil- $\alpha$ -D-glukopiranosida (pNPG) menjadi 10 mM dan mengganti konsentrasi enzim  $\alpha$ -glukosidase menjadi 0,15 U/mL, 0,075 U/mL, dan 0,0375 U/mL.

#### 3.4.5.2 Optimasi konsentrasi substrat (p-nitrofenil- $\alpha$ -D-glukopiranosida)

Larutan dimetil sulfoksida (DMSO) sebanyak 10  $\mu$ L ditambahkan 490  $\mu$ L larutan dapar fosfat pH 6,8 dan 250  $\mu$ L p-nitrofenil- $\alpha$ -D-glukopiranosida (pNPG) 20 mM, campuran diinkubasi selama 5 menit pada suhu 37°C. Setelah inkubasi, ke dalam campuran ditambahkan 250  $\mu$ L larutan enzim dengan konsentrasi optimumnya, campuran diinkubasi kembali selama 15 menit pada suhu 37°C. Reaksi dihentikan dengan penambahan 2000  $\mu$ L natrium karbonat ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ )

200 mM. Campuran diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 400 nm. Percobaan diulangi dengan mengganti konsentrasi p-nitrofenil- $\alpha$ -D-glukopiranosida (pNPG) menjadi 10 mM, 5 mM, 2,5 mM, 1,25 mM, 0,625 mM, dan 0,3125 mM.

Larutan kontrol dibuat dengan mencampurkan 10  $\mu$ L larutan dimetil sulfoksida (DMSO), 490  $\mu$ L larutan dapar fosfat pH 6,8 dan 250  $\mu$ L p-nitrofenil- $\alpha$ -D-glukopiranosida (pNPG) 20 mM. Kemudian campuran diinkubasi selama 5 menit pada suhu 37°C. Setelah inkubasi, ke dalam campuran ditambahkan 2000  $\mu$ L natrium karbonat ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) 200 mM, campuran diinkubasi kembali selama 15 menit pada suhu 37°C. Selanjutnya campuran ditambahkan larutan enzim dengan konsentrasi optimumnya sebanyak 250  $\mu$ L. Campuran diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 400 nm. Pembuatan kontrol diulangi dengan mengganti konsentrasi p-nitrofenil- $\alpha$ -D-glukopiranosida (pNPG) menjadi 10 mM, 5 mM, 2,5 mM, 1,25 mM, 0,625 mM, dan 0,3125 mM.

#### 3.4.5.3 Perhitungan aktivitas enzim $\alpha$ -glukosidase

Aktivitas enzim  $\alpha$ -glukosidase dapat dihitung menggunakan rumus (Sigma, 1996):

$$\text{Volume aktivitas (U/mL)} = \frac{A_s - A_o \times V_c \text{ (mL)} \times df}{18,3 \times V_e \text{ (mL)} \times t \text{ (menit)}} \quad (3.1)$$

$$\text{Aktivitas berat (U/mg protein)} = (\text{U/mL}) \times \text{mg protein/ mL enzim} \quad (3.2)$$

keterangan:

$A_s$  = absorbansi larutan uji

$A_o$  = absorbansi blangko

$V_c$  = volume total campuran

df = faktor pengenceran

18,3 = milimolar koefisien ekstingsi PNP dalam kondisi penetapan kadar ( $\text{cm}^2/\mu\text{mol}$ )

$V_e$  = volume larutan enzim

t = waktu inkubasi

### 3.4.6 Uji aktivitas penghambatan enzim $\alpha$ -glukosidase (Dewi et al., 2007)

#### 3.4.6.2 Pengujian kontrol blangko ( $B_0$ )

Larutan dimetil sulfoksida (DMSO) sebanyak 10  $\mu$ L ditambahkan 490  $\mu$ L larutan dapar fosfat pH 6,8 dan 250  $\mu$ L p-nitrofenil- $\alpha$ -D-glukopiranosida (pNPG) dengan konsentrasi optimumnya, campuran diinkubasi selama 5 menit pada suhu 37°C. Setelah inkubasi, ke dalam campuran ditambahkan 2000  $\mu$ L natrium karbonat ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) 200 mM, campuran diinkubasi kembali selama 15 menit pada suhu 37°C. Selanjutnya campuran ditambahkan larutan enzim dengan konsentrasi optimumnya sebanyak 250  $\mu$ L. Campuran diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 400 nm.

#### 3.4.6.3 Pengujian blangko ( $B_1$ )

Larutan dimetil sulfoksida (DMSO) sebanyak 10  $\mu$ L ditambahkan 490  $\mu$ L larutan dapar fosfat pH 6,8 dan 250  $\mu$ L p-nitrofenil- $\alpha$ -D-glukopiranosida (pNPG) dengan konsentrasi optimumnya, campuran diinkubasi selama 5 menit pada suhu 37°C. Setelah inkubasi, ke dalam campuran ditambahkan 250  $\mu$ L larutan enzim dengan konsentrasi optimumnya, campuran diinkubasi kembali selama 15 menit pada suhu 37°C. Reaksi dihentikan dengan penambahan 2000  $\mu$ L natrium karbonat ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) 200 mM. Campuran diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 400 nm.

#### 3.4.6.4 Pengujian aktivitas penghambatan $\alpha$ -glukosidase oleh akkarbose

##### a. Penyiapan larutan akkarbose

Akarbose ditimbang sebanyak 100,0 mg dan dilarutkan dalam 10,0 mL dapar fosfat pH 6,8 hingga diperoleh konsentrasi 1%. Larutan akkarbose 1% dipipet 5,0 mL dan dimasukkan ke dalam labu takar 5,0 mL. Kemudian volume labu takar dicukupkan dengan dapar fosfat pH 6,8 hingga diperoleh konsentrasi larutan akkarbose 0,5%, demikian selanjutnya hingga diperoleh konsentrasi larutan akkarbose 0,25% dan 0,125%.

b. Pengujian kontrol larutan akarbose

Larutan akarbose sebanyak 10  $\mu\text{L}$  ditambahkan 490  $\mu\text{L}$  larutan dapar fosfat pH 6,8 dan 250  $\mu\text{L}$  p-nitrofenil- $\alpha$ -D-glukopiranosida (pNPG) dengan konsentrasi optimumnya, campuran diinkubasi selama 5 menit pada suhu 37°C. Setelah inkubasi, ke dalam campuran ditambahkan 2000  $\mu\text{L}$  natrium karbonat ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) 200 mM, campuran diinkubasi kembali selama 15 menit pada suhu 37°C. Selanjutnya campuran ditambahkan larutan enzim dengan konsentrasi optimumnya sebanyak 250  $\mu\text{L}$ . Campuran diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 400 nm.

c. Pengujian larutan akarbose

Larutan akarbose sebanyak 10  $\mu\text{L}$  ditambahkan 490  $\mu\text{L}$  larutan dapar fosfat pH 6,8 dan 250  $\mu\text{L}$  p-nitrofenil- $\alpha$ -D-glukopiranosida (pNPG) dengan konsentrasi optimumnya, campuran diinkubasi selama 5 menit pada suhu 37°C. Setelah inkubasi, ke dalam campuran ditambahkan 250  $\mu\text{L}$  larutan enzim dengan konsentrasi optimumnya, campuran diinkubasi kembali selama 15 menit pada suhu 37°C. Reaksi dihentikan dengan penambahan 2000  $\mu\text{L}$  natrium karbonat ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) 200 mM. Campuran diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 400 nm.

#### 3.4.5.4 Pengujian aktivitas penghambatan $\alpha$ -glukosidase oleh sampel

a. Penyiapan sampel

Ekstrak kental ditimbang sebanyak 100,0 mg dan dilarutkan dalam 10,0 mL dapar fosfat pH 6,8 hingga diperoleh konsentrasi 1%. Larutan ekstrak 1% dipipet 5,0 mL dan dimasukkan ke dalam labu takar 5,0 mL. Kemudian volume labu takar dicukupkan dengan dapar fosfat pH 6,8 hingga diperoleh konsentrasi larutan ekstrak 0,5%, demikian selanjutnya hingga diperoleh konsentrasi larutan ekstrak 0,25% dan 0,125%.

b. Pengujian kontrol sampel ( $S_0$ )

Larutan ekstrak sebanyak 10  $\mu\text{L}$  ditambahkan 490  $\mu\text{L}$  larutan dapar fosfat pH 6,8 dan 250  $\mu\text{L}$  p-nitrofenil- $\alpha$ -D-glukopiranosida (pNPG) dengan konsentrasi

optimumnya, campuran diinkubasi selama 5 menit pada suhu 37°C. Setelah inkubasi, ke dalam campuran ditambahkan 2000 µL natrium karbonat (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) 200 mM, campuran diinkubasi kembali selama 15 menit pada suhu 37°C. Selanjutnya campuran ditambahkan larutan enzim dengan konsentrasi optimumnya sebanyak 250 µL. Campuran diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 400 nm.

c. Pengujian sampel (S<sub>1</sub>)

Larutan ekstrak sebanyak 10 µL ditambahkan 490 µL larutan dapar fosfat pH 6,8 dan 250 µL p-nitrofenil-α-D-glukopiranosida (pNPG) dengan konsentrasi optimumnya, campuran diinkubasi selama 5 menit pada suhu 37°C. Setelah inkubasi, ke dalam campuran ditambahkan 250 µL larutan enzim dengan konsentrasi optimumnya, campuran diinkubasi kembali selama 15 menit pada suhu 37°C. Reaksi dihentikan dengan penambahan 2000 µL natrium karbonat (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) 200 mM. Campuran diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 400 nm.

d. Perhitungan persen penghambatan (% *Inhibition*) dan IC<sub>50</sub>

Persen penghambatan (% *inhibition*) dihitung dengan rumus:

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

keterangan:

B = absorbansi blangko dikurangi absorbansi kontrol blangko (B<sub>1</sub>-B<sub>0</sub>)

S = absorbansi sampel dikurangi absorbansi kontrol sampel (S<sub>1</sub>-S<sub>0</sub>)

IC<sub>50</sub> dihitung dengan menggunakan persamaan regresi linear, konsentrasi sampel sebagai sumbu x dan persen penghambatan (% *inhibition*) sebagai sumbu y. Dari persamaan  $y = a + bx$  dapat dihitung nilai IC<sub>50</sub> dengan menggunakan rumus:

$$IC_{50} = \frac{50 - a}{b} \quad (3.4)$$



### 3.4.7 Penentuan kinetika penghambatan enzim $\alpha$ -glukosidase (Dewi et al., 2007)

#### 3.4.7.1 Pengujian blangko dengan berbagai konsentrasi substrat

Larutan dimetil sulfoksida (DMSO) sebanyak 10  $\mu$ L ditambahkan 490  $\mu$ L larutan dapar fosfat pH 6,8 dan 250  $\mu$ L p-nitrofenil- $\alpha$ -D-glukopiranosida (pNPG) 20 mM, campuran diinkubasi selama 5 menit pada suhu 37°C. Setelah inkubasi, ke dalam campuran ditambahkan 250  $\mu$ L larutan enzim dengan konsentrasi optimumnya, campuran diinkubasi kembali selama 15 menit pada suhu 37°C. Reaksi dihentikan dengan penambahan 2000  $\mu$ L natrium karbonat ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) 200 mM. Campuran diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 400 nm. Percobaan diulangi dengan mengganti konsentrasi p-nitrofenil- $\alpha$ -D-glukopiranosida (pNPG) menjadi 10 mM, 5 mM, 2,5 mM, dan 1,25 mM.

Larutan kontrol dibuat dengan mencampurkan 10  $\mu$ L larutan dimetil sulfoksida (DMSO), 490  $\mu$ L larutan dapar fosfat pH 6,8 dan 250  $\mu$ L p-nitrofenil- $\alpha$ -D-glukopiranosida (pNPG) 20 mM. Kemudian campuran diinkubasi selama 5 menit pada suhu 37°C. Setelah inkubasi, ke dalam campuran ditambahkan 2000  $\mu$ L natrium karbonat ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) 200 mM, campuran diinkubasi kembali selama 15 menit pada suhu 37°C. Selanjutnya campuran ditambahkan larutan enzim dengan konsentrasi optimumnya sebanyak 250  $\mu$ L. Campuran diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 400 nm. Pembuatan kontrol diulangi dengan mengganti konsentrasi p-nitrofenil- $\alpha$ -D-glukopiranosida (pNPG) menjadi 10 mM, 5 mM, 2,5 mM, dan 1,25 mM.

#### 3.4.7.2 Pengujian sampel dengan berbagai konsentrasi substrat

Larutan ekstrak sebanyak 10  $\mu$ L ditambahkan 490  $\mu$ L larutan dapar fosfat pH 6,8 dan 250  $\mu$ L p-nitrofenil- $\alpha$ -D-glukopiranosida (pNPG) 20 mM, campuran diinkubasi selama 5 menit pada suhu 37°C. Setelah inkubasi, ke dalam campuran ditambahkan 250  $\mu$ L larutan enzim dengan konsentrasi optimumnya, campuran diinkubasi kembali selama 15 menit pada suhu 37°C. Reaksi dihentikan dengan penambahan 2000  $\mu$ L natrium karbonat ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) 200 mM. Campuran diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang

400 nm. Percobaan diulangi dengan mengganti konsentrasi p-nitrofenil- $\alpha$ -D-glukopiranosida (pNPG) menjadi 10 mM, 5 mM, 2,5 mM, dan 1,25 mM.

Larutan kontrol dibuat dengan mencampurkan 10  $\mu$ L larutan ekstrak, 490  $\mu$ L larutan dapar fosfat pH 6,8 dan 250  $\mu$ L p-nitrofenil- $\alpha$ -D-glukopiranosida (pNPG) 20 mM. Kemudian campuran diinkubasi selama 5 menit pada suhu 37°C. Setelah inkubasi, ke dalam campuran ditambahkan 2000  $\mu$ L natrium karbonat ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) 200 mM, campuran diinkubasi kembali selama 15 menit pada suhu 37°C. Selanjutnya campuran ditambahkan larutan enzim dengan konsentrasi optimumnya sebanyak 250  $\mu$ L. Campuran diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 400 nm. Pembuatan kontrol diulangi dengan mengganti konsentrasi p-nitrofenil- $\alpha$ -D-glukopiranosida (pNPG) menjadi 10 mM, 5 mM, 2,5 mM, dan 1,25 mM.

#### 3.4.7.3 Analisis data kinetika

Data serapan dari pengujian blangko dan sampel dengan berbagai konsentrasi substrat p-nitrofenil- $\alpha$ -D-glukopiranosida (pNPG) dianalisis menggunakan metode Lineweaver-Burk untuk memperoleh plot kurva Lineweaver-Burk dan konstanta Michaelis-Menten ( $K_M$ ). Konstanta Michaelis-Menten ( $K_M$ ) dihitung berdasarkan persamaan regresi  $y = a + bx$ , dimana x adalah jumlah substrat dan y adalah absorbansi sampel:

$$y = 0 \rightarrow x = -1/K_M \quad (3.5)$$

$$y = a + bx \rightarrow 0 = a + b (-1/K_M) \rightarrow K_M = b/a \quad (3.6)$$

$$x = 0 \rightarrow y = 1/V_{\max} \quad (3.7)$$

$$y = a + bx \rightarrow 1/V_{\max} = a + b (0) \rightarrow V_{\max} = 1/a \quad (3.8)$$

Hasil plot kurva Lineweaver-Burk dan konstanta Michaelis-Menten ( $K_M$ ) kemudian digunakan untuk menentukan jenis mekanisme sampel dalam menghambat enzim  $\alpha$ -glukosidase.

## BAB 4

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 4.1. Penyiapan bahan uji

Pendekatan dalam pengujian aktivitas atau potensi senyawa bioaktif tanaman ada beberapa macam, salah satunya adalah pendekatan penapisan fitokimia langsung (*phytochemistry directed screening approaches*). Pendekatan ini dilakukan pada tanaman dengan genus atau famili yang sama dengan tanaman yang sudah terbukti secara ilmiah aktivitasnya. Tanaman-tanaman dengan famili yang sama umumnya memiliki kandungan kimia yang hampir sama, sehingga dapat saja memiliki potensi yang sama untuk pengobatan suatu penyakit (de Padua, Bunyapiaphatsara, & Lemmens, 1999). Pendekatan inilah yang digunakan dalam penelitian ini dalam memilih tanaman-tanaman yang digunakan. Pada famili Apocynaceae dan Rubiaceae, beberapa spesies anggotanya telah terbukti secara ilmiah memiliki aktivitas antidiabetes, sehingga bisa jadi spesies lain dari kedua famili ini memiliki aktivitas antidiabetes juga.

Tanaman yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari Kebun Raya Bogor. Tanaman yang diperoleh terlebih dahulu disortasi basah, dipilih bagian-bagian yang digunakan dalam penelitian ini. Selanjutnya bagian-bagian tanaman tersebut dibersihkan dari pengotor seperti debu dan tanah dengan dicuci air mengalir hingga bersih. Bagian ranting tanaman yang telah bersih kemudian dirajang atau diperkecil ukurannya. Hal ini dilakukan untuk mempermudah proses pengeringan dan pembuatan serbuk. Sedangkan, bagian daun tanaman dikeringkan utuh tanpa dirajang.

Pengeringan dilakukan dengan diangin-anginkan di udara terbuka selama kurang lebih dua minggu. Bagian tanaman yang telah cukup kering kemudian dioven pada suhu 40°C untuk menyempurnakan pengeringannya. Suhu yang digunakan tidak boleh terlalu tinggi karena dapat merusak bagian tanaman tersebut. Berat bagian tanaman ditimbang sebelum dan sesudah dikeringkan untuk mengetahui penyusutan berat. Susut pengeringan bagian tanaman dapat dilihat

pada Tabel 4.1. Selanjutnya bagian tanaman yang telah kering dibuat serbuk dengan menggunakan blender.

#### 4.2. Ekstraksi

Bagian tanaman atau simplisia yang telah menjadi serbuk diekstraksi dengan menggunakan refluks. Pelarut yang digunakan adalah etanol 80%. Etanol dipilih karena etanol merupakan pelarut yang mampu mengekstraksi hampir semua kandungan kimia alam yang memiliki bobot molekul rendah (Samuelsson, 1999). Etanol juga tidak toksik, ekonomis, dan mudah menguap. Hal tersebut memenuhi persyaratan pelarut yang ideal. Pencampuran etanol dengan air sebagai pelarut dalam ekstraksi dapat menginduksi *swelling* partikel-partikel tanaman dan meningkatkan porositas dari dinding sel yang memfasilitasi difusi kandungan kimia yang terekstraksi dari dalam sel ke dalam pelarut (Samuelsson, 1999). Perbandingan etanol dan air yang biasa digunakan untuk ekstraksi adalah 7:3 dan 8:2. Perbandingan 8:2 atau etanol 80% dipilih karena lebih mudah menguap daripada perbandingan 7:3. Pelarut yang lebih mudah menguap bertujuan untuk mempersingkat waktu dalam pembuatan ekstrak kental dari simplisia karena cukup banyaknya simplisia yang dikerjakan dalam penelitian ini.

Serbuk simplisia sebanyak masing-masing 20 gram direfluks selama satu jam, kemudian ekstrak yang didapat dipisahkan filtrat dan ampasnya dengan penyaringan. Kemudian ampasnya diekstraksi kembali dengan pelarut dan cara yang sama seperti sebelumnya, proses ini diulangi sebanyak dua kali. Hal tersebut untuk memaksimalkan penarikan kandungan kimia dari simplisia. Filtrat-filtrat yang didapat digabungkan, kemudian diuapkan pelarutnya di atas penangas air dengan suhu tidak lebih dari 50°C hingga menjadi ekstrak kental. Ekstrak yang diperoleh kemudian ditimbang untuk menghitung rendemennya. Rendemen ekstrak dapat dilihat pada Tabel 4.2. Ekstrak kental disimpan dalam lemari pendingin.

#### 4.3 Identifikasi golongan senyawa kimia

Identifikasi golongan alkaloid dilakukan dengan penambahan pereaksi Bouchardat LP, Mayer LP, dan Dragendorff LP pada ekstrak kental simplisia yang

terlebih dahulu dilarutkan dalam campuran air suling dan asam klorida. Senyawa alkaloid umumnya ditemukan di dalam tanaman dalam bentuk garam yang bersifat larut air atau bentuk basa, sehingga golongan senyawa ini dapat ditarik dengan pelarut air dalam suasana asam (Farnsworth, 1966).

Pengamatan hasil identifikasi golongan alkaloid adalah melalui endapan yang terbentuk. Cukup banyak ekstrak yang memberikan hasil positif pada reaksi pengendapan dengan Bouchardat LP dan Dragendorf LP. Namun, hanya tiga simplisia yang memberikan hasil positif dengan Mayer LP, yaitu ekstrak daun *Hydnophytum formicarum*, ekstrak daun *Beaumontia multiflora* Teijsm. & Binn., dan ekstrak daun *Ochrosia citrodora* Lauterb. & K. Schum. Hampir semua simplisia daun dari famili Rubiaceae pada penelitian ini menunjukkan hasil positif pada identifikasi ini, hanya ekstrak daun *Nauclea calycina* (Bartl. ex DC.) Merr. saja yang tidak. Hal ini sesuai dengan literatur yang menyebutkan bahwa famili Rubiaceae umumnya mengandung alkaloid (de Padua, Bunyapiaphatsara, & Lemmens, 1999).

Identifikasi golongan flavonoid dilakukan dengan terlebih dahulu melarutkan ekstrak kental dalam etil asetat. Identifikasi dilakukan dengan penambahan serbuk seng dan serbuk magnesium yang dapat membentuk kompleks senyawa yang memberikan warna pada hasil positif. Warna yang diberikan bervariasi dari jingga sampai merah (flavon), merah sampai merah tua (flavanol), merah tua sampai ungu (flavanon), dan sesekali hijau atau biru (Farnsworth, 1966). Identifikasi lain dengan penambahan serbuk asam borat dan asam oksalat. Hasil positif flavonoid ditunjukkan dengan pembentukan senyawa kompleks oksalo-borat yang berfluoresensi kuning intensif di bawah sinar ultraviolet 366 nm.

Dari kelima belas simplisia yang digunakan dalam penelitian ini, hanya satu ekstrak yang memberikan hasil positif terhadap reaksi-reaksi identifikasi flavonoid. Ekstrak tersebut adalah ekstrak daun *Amaracarpus pubescens* Blume. Simplisia tersebut memberikan warna merah pada reaksi dengan serbuk magnesium, serta memberikan fluoresensi kuning intensif di bawah sinar ultraviolet setelah direaksikan dengan serbuk asam borat dan asam oksalat. Sedangkan, reaksi dengan serbuk sengnya tidak memberikan warna.

Peneliti mencoba cara identifikasi lain, yaitu dengan penyemprotan dengan aluminium klorida 5%. Ekstrak kental terlebih dahulu dilarutkan dalam etanol, kemudian ditotolkan pada kertas kromatografi dengan pipa kapiler dan diamati fluoresensinya di bawah sinar ultraviolet. Selanjutnya dilakukan penyemprotan dengan aluminium klorida 5% dan diamati lagi fluoresensinya di bawah sinar ultraviolet. Hasil positif ditunjukkan dengan fluoresensi warna kuning hijau (Harborne, 1987). Kuersetin digunakan sebagai blangko positif dalam reaksi identifikasi ini. Cukup banyak ekstrak yang memberikan hasil positif terhadap reaksi ini sehingga reaksi identifikasi ini yang dijadikan dasar oleh peneliti dalam menyimpulkan ada atau tidaknya flavonoid dalam ekstrak pada penelitian ini.

Identifikasi terpenoid menggunakan reaksi Liebermann Burchard dengan ekstrak kental yang terlebih dahulu dilarutkan dalam eter. Senyawa terpenoid dengan pereaksi Liebermann Burchard akan membentuk senyawa kompleks yang memiliki beragam warna tergantung pada jenis terpenoidnya (Farnsworth, 1966).

Cukup banyak ekstrak yang memberikan hasil positif terhadap reaksi identifikasi terpenoid ini. Namun, ada satu ekstrak yang memberikan hasil positif sedikit berbeda dari simplisia lain. Simplisia-simplisia pada penelitian ini umumnya menunjukkan hasil positif dengan terbentuknya warna hijau kebiruan, namun ekstrak daun *Amaracarpus pubescens* Blume. memberikan hasil positif dengan terbentuknya warna merah keunguan. Warna merah keunguan yang terbentuk dapat mengindikasikan adanya senyawa triterpen (Farnsworth, 1966).

Identifikasi tanin dilakukan dengan reaksi warna besi (III) klorida dan reaksi pengendapan dengan gelatin dan campuran natrium klorida-gelatin. Tanin dapat bereaksi dengan protein membentuk kopolimer mantap yang tidak larut dalam air (Harborne, 1987), sehingga tanin dapat mengendapan gelatin yang merupakan protein. Penambahan natrium klorida menyebabkan peristiwa *salting out* yang membuat endapan yang terbentuk semakin banyak. Inti fenolik yang terdapat pada tanin dan ion  $Fe^{3+}$  dari pereaksi besi (III) klorida akan membentuk senyawa kompleks berwarna. Warna biru kehitaman menunjukkan adanya tanin terhidrolisis, sedangkan warna hijau kecoklatan menunjukkan adanya tanin

terkondensasi (Trease, 1961). Cukup banyak ekstrak yang memberikan hasil positif pada identifikasi tanin ini.

Semua ekstrak yang digunakan pada penelitian ini mengandung glikosida. Hal ini ditunjukkan oleh hasil positif berupa terbentuknya cincin ungu dengan reaksi Molisch yang berarti adanya ikatan gula. Reaksi Liebermann Burchard yang dilakukan pada identifikasi glikosida ini hanya digunakan sebagai pendukung. Jadi hanya reaksi Molisch yang peneliti gunakan sebagai dasar menyimpulkan ada atau tidaknya glikosida dalam ekstrak pada penelitian ini.

Identifikasi saponin dilakukan dengan pengocokan larutan ekstrak kental dalam air suling panas. Hasil positif diamati melalui banyak dan stabilnya busa yang terbentuk. Semua ekstrak baik daun maupun batang dari famili Apocynaceae yang digunakan pada penelitian ini memberikan hasil positif adanya saponin. Hal ini sesuai dengan literatur yang menyebutkan bahwa famili Apocynaceae umumnya mengandung saponin (de Padua, Bunyapiaphatsara, & Lemmens, 1999). Sedangkan, pada famili Rubiaceae hanya daun *Chiococca javanica* Blume. yang menunjukkan hasil positif saponin.

Identifikasi antrakuinon dilakukan dengan terlebih dahulu melarutkan ekstrak kental dalam asam sulfat, kemudian dipanaskan. Selanjutnya dikocok dengan *wash benzene* dan natrium hidroksida. Hasil yang didapat kurang memuaskan karena pada blangko positif (*Aloe vera*), warna merah intensif yang seharusnya terbentuk, tidak terlihat, hanya terlihat warna jingga sedikit kemerahan. Hal ini membuat peneliti menggunakan parameter warna jingga sedikit kemerahan seperti pada blangko positif sebagai dasar dalam menyimpulkan hasil positif untuk identifikasi antrakuinon. Cukup banyak ekstrak daun yang memberikan hasil positif pada identifikasi golongan antrakuinon.

Hasil selengkapnya identifikasi kandungan golongan kimia dari simplisia-simplisia yang digunakan pada penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 4.8.

#### 4.4 Uji pendahuluan

Sebelum uji aktivitas penghambatan enzim  $\alpha$ -glukosidase dilaksanakan, uji pendahuluan dilakukan terlebih dahulu. Uji pendahuluan bertujuan untuk mencari kondisi yang optimum untuk uji aktivitas. Variabel yang dioptimasi pada

uji pendahuluan dalam penelitian ini hanya meliputi dua hal, yaitu konsentrasi enzim  $\alpha$ -glukosidase dan konsentrasi p-nitrofenil- $\alpha$ -D-glukopiranosida sebagai substrat. Uji pendahuluan dilakukan dengan membuat variasi dan kombinasi konsentrasi enzim dan substrat yang mengacu pada konsentrasi enzim dan substrat yang digunakan pada penelitian serupa oleh Dewi, et al. pada tahun 2007.

Prinsip uji pendahuluan dan aktivitas penghambatan enzim  $\alpha$ -glukosidase adalah enzim  $\alpha$ -glukosidase akan menghidrolisis p-nitrofenil- $\alpha$ -D-glukopiranosida menjadi p-nitrofenol yang berwarna kuning dan glukosa. Aktivitas enzim diukur berdasarkan hasil absorbansi warna kuning p-nitrofenol (Sugiwati, Setiasih, & Afifah, 2009).

Uji pendahuluan pertama adalah optimasi konsentrasi enzim  $\alpha$ -glukosidase. Konsentrasi enzim yang digunakan pada penelitian Dewi, et al. tahun 2007 adalah 0,3 U/mL, sehingga peneliti mencoba membuat variasi konsentrasi enzim menjadi 0,3 U/mL, 0,15 U/mL, 0,075 U/mL, dan 0,0375 U/mL. Konsentrasi-konsentrasi enzim tersebut diuji dengan dipasangkan pada dua variasi konsentrasi substrat, 20 mM (Dewi et al., 2007) dan 10 mM. Awalnya konsentrasi 40 mM juga akan diuji, namun ternyata substrat dengan konsentrasi ini sangat sukar larut, sehingga pengujian tidak dilakukan. Hasil pengujian dapat dilihat pada Tabel 4.9.

Pada konsentrasi enzim 0,3 U/mL data absorbansi yang terbaca pada spektro adalah 3,999, baik dengan konsentrasi substrat 10 mM maupun 20 mM. Data absorbansi tersebut bukan benar-benar 3,999, tetapi lebih tinggi lagi. Namun, karena batas absorbansi paling besar yang dapat dibaca spektrofotometer Shimadzu 265 adalah 4, maka angka yang keluar adalah 3,999. Pada konsentrasi enzim 0,15 U/mL didapatkan data absorbansi 2,092 dengan konsentrasi substrat 10 mM dan 1,945 dengan konsentrasi substrat 20 mM. Data absorbansi tersebut dinilai cukup baik untuk digunakan dalam uji aktivitas karena tidak terlalu tinggi sehingga dapat terbaca oleh spektrofotometer dan juga tidak terlalu rendah sehingga peningkatan aktivitas penghambatan enzim oleh sampel pada uji aktivitas dapat diamati. Hal ini membuat peneliti memutuskan untuk selanjutnya menggunakan konsentrasi enzim  $\alpha$ -glukosidase 0,15 U/mL.



Uji pendahuluan yang kedua adalah optimasi konsentrasi p-nitrofenil- $\alpha$ -D-glukopiranosida (pNPG) sebagai substrat. Tujuan optimasi konsentrasi substrat adalah untuk mendapatkan konsentrasi substrat yang optimum, tidak kurang dan tidak lebih dalam uji aktivitas. Konsentrasi substrat yang digunakan pada uji aktivitas diharapkan dapat memenuhi sisi aktif enzim tempat substrat berikatan dengan enzim. Variasi konsentrasi substrat yang digunakan adalah 20 mM, 10 mM, 5 mM, 2,5 mM, 1,25 mM, 0,625 mM, dan 0,3125 mM. Hasil optimasi konsentrasi substrat dapat dilihat pada Tabel 4.10.

Data absorbansi yang didapat terlihat cukup stabil pada konsentrasi substrat 5 mM, 10 mM, dan 20 mM. Pada konsentrasi substrat 2,5 mM terjadi penurunan data absorbansi yang cukup besar. Data absorbansi terus menurun pada konsentrasi substrat 1,25 mM, 0,625 mM, dan 0,3125 mM. Hal ini menunjukkan pada konsentrasi 5 mM, 10 mM, dan 20 mM sisi aktif enzim telah terisi penuh oleh substrat. Sedangkan, dengan konsentrasi substrat 2,5 mM dan konsentrasi lain yang lebih kecil, sisi aktif enzim belum terpenuhi. Hal ini membuat peneliti memutuskan untuk selanjutnya menggunakan konsentrasi p-nitrofenil- $\alpha$ -D-glukopiranosida (pNPG) 5 mM sebagai substrat dalam uji aktivitas. Konsentrasi 10 mM dan 20 mM tidak dipilih karena pada konsentrasi 5 mM sisi aktif enzim dianggap sudah terpenuhi sehingga tidak dibutuhkan konsentrasi substrat yang lebih besar lagi.

Jika membandingkan absorbansi konsentrasi substrat 10 mM pada optimasi pertama dan kedua, terlihat perbedaan absorbansi yang cukup signifikan, padahal konsentrasi enzim yang digunakan sama yaitu 0,15 U/mL. Pada optimasi pertama data absorbansi berkisar di angka 2, sedangkan pada optimasi kedua data absorbansi menjadi sekitar 2,5. Perbedaan ini menjadi pertanyaan apakah ada masalah pada enzim  $\alpha$ -glukosidase yang digunakan. Dengan rumus perhitungan aktivitas enzim  $\alpha$ -glukosidase yang didapat dari Sigma Aldrich, produsen enzim  $\alpha$ -glukosidase yang digunakan dalam penelitian ini, peneliti mencoba menghitung aktivitas enzim pada optimasi pertama dan kedua. Hal ini untuk memastikan apakah dengan perbedaan absorbansi yang didapat aktivitas enzim masih sesuai dengan aktivitas yang tertera pada label enzim. Hasil perhitungan menunjukkan bahwa aktivitas enzim masih sesuai.

#### 4.5 Uji aktivitas penghambatan enzim $\alpha$ -glukosidase

Pada uji aktivitas, ada empat jenis larutan yang diuji, yaitu larutan sampel, kontrol sampel, blangko, dan kontrol blangko. Larutan sampel sendiri merupakan larutan ekstrak kental dengan empat variasi konsentrasi yaitu 1%, 0,5%, 0,25% dan 0,125%. Variasi konsentrasi ini dibuat agar dapat digunakan untuk membuat persamaan regresi untuk menghitung  $IC_{50}$ .  $IC_{50}$  atau *inhibitory concentration 50* adalah konsentrasi yang mampu menghambat 50% aktivitas, dalam hal ini aktivitas enzim  $\alpha$ -glukosidase.

Dalam larutan blangko sebagai pengganti larutan sampel digunakan dimetil sulfoksida (DMSO). Blangko dibuat sebagai pembanding perbedaan data absorbansi antara larutan ekstrak yang diduga memiliki agen penghambat  $\alpha$ -glukosidase dengan larutan yang tanpa agen penghambat  $\alpha$ -glukosidase. Sedangkan, larutan kontrol baik untuk blangko maupun sampel dibuat sebagai faktor koreksi. Koreksi yang dilakukan meliputi dua hal, yaitu memastikan bahwa natrium karbonat benar-benar sudah menghambat kerja enzim dan mengetahui apakah ada absorbansi yang terbaca dari senyawa selain p-nitrofenol dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 400 nm.

Komponen-komponen yang ada dalam uji aktivitas ini adalah larutan ekstrak atau larutan dimetil sulfoksida sebanyak 10  $\mu$ L, 490  $\mu$ L larutan dapar fosfat pH 6,8, 250  $\mu$ L p-nitrofenil- $\alpha$ -D-glukopiranosida (pNPG) 5 mM, 250  $\mu$ L larutan enzim  $\alpha$ -glukosidase 0,15 U/mL, dan 2000  $\mu$ L natrium karbonat ( $Na_2CO_3$ ) 200 mM.

Larutan dapar fosfat dibuat pH 6,8 karena enzim  $\alpha$ -glukosidase bekerja optimum pada pH tersebut. Natrium karbonat ( $Na_2CO_3$ ) 200 mM berfungsi sebagai penghenti reaksi hidrolisis. Pada pengecekan pH larutan natrium karbonat ( $Na_2CO_3$ ) 200 mM yang dibuat pada penelitian ini, nilai pH yang tertera pada pH meter adalah Or (*out of range*) atau di luar kisaran. Nilai pH ini didapatkan kemungkinan karena larutan terlalu pekat sehingga terbaca Or (*out of range*) atau di luar kisaran oleh alat pH meter. Sedangkan, pengecekan pH larutan uji setelah penambahan natrium karbonat menunjukkan pH 13, pH dimana seharusnya sudah tidak memungkinkan enzim untuk bekerja.

Selama uji aktivitas, larutan uji mengalami dua kali proses inkubasi yaitu selama 5 menit untuk inkubasi pertama dan 15 menit untuk inkubasi kedua. Keduanya dilakukan pada suhu 37°C. Inkubasi pertama bertujuan supaya larutan uji mencapai suhu 37°C, sedangkan inkubasi kedua adalah waktu yang digunakan untuk enzim bekerja. Suhu 37°C dipilih karena merupakan suhu optimum bagi kerja enzim  $\alpha$ -glukosidase.

Hasil uji aktivitas penghambatan enzim  $\alpha$ -glukosidase oleh ekstrak etanol dari lima belas simplisia dalam penelitian ini secara terperinci dapat dilihat pada Tabel 4.12 sampai dengan Tabel 4.26. Daftar IC<sub>50</sub> selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 4.27. Hasil uji aktivitas penghambatan oleh akarbose yang merupakan senyawa aktif penghambat enzim  $\alpha$ -glukosidase yang digunakan sebagai pembanding dalam penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 4.11.

Nilai IC<sub>50</sub> akarbose yang didapatkan pada penelitian ini adalah 117,4543  $\mu\text{g/mL}$ . Nilai ini mendekati nilai IC<sub>50</sub> pada jurnal tulisan Andrade-Cetto, Becerra-Jiménez, dan Cárdenas-Vázquez pada tahun 2008 yaitu 128  $\mu\text{g/mL}$ . Kedua nilai tersebut dianggap tidak jauh berbeda sehingga dapat membuktikan bahwa metode uji aktivitas yang dilakukan pada penelitian ini telah benar. Nilai IC<sub>50</sub> yang terdapat pada berbagai jurnal sebenarnya beraneka ragam. Hal ini dapat disebabkan metode penelitian yang berbeda serta asal enzim  $\alpha$ -glukosidase yang berbeda juga. Jurnal Andrade-Cetto, Becerra-Jiménez, dan Cárdenas-Vázquez pada tahun 2008 digunakan sebagai pembanding karena metode penelitian yang digunakan dalam jurnal tersebut menyerupai metode dalam penelitian ini.

Jika dibandingkan dengan nilai IC<sub>50</sub> akarbose (117,45  $\mu\text{g/mL}$ ) terdapat dua belas ekstrak dalam penelitian ini yang menunjukkan aktivitas lebih baik yaitu ini adalah ekstrak daun *Beaumontia multiflora* Teijsm. & Binn. (79,79  $\mu\text{g/mL}$ ); ekstrak daun *Carissa carandas* L. (21,13  $\mu\text{g/mL}$ ) dan rantingnya (20,44  $\mu\text{g/mL}$ ); ekstrak daun *Ochrosia citrodora* Lauterb. & K. Schum. (112,01  $\mu\text{g/mL}$ ); ekstrak daun *Adina trichotoma* Zoll. & Moritzi. (28,22  $\mu\text{g/mL}$ ) dan rantingnya (53,20  $\mu\text{g/mL}$ ); ekstrak daun *Amaracarpus pubescens* Blume. (3,64  $\mu\text{g/mL}$ ); ekstrak daun *Chiococca javanica* Blume. (23,85  $\mu\text{g/mL}$ ); ekstrak ranting *Hydnophytum formicarum* (11,04  $\mu\text{g/mL}$ ); ekstrak daun *Nauclea calycina* (Batr.).

ex DC.) Merr. (18,81  $\mu\text{g/mL}$ ) dan rantingnya (25,98  $\mu\text{g/mL}$ ); serta ekstrak daun *Posoqueria latifolia* (Lam.) Roem. & Schult. (80,26  $\mu\text{g/mL}$ ).

Tiga ekstrak yang nilai  $\text{IC}_{50}$ -nya di bawah akarbose adalah ekstrak ranting *Beaumontia multiflora* Teijsm. & Binn. (130,19  $\mu\text{g/mL}$ ); ekstrak daun *Canthium glabrum* Blume. (117,84  $\mu\text{g/mL}$ ); dan ekstrak daun *Hydnophytum formicarum* (181,90  $\mu\text{g/mL}$ ).

Nilai  $\text{IC}_{50}$  akarbose yang didapatkan dalam penelitian ini cukup tinggi jika dibandingkan dengan nilai  $\text{IC}_{50}$  ekstrak simplisia. Dari lima belas ekstrak simplisia yang digunakan pada penelitian ini, dua belas ekstrak memiliki nilai  $\text{IC}_{50}$  di bawah akarbose. Hal ini cukup mengherankan jika mengingat akarbose merupakan senyawa penghambat enzim  $\alpha$ -glukosidase, mengapa banyak ekstrak dalam penelitian ini yang memiliki potensi lebih baik dari akarbose. Hal ini diduga terjadi karena bahan uji yang digunakan pada penelitian ini berupa ekstrak. Ekstrak dapat mengandung berbagai macam senyawa kimia. Senyawa-senyawa tersebut dapat saja bersifat sinergis dalam menghambat enzim  $\alpha$ -glukosidase (Andrade-Cetto, Becerra-Jiménez, & Cárdenas-Vázquez, 2008). Pada penelusuran literatur lebih lanjut, diketahui bahwa akarbose ternyata kurang sensitif terhadap enzim  $\alpha$ -glukosidase yang berasal dari ragi dan bakteri (Shinde et al., 2008).

Dari kelima belas simplisia pada penelitian ini diketahui bahwa ekstrak daun *Amaracarpus pubescens* Blume. memiliki aktivitas penghambatan enzim  $\alpha$ -glukosidase yang paling tinggi dengan nilai  $\text{IC}_{50}$  3,64  $\mu\text{g/mL}$ . Awalnya nilai  $\text{IC}_{50}$  ekstrak daun *Amaracarpus pubescens* Blume. tidak dapat dihitung karena dari empat variasi konsentrasi larutan ekstrak yang digunakan, 1%, 0,5%, 0,25% dan 0,125%, persen penghambatan sudah lebih dari 50%. Hal ini membuat hasil perhitungan  $\text{IC}_{50}$  yang didapatkan di bawah nol atau minus. Peneliti memutuskan untuk mencoba menguji larutan ekstrak dengan konsentrasi yang lebih kecil yaitu 0,0625% dan 0,03125%. Dengan variasi konsentrasi larutan ekstrak 0,25%, 0,125%, 0,0625% dan 0,03125%, nilai  $\text{IC}_{50}$  ekstrak daun *Amaracarpus pubescens* Blume. didapatkan. Hasil uji aktivitas penghambatan enzim  $\alpha$ -glukosidase oleh ekstrak daun *Amaracarpus pubescens* Blume. dapat dilihat pada Tabel 4.16.

Hasil penelitian menunjukkan kandungan kimia yang banyak ditemukan pada ekstrak ekstrak etanol 80% dalam penelitian ini adalah alkaloid, flavonoid,

terpenoid, tanin, glikosida, dan antrakuinon. Beberapa senyawa dari keenam golongan senyawa kimia tersebut pernah diteliti sebagai penghambat enzim  $\alpha$ -glukosidase dan terbukti memiliki potensi. Hal ini membuat peneliti belum bisa menghubungkan antara hasil uji aktivitas penghambatan dengan hasil uji identifikasi. Perlu penelitian lebih lanjut untuk mengetahui golongan senyawa apa yang berperan sebagai agen penghambat  $\alpha$ -glukosidase dalam penelitian ini.

#### 4.6 Penentuan kinetika penghambatan enzim $\alpha$ -glukosidase

Penentuan kinetika penghambatan enzim dilakukan dengan menggunakan lima konsentrasi berbeda dari p-nitrofenil- $\alpha$ -D-glukopiranosida (pNPG) sebagai substrat dan dengan empat konsentrasi berbeda dari larutan ekstrak. Konsentrasi p-nitrofenil- $\alpha$ -D-glukopiranosida (pNPG) yang digunakan adalah 20 mM, 10 mM, 5 mM, 2,5 mM, dan 1,25 mM. Sedangkan, konsentrasi larutan ekstrak yang digunakan adalah konsentrasi yang sama dengan yang digunakan untuk menentukan nilai  $IC_{50}$ . Karena ekstrak daun *Amaracarpus pubescens* Blume. memiliki aktivitas penghambatan enzim  $\alpha$ -glukosidase yang paling tinggi, maka konsentrasi larutan ekstrak yang digunakan adalah 0,25%, 0,125%, 0,0625% dan 0,03125%.

Variasi konsentrasi substrat dan larutan ekstrak daun *Amaracarpus pubescens* Blume. dikombinasikan dan masing-masing diukur absorbansinya. Selain itu, blangko atau larutan tanpa adanya agen penghambat juga dibuat dan dikombinasikan dengan variasi konsentrasi substrat yang sama, kemudian diukur absorbansinya. Data absorbansi kinetika penghambatan enzim  $\alpha$ -glukosidase oleh ekstrak daun *Amaracarpus pubescens* Blume. dapat dilihat pada Tabel 4.28 dan Tabel 4.29.

Mekanisme penghambatan kerja enzim  $\alpha$ -glukosidase dapat diperkirakan melalui penentuan nilai konstanta Michaelis-Menten ( $K_M$ ) dan plot Lineweaver-Burke. Penghambat kompetitif memiliki nilai  $K_M$  yang meningkat dibandingkan tanpa penghambat, sedangkan penghambat nonkompetitif memiliki nilai  $K_M$  yang sama dengan tanpa penghambat. Pada Tabel 4.30 dapat dilihat nilai  $K_M$  dari empat variasi konsentrasi larutan ekstrak dan terlihat bahwa semuanya meningkat dibandingkan blangko.

Perbedaan plot Lineweaver-Burke antara penghambat kompetitif dan nonkompetitif adalah kurva penghambat kompetitif-blanko berpotongan di sumbu y dan kurva penghambat nonkompetitif-blanko berpotongan di sumbu x. Kurva plot Lineweaver-Burke semua konsentrasi larutan ekstrak dan blanko dapat dilihat pada Gambar 4.1. Pada gambar tersebut hanya terlihat satu perpotongan garis yaitu antara kurva larutan ekstrak 0,0625% dan blanko. Perpotongan terjadi di sumbu x. Gambar kurva larutan ekstrak 0,0625% dan blanko yang diperbesar dapat dilihat pada Gambar 4.2.

Dari data kinetika yang peneliti dapatkan ini, nilai  $K_M$  dan plot Lineweaver-Burke menunjukkan hasil yang berlainan. Nilai  $K_M$  larutan ekstrak yang meningkat dibandingkan blanko menunjukkan jenis mekanisme penghambatan kompetitif. Sedangkan, perpotongan kurva larutan ekstrak 0,0625% dan blanko yang terjadi di sumbu x menunjukkan jenis mekanisme penghambatan nonkompetitif. Adanya dua jenis mekanisme penghambatan dari suatu ekstrak mungkin saja terjadi. Hal ini disebabkan ekstrak masih mengandung berbagai macam senyawa kimia, masing-masing senyawa tersebut bisa jadi memiliki aktivitas yang berbeda-beda termasuk mekanismenya dalam menghambat enzim  $\alpha$ -glukosidase.

Dari penelusuran literatur lebih lanjut diketahui bahwa selain jenis mekanisme penghambatan kompetitif dan nonkompetitif, dikenal pula jenis mekanisme penghambatan campuran (*mixed inhibitor*). Penghambat campuran (*mixed inhibitor*) berikatan baik dengan sisi aktif enzim dimana yang secara normal ditempati oleh substrat, maupun dengan bagian atau sisi lain dari enzim. Hal ini menyebabkan peningkatan nilai  $K_M$  dan penurunan nilai  $V_{max}$  pada peningkatan konsentrasi penghambat (Storey, 2004).

Data-data kinetika penghambatan enzim  $\alpha$ -glukosidase pada penelitian ini sesuai dengan kriteria penghambat campuran (*mixed inhibitor*) dimana terjadi peningkatan nilai  $K_M$  dan penurunan nilai  $V_{max}$  pada peningkatan konsentrasi penghambat. Nilai  $K_M$  dan  $V_{max}$  dari kinetika penghambatan enzim oleh ekstrak daun *Amaracarpus pubescens* dapat dilihat pada Tabel 4.30.

## BAB 5

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### 5.1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan:

1. Hasil uji aktivitas penghambatan enzim  $\alpha$ -glukosidase oleh ekstrak etanol 80% dari lima belas simplisia dalam penelitian ini berkisar antara yang paling tinggi dengan nilai  $IC_{50}$  3,64  $\mu$ g/mL sampai dengan yang paling rendah dengan nilai  $IC_{50}$  181,90  $\mu$ g/mL;
2. Ekstrak etanol 80% daun *Amaracarpus pubescens* Blume. merupakan ekstrak yang memiliki aktivitas penghambatan paling tinggi dengan jenis mekanisme penghambatan kerja enzim  $\alpha$ -glukosidase penghambat campuran (*mixed inhibitor*);
3. Kandungan golongan senyawa kimia yang banyak ditemukan pada ekstrak etanol 80% dari lima simplisia famili Apocynaceae dalam penelitian ini adalah tanin, glikosida, saponin, dan antrakuinon. Sedangkan, pada ekstrak etanol 80% dari sepuluh simplisia famili Rubiaceae dalam penelitian ini adalah alkaloid, flavonoid, terpenoid, tanin, glikosida, dan antrakuinon.

#### 5.2 Saran

Perlu diadakan penelitian lebih lanjut meliputi fraksinasi dan karakterisasi senyawa dari simplisia-simplisia pada penelitian ini yang memiliki aktivitas penghambatan tinggi untuk mendapatkan senyawa yang aktif sebagai penghambat enzim  $\alpha$ -glukosidase. Selain itu, pengujian secara *in vivo* yang dilanjutkan dengan uji toksisitas juga disarankan untuk lebih memastikan potensi dan toksisitas dari dari simplisia-simplisia yang digunakan pada penelitian ini sehingga dapat dimanfaatkan sebagai penghambat enzim  $\alpha$ -glukosidase.

## DAFTAR ACUAN

- Ajao, S. M., et al. (2009). Comparative study of the hypoglycemic effects of coconut water extract of *Picralima nitida* seeds (Apocynaceae) and Daonil in alloxan-induced diabetic albino rats. *African Journal of Biotechnology*, 8, 4, 574-576.
- Andrade-Cetto, A., Becerra-Jiménez, J., & Cárdenas-Vázquez, R. (2008). Alfa-glucosidase-inhibiting activity of some Mexican plants used in the treatment of type 2 diabetes. *Journal of Ethnopharmacology*, 116, 27-32.
- Bayer. (2008). *Precose<sup>®</sup> (akarbose tablets)*. January 12, 2011. <http://www.univgraph.com/Bayer/inserts/Precose.pdf>
- Bhandari, M. R., Jong-Anurakkun, N., & Kawabata, J. (2009). Antidiabetic potential of Nepalese herbal and food plants. *Functional Foods For Chronic Diseases*, 3, 123-125.
- 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.
- Carr, G. D. (2006, January 22). *Rubiaceae*. January 18, 2011. Botany Department University of Hawaii. <http://www.botany.hawaii.edu/faculty/carr/rubi.htm>
- Champe, P. C., Harvey, R. A., & Ferrier, D. R. (2005). *Lippincott's illustrated reviews: Biochemistry*. Philadelphia: Lippincot Williams & Wilkins.
- Choudhary, M. I., et al. (2001). New  $\alpha$ -Glucosidase inhibitors from the Mongolian medicinal plant *Ferula mongolica*. *Helvetica Chimica Acta*, 84, 8, 2409-2416.
- De Padua, L. S., Bunyapiaphatsara, N., & Lemmens, R. H. M. J. (1999). *Plant Resources of South-East Asia: Medicinal and poisonous plants 1*. Bogor: Prosea Foundation.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (1995), *Farmakope Indonesia edisi IV*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.



- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (1995). *Materia Medika Indonesia Volume VI*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- 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.
- DiPiro, J. T., Talbert, R. L., Yee, G. C., Matzke, G. R., Wells, B. G., & Posey, L. M. (2005). *Pharmacotherapy sixth edition*. New York: McGraw-Hill.
- Direktorat Jenderal Bina Kefarmasian dan Alat Kesehatan Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (2005). *Pharmaceutical care untuk penyakit diabetes mellitus*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Direktorat Jenderal Pengawasan Obat Dan Makanan Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (2000). *Parameter standar umum ekstrak tumbuhan obat*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Farnsworth, N. R. (1966). Biological and phytochemical screening of plants. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 55, 3, 255-276.
- Funke, I., & Melzig, M. F. (2006). Traditionally used plants in diabetes therapy - phytotherapeutics as inhibitors of  $\alpha$ -amylase activity. *Revista Brasileira de Farmacognosia Brazilian Journal of Pharmacognosy*, 16, 1, 1-5.
- G, Konkon, N., Adjoungoua A. L., Manda P., Simaga D., N'Guessan K. E., & Kone B. D. (2008). Toxicology and phytochemical screening study of *Mitrgyna inermis* (willd.) O ktze (Rubiaceae), antidiabetic plant. *Journal of Medicinal Plants*, 2, 10, 279-284.
- Gidado, A., Ameh, D. A., Atawodi, S. E., & Ibrahim, S. (2008). Hypoglycemic activity of *Nauclea latifolia* Sm. (Rubiaceae) in experimental animals. *African Journal of Traditional Complementary and Alternative Medicine*, 5, 2, 201-208.
- Guerrero-Analco, J., et al. (2007). Antidiabetic of selected *Mexican copalchis* of the Rubiaceae family. *Phytochemistry*, 68, 15, 2087-2095.
- Gunawan-Puteri, M. D. P. T., Bhandari, M. R., & Kawabata, J. (2009). Indonesian medicinal plants and their antidiabetic potencies. *Functional Foods For Chronic Diseases*, 4, 110-122.

- Harborne, J. B. (1987). *Metode fitokimia, Penuntun cara modern mengekstraksi tumbuhan*. (Padmawinata, K., & Soediro, I., Penerjemah.). Bandung: Penerbit ITB.
- Harley, J. H., & Wiberley, S. E. (1954). *Instrumental Analysis*. New York: John Wiley & Sons.
- Hodgkiss, R. J. (2009, March 1). *Apocynaceae - periwinkle/dogbane family*. January 18, 2011.  
<http://www.succulent-plant.com/families/apocynaceae.html>
- Horsfal, A. U., Olabiyi, O. A., Osinubi, A. A., Noronha, C. C., & Okanlawon, O. A. (2008). Anti diabetic effect of fruit juice of *Morinda citrifolia* (Tahitian Noni Juice®) on experimentally induced diabetic rats. *Nigerian Journal of Health and Biomedical Sciences*, 7, 2, 34-37.
- Jong-Anurakkun, N., Bhandari, M. R., & Kawabata, J. (2007).  $\alpha$ -Glucosidase inhibitors from Devil tree (*Alstonia scholaris*). *Food Chemistry*, 103, 4, 1319-1323.
- Jung, M., Park, M., Lee, H. C., Kang, Y. H., Kang, E. S., & Kim, S. K. (2006). Antidiabetic Agents from Medicinal Plants. *Current Medicinal Chemistry*, 13, 1203-1218.
- Kang, W., Zhang, L., & Song, Y. (2009). Alpha-glucosidase inhibitors from *Luculia pinciana*. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*, 34, 4, 406-409.
- Kang, W., Zhang, L., & Song, Y. (2009). Alpha-glucosidase inhibitors from *Rubia cordifolia*. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*, 34, 9, 1104-1107.
- Kawabata, J., Mizuhata, K., Sato, E., Nishioka, T., Aoyama, Y., & Kasai, T. (2003). 6-Hydroxyflavonoids as alpha-glucosidase inhibitors from marjoram (*Origanum majorana*) leaves. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 67, 2, 445-447.
- Kementrian Kehutanan RI. (2010, July 22). Lokakarya Nasional Tanaman Obat Indonesia. June 15, 2011.  
<http://www.dephut.go.id/index.php?q=id/node/6603>
- Kikkoman Corporation. (2001).  *$\alpha$ -Glucosidase ( $\alpha$ GLS-SE) from recombinant E. coli*. January 25, 2011. [http://www.kikkoman.co.jp/bio/j/rinsyou/images/pdf/27\\_alphaGLSse.pdf](http://www.kikkoman.co.jp/bio/j/rinsyou/images/pdf/27_alphaGLSse.pdf)

- Lam, S. H., Chen, J. M., Kang, C. J., Chen, C. H., & Lee, S. S. (2008).  $\alpha$ -Glucoside inhibitors from the seeds of *Syagrus romanzoffiana*. *Phytochemistry*, 69, 1173-1178.
- Li, D., & Jing, M. N. (2008). Preliminary study of an  $\alpha$ -glucosidase inhibitor from the roots and stems of *Polygonatum sibiricum* Red. *Asian Journal of Traditional Medicines*, 3, 5, 179-185.
- M., Ali K., 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.
- 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, 1315-1319.
- McPherson, R. A., & Pincus, M. R., (2007). *Henry's clinical diagnosis and management by laboratory methods 21<sup>st</sup> edition*. Philadelphia: Elsevier.
- Ophardt, C. (2003). *Mechanisms of drug actions by enzyme inhibition*. January 31, 2011. Elmhurst College.  
<http://www.elmhurst.edu/~chm/vchembook/651enzymeinhibit.html>
- Pinto, M. S., de Carvalho, J. E., Lajolo, F. M., Genovese, M. I., & Shetty, K. (2010). Evaluation of antiproliferative, anti-type 2 diabetes, and antihypertension potentials of ellagitannins from strawberries (*Fragaria ananassa* Duch.) using in vitro models. *Journal of Medicinal Food*, 13, 5, 1027-35.
- Rasineni, K., Bellamkonda, R., Singareddy, S. R., & Desireddy, S. (2010). Antihyperglycemic activity of *Catharanthus roseus* leaf powder in streptozotocin-induced diabetic rats. *Pharmacognosy Research*, 2, 3, 195-201.
- Samuelsson, G. (1999). *Drugs of natural origin 4<sup>th</sup> revised edition*. Stockholm: Swedish Pharmaceutical Press.

- Shende, V. S., Sawant, V. A., Turuskar, A. O., Chatap, V. K., & Vijaya, C. (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.
- Shinde, J, et al. (2008).  $\alpha$ -Glucosidase inhibitory activity of *Syzygium cumini* (Linn.) Skeels seed kernel in vitro and in Goto-Kakizaki (GK) rats. *Carbohydrate Research*, 343, 1278-1281.
- Sigma. (1996). *Enzymatic assay of  $\alpha$ -glucosidase*. February 9, 2011. [http://www.sigmaaldrich.com/etc/medialib/docs/Sigma/General\\_Information/alpha\\_glucosidase\\_sed.Par.0001.File.dat/alpha\\_glucosidase\\_sed.pdf](http://www.sigmaaldrich.com/etc/medialib/docs/Sigma/General_Information/alpha_glucosidase_sed.Par.0001.File.dat/alpha_glucosidase_sed.pdf)
- Sikarwar, M. B. P., Kokate, C. K., Sharma, S., & Bhat, V. (2009). Antidiabetic activity of *Nerium Indicum* leaf extract in alloxan-induced diabetic rats. *Journal of Young Pharmacists*, 1, 4, 330-335.
- Sirait, M. (2007). *Penuntun fitokimia dalam farmasi*. Bandung: Penerbit ITB.
- Storey, K. B. (2004). *Functional metabolism: Regulation and adaptation*. New Jersey: Wiley-Liss.
- 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.
- Trease, G. E. (1961). *A textbook of pharmacognosy 8<sup>th</sup> edition*. London: Baillière, Tindall and Cox.
- Van Steenis, C. G. G. J., den Hoed, D., Bloembergen, S., & Eyma, P. J. (1975). *Flora*. (Surjowinoto, M., Hardjosuwarno, S., Adisewojo, S. S., Wibisono, Partodidjojo, M., & Wirjahardja, S., Penerjemah.). Jakarta: PT Pradnya Paramita.
- Wild, S., Roglic, G., Green, A., Sicree, R., & King, H. (2004). Global prevalence of diabetes estimates for the year 2000 and projections for 2030. *Diabetes Care*, 27, 1047–1053.





**Gambar 2.5. *Beaumontia multiflora***  
 (A) tanaman, (B) simplisia daun,  
 (C) simplisia ranting



**Gambar 2.6. *Carissa carandas***  
 (A) tanaman, (B) simplisia daun,  
 (C) simplisia ranting



**Gambar 2.7. *Ochrosia citrodora***  
 (A) tanaman, (B) simplisia daun





**Gambar 2.8. *Adina trichotoma***  
 (A) tanaman, (B) simplisia daun,  
 (C) simplisia ranting



**Gambar 2.9. *Amaracarpus pubescens***  
 (A) tanaman, (B) simplisia daun



**Gambar 2.10. *Chantium glabrum***  
 (A) tanaman, (B) simplisia daun

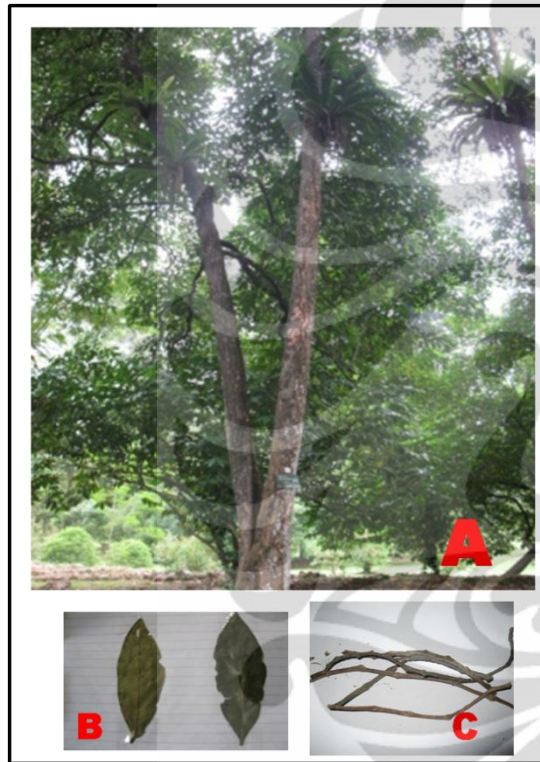


**Gambar 2.11.** *Chiococca javanica*  
(A) tanaman, (B) simplisia daun

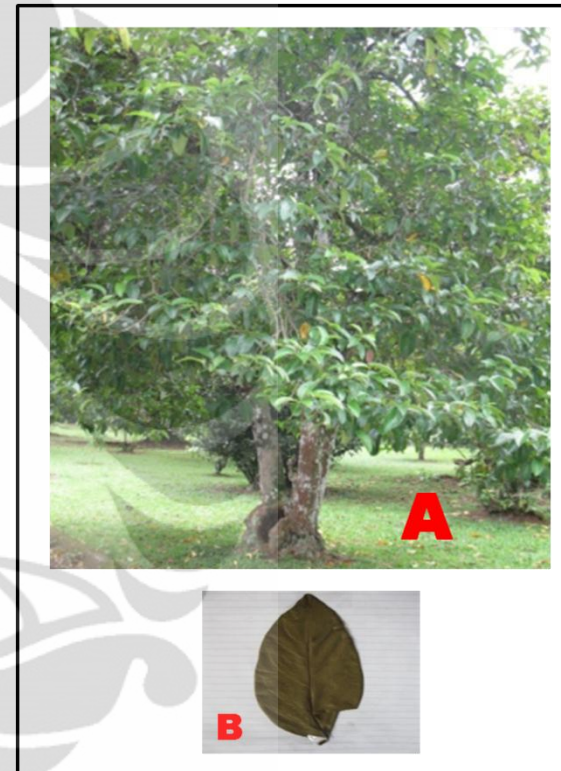


**Gambar 2.12.** *Hydnophytum formicarum*  
(A) tanaman, (B) simplisia daun,  
(C) simplisia ranting

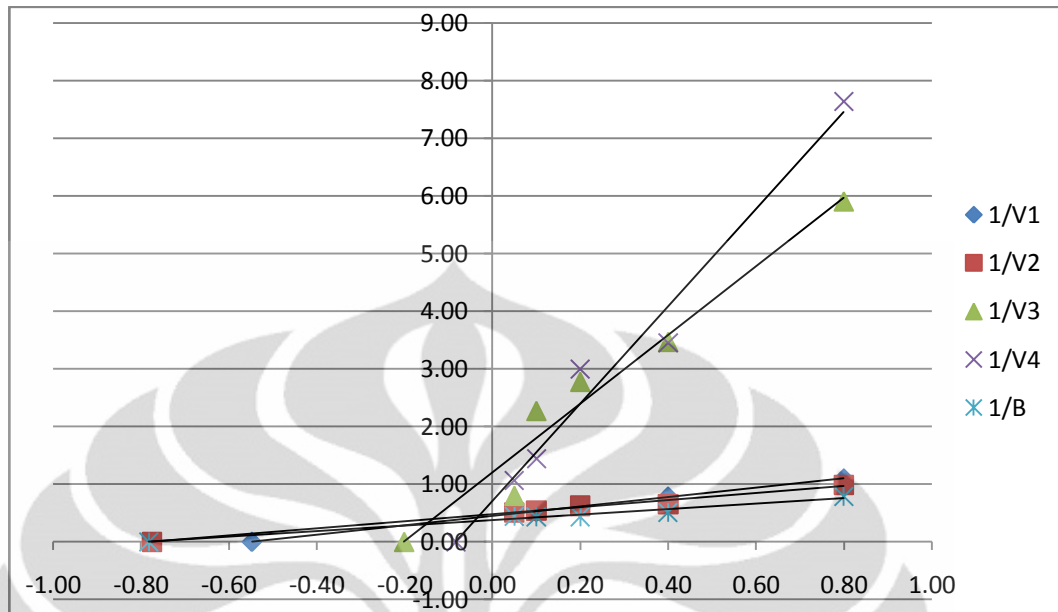




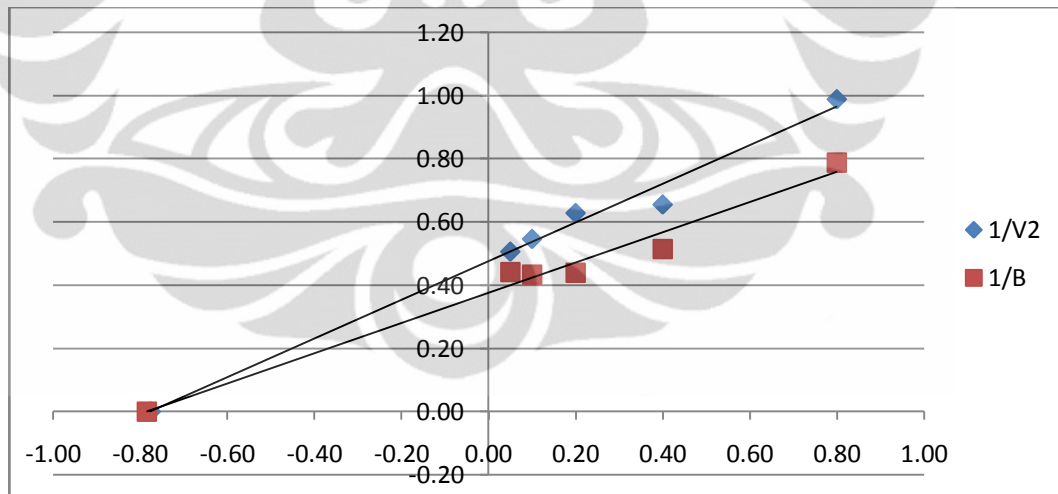
**Gambar 2.13.** *Nauclea calycina*  
 (A) tanaman, (B) simplisia daun,  
 (C) simplisia ranting



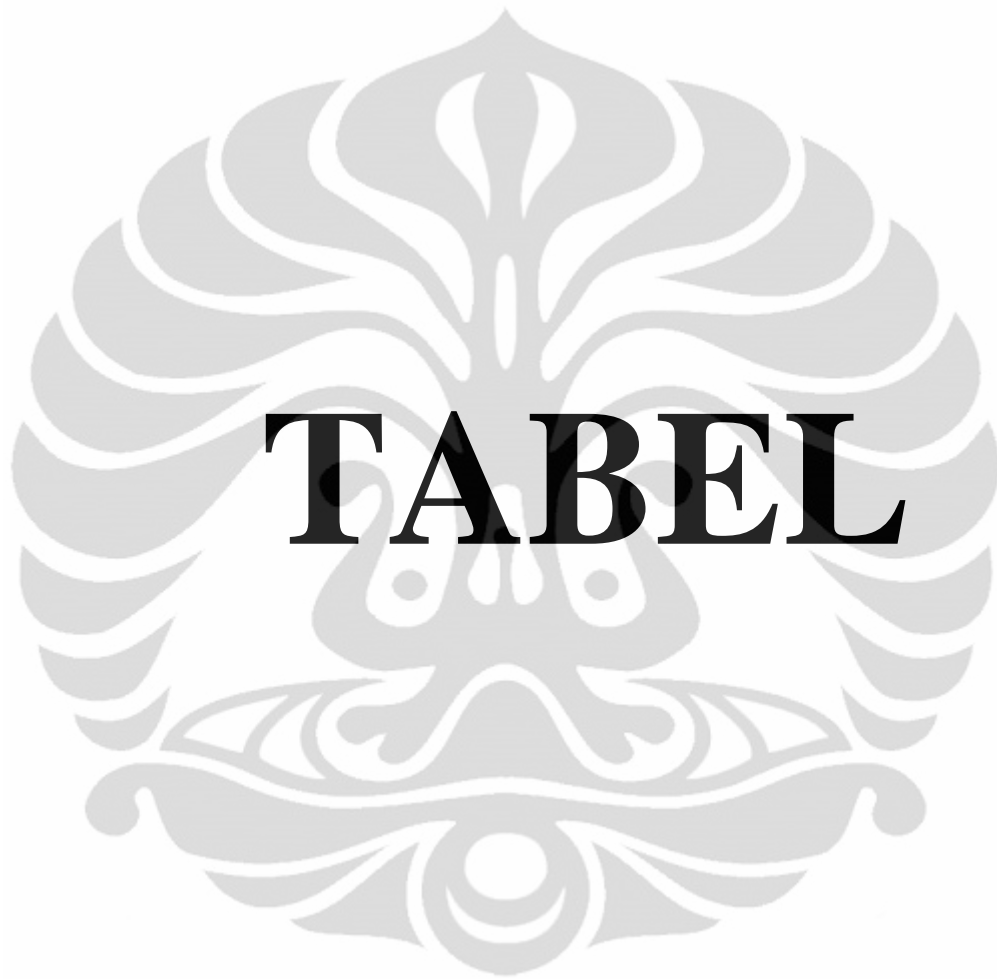
**Gambar 2.14.** *Posoqueria latifolia*  
 (A) tanaman, (B) simplisia daun



**Gambar 4.1.** Kurva Lineweaver-Burke larutan ekstrak daun *Amaracarpus pubescens* Blume. konsentrasi 0,25% (V4), 0,125% (V3), 0,0625 (V2), 0,03125% (V1), dan blangko (B)



**Gambar 4.2.** Kurva Lineweaver-Burke larutan ekstrak daun *Amaracarpus pubescens* Blume. konsentrasi 0,0625% (V2) dan blangko



Tabel 4.1. Susut pengeringan

Famili	Nama Simplisia	Berat (g)		% Susut Pengerinan
		Basah	Kering	
	<b>Daun</b>			
Apocynaceae	<i>Beaumontia multiflora</i>	200	50	60,00
	<i>Carissa carandas</i>	151	69	54,30
	<i>Ochrosia citrodora</i>	155	50	67,74
Rubiaceae	<i>Adina trichotoma</i>	81	46	43,21
	<i>Amaracarpus pubescens</i>	280	86	69,29
	<i>Canthium glabrum</i>	200	71	64,50
	<i>Chiococca javanica</i>	46	22	54,54
	<i>Hydnophytum formicarum</i>	250	26	89,60
	<i>Nauclea calycina</i>	104	49	52,88
	<i>Posoqueria latifolia</i>	80	34	57,50
	<b>Ranting</b>			
Apocynaceae	<i>Beaumontia multiflora</i>	46	36	21,74
	<i>Carissa carandas</i>	86	67	22,09
Rubiaceae	<i>Adina trichotoma</i>	66	58	12,12
	<i>Hydnophytum formicarum</i>	171	78	54,39
	<i>Nauclea calycina</i>	56	24	57,14

Keterangan: % Susut Pengerinan =  $\frac{\text{Berat Basah} - \text{Berat Kering}}{\text{Berat Basah}} \times 100\%$

Tabel 4.2. Rendemen ekstrak

Famili	Nama Simplisia	Berat (g)		% Rendemen
		Serbuk yang Diekstraksi	Ekstrak Kental	
	<b>Daun</b>			
Apocynaceae	<i>Beaumontia multiflora</i>	20,0039	3,3272	16,63
	<i>Carissa carandas</i>	20,0894	5,9513	29,62
	<i>Ochrosia citrodora</i>	20,0291	8,3558	41,72
Rubiaceae	<i>Adina trichotoma</i>	20,0266	4,7493	23,71
	<i>Amaracarpus pubescens</i>	20,0248	9,6778	48,33
	<i>Canthium glabrum</i>	20,0516	6,4375	32,10
	<i>Chiococca javanica</i>	20,0432	3,8953	19,43
	<i>Hydnophytum formicarum</i>	20,0574	4,5493	22,68
	<i>Nauclea calycina</i>	20,0586	7,2800	36,26
	<i>Posoqueria latifolia</i>	20,0647	7,4300	37,03
	<b>Ranting</b>			
Apocynaceae	<i>Beaumontia multiflora</i>	20,0795	1,9209	9,57
	<i>Carissa carandas</i>	20,0532	2,3801	11,87
Rubiaceae	<i>Adina trichotoma</i>	20,0785	1,1926	5,92
	<i>Hydnophytum formicarum</i>	20,0499	2,5450	12,69
	<i>Nauclea calycina</i>	20,0786	4,1819	20,83

Keterangan: % Rendemen =  $\frac{\text{Berat Ekstrak Kental}}{\text{Berat Serbuk yang Diekstraksi}} \times 100\%$

Tabel 4.3. Hasil identifikasi alkaloid

Famili	Nama Simplisia	Reaksi		
		Bouchardat	Mayer	Dragendorf
	<b>Daun</b>			
Apocynaceae	<i>Beaumontia multiflora</i>	+	+	+
	<i>Carissa carandas</i>	-	-	-
	<i>Ochrosia citrodora</i>	+	+	+
Rubiaceae	<i>Adina trichotoma</i>	+	-	+
	<i>Amaracarpus pubescens</i>	+	-	+
	<i>Canthium glabrum</i>	+	-	+
	<i>Chiococca javanica</i>	+	-	+
	<i>Hydnophytum formicarum</i>	+	+	+
	<i>Nauclea calycina</i>	-	-	-
	<i>Posoqueria latifolia</i>	+	-	+
	<b>Ranting</b>			
Apocynaceae	<i>Beaumontia multiflora</i>	-	-	-
	<i>Carissa carandas</i>	-	-	-
Rubiaceae	<i>Adina trichotoma</i>	+	-	+
	<i>Hydnophytum formicarum</i>	+	-	+
	<i>Nauclea calycina</i>	-	-	-

Keterangan:

+ = positif

- = negatif

Tabel 4.4. Hasil identifikasi flavonoid

Famili	Nama Simplisia	Reaksi			
		Zn-HCl	Mg-HCl	As. Borat- As. Oksalat	AlCl <sub>3</sub>
	<b>Daun</b>				
Apocynaceae	<i>Beaumontia multiflora</i>	-	-	-	+
	<i>Carissa carandas</i>	-	-	-	+
	<i>Ochrosia citrodora</i>	-	-	-	-
Rubiaceae	<i>Adina trichotoma</i>	-	-	-	-
	<i>Amaracarpus pubescens</i>	-	+	+	+
	<i>Canthium glabrum</i>	-	-	-	+
	<i>Chiococca javanica</i>	-	-	-	-
	<i>Hydnophytum formicarum</i>	-	-	-	+
	<i>Nauclea calycina</i>	-	-	-	+
	<i>Posoqueria latifolia</i>	-	-	-	+
	<b>Ranting</b>				
Apocynaceae	<i>Beaumontia multiflora</i>	-	-	-	-
	<i>Carissa carandas</i>	-	-	-	-
Rubiaceae	<i>Adina trichotoma</i>	-	-	-	+
	<i>Hydnophytum formicarum</i>	-	-	-	-
	<i>Nauclea calycina</i>	-	-	-	-

Keterangan:

+ = positif

- = negatif

Tabel 4.5. Hasil identifikasi terpenoid, saponin dan antrakuinon

Famili	Nama Simplisia	Terpenoid (Liebermann Burchard)	Saponin (Pembentukan Buih)	Antrakuinon (Wash Benzene- NaOH)
	<b>Daun</b>			
Apocynaceae	<i>Beaumontia multiflora</i>	-	+	+
	<i>Carissa carandas</i>	+	+	+
	<i>Ochrosia citrodora</i>	+	+	+
Rubiaceae	<i>Adina trichotoma</i>	+	-	+
	<i>Amaracarpus pubescens</i>	+	-	+
	<i>Canthium glabrum</i>	+	-	+
	<i>Chiococca javanica</i>	+	+	-
	<i>Hydnophytum formicarum</i>	+	-	-
	<i>Nauclea calycina</i>	+	-	+
	<i>Posoqueria latifolia</i>	-	-	+
	<b>Ranting</b>			
Apocynaceae	<i>Beaumontia multiflora</i>	-	+	-
	<i>Carissa carandas</i>	-	+	+
Rubiaceae	<i>Adina trichotoma</i>	+	-	+
	<i>Hydnophytum formicarum</i>	-	-	-
	<i>Nauclea calycina</i>	+	-	-

Keterangan:

+ = positif

- = negatif



Tabel 4.6. Hasil identifikasi tanin

Famili	Nama Simplisia	Reaksi		
		Gelatin	NaCl-Gelatin	FeCl <sub>3</sub>
	<b>Daun</b>			
Apocynaceae	<i>Beaumontia multiflora</i>	-	+	+
	<i>Carissa carandas</i>	+	+	+
	<i>Ochrosia citrodora</i>	-	-	-
Rubiaceae	<i>Adina trichotoma</i>	+	+	+
	<i>Amaracarpus pubescens</i>	+	+	-
	<i>Canthium glabrum</i>	-	-	+
	<i>Chiococca javanica</i>	+	+	+
	<i>Hydnophytum formicarum</i>	-	-	-
	<i>Nauclea calycina</i>	+	+	+
	<i>Posoqueria latifolia</i>	-	+	+
	<b>Ranting</b>			
Apocynaceae	<i>Beaumontia multiflora</i>	-	-	+
	<i>Carissa carandas</i>	+	+	+
Rubiaceae	<i>Adina trichotoma</i>	-	-	-
	<i>Hydnophytum formicarum</i>	+	+	+
	<i>Nauclea calycina</i>	+	+	+

Keterangan:

+ = positif

- = negatif

Tabel 4.7. Hasil identifikasi glikosida

Famili	Nama Simplisia	Reaksi	
		Molish	Liebermann Burchard
	<b>Daun</b>		
Apocynaceae	<i>Beaumontia multiflora</i>	+	-
	<i>Carissa carandas</i>	+	+
	<i>Ochrosia citrodora</i>	+	-
Rubiaceae	<i>Adina trichotoma</i>	+	+
	<i>Amaracarpus pubescens</i>	+	+
	<i>Canthium glabrum</i>	+	+
	<i>Chiococca javanica</i>	+	+
	<i>Hydnophytum formicarum</i>	+	-
	<i>Nauclea calycina</i>	+	+
	<i>Posoqueria latifolia</i>	+	+
	<b>Ranting</b>		
Apocynaceae	<i>Beaumontia multiflora</i>	+	-
	<i>Carissa carandas</i>	+	+
Rubiaceae	<i>Adina trichotoma</i>	+	-
	<i>Hydnophytum formicarum</i>	+	+
	<i>Nauclea calycina</i>	+	+

Keterangan:

+ = positif

- = negatif

Tabel 4.8. Hasil identifikasi kandungan golongan kimia

Famili	Nama Simplisia	Kandungan Kimia						
		Alkaloid	Flavonoid	Terpenoid	Tanin	Glikosida	Saponin	Antrakuinon
	<b>Daun</b>							
Apocynaceae	<i>Beaumontia multiflora</i>	+	+	-	+	+	+	+
	<i>Carissa carandas</i>	-	+	+	+	+	+	+
	<i>Ochrosia citrodora</i>	+	-	+	+	+	+	+
Rubiaceae	<i>Adina trichotoma</i>	+	-	+	-	+	-	+
	<i>Amaracarpus pubescens</i>	+	+	+	+	+	-	+
	<i>Canthium glabrum</i>	+	+	+	-	+	-	+
	<i>Chiococca javanica</i>	+	-	+	+	+	+	-
	<i>Hydnophytum formicarum</i>	+	+	+	-	+	-	-
	<i>Nauclea calycina</i>	-	+	+	+	+	-	+
	<b>Ranting</b>							
Apocynaceae	<i>Beaumontia multiflora</i>	-	-	-	-	+	+	-
	<i>Carissa carandas</i>	-	-	-	+	+	+	+
Rubiaceae	<i>Adina trichotoma</i>	+	+	+	-	+	-	+
	<i>Hydnophytum formicarum</i>	+	-	-	+	+	-	-
	<i>Nauclea calycina</i>	-	-	+	+	+	-	-

Keterangan:

+ = ada

- = tidak ada

**Tabel 4.9. Hasil optimasi konsentrasi enzim  $\alpha$ -glukosidase**

Konsentrasi Enzim (U/mL)	Konsentrasi Substrat					
	10 mM			20 mM		
	a	b	a-b	a	b	a-b
0,3	3,999	0,064	3,935	3,999	0,067	3,932
0,15	2,092	0,056	2,036	1,945	0,058	1,887
0,075	1,066	0,062	1,004	1,038	0,058	0,980
0,0375	0,370	0,059	0,311	0,505	0,051	0,454

Keterangan:

a = blangko

b = kontrol blangko

**Tabel 4.10. Hasil optimasi konsentrasi substrat dengan konsentrasi enzim 0,15 U/mL**

	Konsentrasi Substrat (mM)						
	0,3125	0,625	1,25	2,5	5	10	20
blangko (a)	0,424	0,665	1,426	1,968	2,669	2,528	2,797
	0,351	0,780	1,424	1,702	2,733	2,520	2,658
rata-rata blangko (a)	0,387	0,722	1,425	1,835	2,701	2,524	2,727
kontrol blangko	0,002	0,003	0,004	0,007	0,021	0,050	0,069
	0,002	0,003	0,004	0,005	0,021	0,043	0,072
rata-rata kontrol blangko (b)	0,002	0,003	0,004	0,006	0,021	0,046	0,070
a-b	0,385	0,719	1,421	1,829	2,680	2,478	2,657

Tabel 4.11. Hasil uji aktivitas penghambatan enzim  $\alpha$ -glukosidase oleh akarbose

$B_1$	$B_0$	B	Konsentrasi Sampel ( $\mu\text{g/mL}$ )	Konsentrasi Sampel dalam Larutan Uji ( $\mu\text{g/mL}$ )	$S_1$	$S_0$	S	% Penghambatan ( $(B-S/B \times 100\%)$ )	Persamaan Regresi	$IC_{50}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )
2,551	0,014	2,530	1250	4,1667	2,444	0,016	2,425	4,15	$y = 2,9948 + 0,4002x$	117,4543
					2,441	0,019				
					2,442	0,017				
2,537	0,014		2500	8,3333	2,398	0,019	2,381	5,89		
					2,401	0,017				
					2,399	0,018				
2,544	0,014		5000	16,6667	2,264	0,021	2,246	11,22		
					2,267	0,018				
					2,265	0,019				
2,544	0,014	10000	33,3333	2,153	0,018	2,132	15,73			
				2,149	0,021					
				2,151	0,019					

Keterangan:

B = absorbansi blangko ( $B_1$ ) dikurangi absorbansi kontrol blangko ( $B_0$ )S = absorbansi sampel ( $S_1$ ) dikurangi absorbansi kontrol sampel ( $S_0$ ) $IC_{50} = 50-a/b$  = rata-rata

Tabel 4.12. Hasil uji aktivitas penghambatan enzim  $\alpha$ -glukosidase oleh ekstrak daun *Beaumontia multiflora* Teijsm. & Binn.

$B_1$	$B_0$	B	Konsentrasi Sampel ( $\mu\text{g/mL}$ )	Konsentrasi Sampel dalam Larutan Uji ( $\mu\text{g/mL}$ )	$S_1$	$S_0$	S	% Penghambatan ( $(B-S/B \times 100\%)$ )	Persamaan Regresi	$IC_{50}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )
2,646	0,014	2,614	1257,5	4,1917	2,512	0,027	2,512	3,90	$y = 2,0839 + 0,6005x$	79,7937
					2,568	0,029				
					2,540	0,028				
2,611	0,015		2515	8,3833	2,440	0,032	2,428	7,11		
					2,480	0,032				
					2,460	0,032				
2,628	0,014		5030	16,7667	2,311	0,050	2,264	13,39		
					2,315	0,048				
					2,313	0,049				
2,628	0,014	10060	33,5333	2,220	0,094	2,047	21,69			
				2,056	0,088					
				2,138	0,091					

Keterangan:

B = absorbansi blangko ( $B_1$ ) dikurangi absorbansi kontrol blangko ( $B_0$ )S = absorbansi sampel ( $S_1$ ) dikurangi absorbansi kontrol sampel ( $S_0$ ) $IC_{50} = 50 - a/b$  = rata-rata

Tabel 4.13. Hasil uji aktivitas penghambatan enzim  $\alpha$ -glukosidase oleh ekstrak daun *Carissa Carandas L.*

$B_1$	$B_0$	B	Konsentrasi Sampel ( $\mu\text{g/mL}$ )	Konsentrasi Sampel dalam Larutan Uji ( $\mu\text{g/mL}$ )	$S_1$	$S_0$	S	% Penghambatan ( $(B-S/B \times 100\%)$ )	Persamaan Regresi	$IC_{50}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )
2,501	0,011	2,528	1253,75	4,1792	2,437	0,028	2,475	2,14	$y = 0,5878 + 2,3378x$	21,1362
					2,543	0,023				
					2,500	0,025				
2,5813	0,016		2507,5	8,3583	1,804	0,027	1,893	25,12		
					2,041	0,031				
					1,922	0,029				
5015	16,7167		1,337	0,043	1,351	46,55				
							1,455	0,047		
							1,396	0,045		
2,541	0,013		10030	33,4333	0,712	0,081	0,630	75,08		
					0,710	0,081				
					0,711	0,081				

Keterangan:


B = absorbansi blangko ( $B_1$ ) dikurangi absorbansi kontrol blangko ( $B_0$ )S = absorbansi sampel ( $S_1$ ) dikurangi absorbansi kontrol sampel ( $S_0$ ) $IC_{50} = 50 - a/b$ 

	= rata-rata
--	-------------

Tabel 4.14. Hasil uji aktivitas penghambatan enzim  $\alpha$ -glukosidase oleh ekstrak daun *Ochrosia citrodora* Lauterb. & K. Schum.

B <sub>1</sub>	B <sub>0</sub>	B	Konsentrasi Sampel (µg/mL)	Konsentrasi Sampel dalam Larutan Uji (µg/mL)	S <sub>1</sub>	S <sub>0</sub>	S	% Penghambatan (B-S/B x 100%)	Persamaan Regresi	IC <sub>50</sub> (µg/mL)
2,592	0,018	2,598	1258,75	4,1958	2,452	0,024	2,498	3,85	y = 2,7965 + 0,4214x	112,0159
					2,590	0,023				
					2,521	0,023				
2,641	0,018		2517,5	8,3917	2,415	0,025	2,400	7,62		
					2,431	0,022				
					2,423	0,023				
5035	16,7833		2,358	0,050	2,359	9,19				
			2,456	0,046						
			2,407	0,048						
2,616	0,018	10070	33,5667	2,312	0,078	2,155	17,05			
				2,148	0,072					
				2,230	0,075					

Keterangan:

B = absorbansi blangko (B<sub>1</sub>) dikurangi absorbansi kontrol blangko (B<sub>0</sub>)S = absorbansi sampel (S<sub>1</sub>) dikurangi absorbansi kontrol sampel (S<sub>0</sub>)IC<sub>50</sub> = 50-a/b
 = rata-rata



Tabel 4.15. Hasil uji aktivitas penghambatan enzim  $\alpha$ -glukosidase oleh ekstrak daun *Adina trihotoma* Zoll. & Moritzi.

$B_1$	$B_0$	B	Konsentrasi Sampel ( $\mu\text{g/mL}$ )	Konsentrasi Sampel dalam Larutan Uji ( $\mu\text{g/mL}$ )	$S_1$	$S_0$	S	% Penghambatan ( $(B-S/B \times 100\%)$ )	Persamaan Regresi	$IC_{50}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )
2,520	0,019	2,506	1252,5	4,175	2,471	0,033	2,369	5,47	$y = 7,9061 + 1,4915x$	28,2225
					2,331	0,032				
					2,401	0,032				
2,528	0,018		2505	8,35	1,902	0,034	1,985	20,79		
					2,134	0,033				
					2,018	0,033				
2,524	0,018		5010	16,7	1,354	0,050	1,320	47,33		
					1,388	0,053				
					1,371	0,051				
2,524	0,018	10020	33,4	1,305	0,084	1,217	51,44			
				1,293	0,080					
				1,299	0,082					

Keterangan:

B = absorbansi blangko ( $B_1$ ) dikurangi absorbansi kontrol blangko ( $B_0$ )S = absorbansi sampel ( $S_1$ ) dikurangi absorbansi kontrol sampel ( $S_0$ ) $IC_{50} = 50 - a/b$ 

	= rata-rata
--	-------------

Tabel 4.16. Hasil uji aktivitas penghambatan enzim  $\alpha$ -glukosidase oleh ekstrak daun *Amaracarpus pubescens* Blume.

$B_1$	$B_0$	B	Konsentrasi Sampel ( $\mu\text{g/mL}$ )	Konsentrasi Sampel dalam Larutan Uji ( $\mu\text{g/mL}$ )	$S_1$	$S_0$	S	% Penghambatan ( $(B-S/B \times 100\%)$ )	Persamaan Regresi	$IC_{50}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )
2,672	0,016	2,660	314,0625	1,0469	2,042	0,022	1,966	26,09	$y = 18,4770 + 8,6500x$	3,6443
					1,934	0,022				
					1,988	0,022				
2,684	0,020		628,125	2,0937	1,726	0,023	1,766	33,61		
					1,850	0,021				
					1,788	0,022				
2,678	0,018		1256,25	4,1875	1,023	0,030	1,019	61,69		
					1,069	0,025				
					1,046	0,027				
2,678	0,018		2512,5	8,375	0,372	0,032	0,310	88,35		
					0,312	0,033				
					0,342	0,032				

Keterangan:

B = absorbansi blangko ( $B_1$ ) dikurangi absorbansi kontrol blangko ( $B_0$ )S = absorbansi sampel ( $S_1$ ) dikurangi absorbansi kontrol sampel ( $S_0$ ) $IC_{50} = 50 - a/b$ 

	= rata-rata
--	-------------

Tabel 4.17. Hasil uji aktivitas penghambatan enzim  $\alpha$ -glukosidase oleh ekstrak daun *Canthium glabrum* Blume.

$B_1$	$B_0$	B	Konsentrasi Sampel ( $\mu\text{g/mL}$ )	Konsentrasi Sampel dalam Larutan Uji ( $\mu\text{g/mL}$ )	$S_1$	$S_0$	S	% Penghambatan ( $(B-S/B \times 100\%)$ )	Persamaan Regresi	$IC_{50}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )
2,629	0,032	2,542	1253,75	4,1792	2,467	0,022	2,465	3,03	$y = 0,8687 + 0,4169x$	117,8491
					2,505	0,020				
					2,486	0,021				
2,501	0,013		2507,5	8,3583	2,350	0,030	2,414	5,03		
					2,539	0,031				
					2,444	0,030				
5015	16,7167		5015	16,7167	2,515	0,040	2,387	6,09		
					2,342	0,042				
					2,428	0,041				
2,565	0,0225		10030	33,4333	2,153	0,063	2,149	15,46		
					2,273	0,065				
					2,213	0,064				

Keterangan:

B = absorbansi blangko ( $B_1$ ) dikurangi absorbansi kontrol blangko ( $B_0$ )S = absorbansi sampel ( $S_1$ ) dikurangi absorbansi kontrol sampel ( $S_0$ ) $IC_{50} = 50 - a/b$ 

	= rata-rata
--	-------------

**Tabel 4.18. Hasil uji aktivitas penghambatan enzim  $\alpha$ -glukosidase oleh ekstrak daun *Chiococca javanica* Blume.**

$B_1$	$B_0$	B	Konsentrasi Sampel ( $\mu\text{g/mL}$ )	Konsentrasi Sampel dalam Larutan Uji ( $\mu\text{g/mL}$ )	$S_1$	$S_0$	S	% Penghambatan ( $(B-S/B \times 100\%)$ )	Persamaan Regresi	$IC_{50}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )
2,557	0,014	2,515	1257,5	4,1917	1,795	0,020	1,819	27,67	$y = 19,4308 + 1,2812x$	23,8598
					1,885	0,022				
					1,840	0,021				
2,501	0,015		2515	8,3833	1,802	0,023	1,767	29,74		
					1,778	0,024				
					1,790	0,023				
2,529	0,014		5030	16,7667	1,622	0,037	1,596	36,54		
					1,644	0,037				
					1,633	0,037				
2,529	0,014		10060	33,5333	0,965	0,062	0,897	64,33		
					0,949	0,058				
					0,957	0,060				

Keterangan:

B = absorbansi blangko ( $B_1$ ) dikurangi absorbansi kontrol blangko ( $B_0$ )

S = absorbansi sampel ( $S_1$ ) dikurangi absorbansi kontrol sampel ( $S_0$ )


$IC_{50} = 50 - a/b$

= rata-rata

Tabel 4.19. Hasil uji aktivitas penghambatan enzim  $\alpha$ -glukosidase oleh ekstrak daun *Hydnophytum formicarum*

B <sub>1</sub>	B <sub>0</sub>	B	Konsentrasi Sampel (µg/mL)	Konsentrasi Sampel dalam Larutan Uji (µg/mL)	S <sub>1</sub>	S <sub>0</sub>	S	% Penghambatan (B-S/B x 100%)	Persamaan Regresi	IC <sub>50</sub> (µg/mL)
2,733	0,018	2,725	1258,75	4,1958	2,753	0,020	2,754	-	y = 2,8150 + 0,2594x	181,9005
					2,791	0,016				
					2,772	0,018				
2,692	0,017		2517,5	8,3917	2,689	0,021	2,608	4,29		
					2,569	0,021				
					2,629	0,021				
5035	16,7833		2,517	0,024	2,501	8,22				
			2,533	0,025						
			2,525	0,024						
2,742	0,017		10070	33,5667	2,523	0,029	2,421	11,16		
					2,375	0,027				
					2,449	0,028				

Keterangan:

B = absorbansi blangko (B<sub>1</sub>) dikurangi absorbansi kontrol blangko (B<sub>0</sub>)S = absorbansi sampel (S<sub>1</sub>) dikurangi absorbansi kontrol sampel (S<sub>0</sub>)IC<sub>50</sub> = 50-a/b
 = rata-rata

**Tabel 4.20. Hasil uji aktivitas penghambatan enzim  $\alpha$ -glukosidase oleh ekstrak daun *Nauclea calycina* (Btrl. ex DC.) Merr.**

$B_1$	$B_0$	B	Konsentrasi Sampel ( $\mu\text{g/mL}$ )	Konsentrasi Sampel dalam Larutan Uji ( $\mu\text{g/mL}$ )	$S_1$	$S_0$	S	% Penghambatan ( $(B-S/B \times 100\%)$ )	Persamaan Regresi	$IC_{50}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )
2,870	0,009	2,742	1257,5	4,1917	2,646	0,022	2,696	1,68	$y = -8,4035 + 3,1048x$	18,8107
					2,790	0,022				
					2,718	0,022				
2,626	0,003		2515	8,3833	2,031	0,026	2,141	21,92		
					2,299	0,023				
					2,165	0,024				
5030	16,7667		1,540	0,037	1,581	42,34				
			1,700	0,041						
			1,620	0,039						
2,748	0,006		10060	33,5333	0,210	0,066	0,119	95,66		
		0,173			0,078					
		0,191			0,072					

Keterangan:

B = absorbansi blangko ( $B_1$ ) dikurangi absorbansi kontrol blangko ( $B_0$ )

S = absorbansi sampel ( $S_1$ ) dikurangi absorbansi kontrol sampel ( $S_0$ )

$IC_{50} = 50 - a/b$

= rata-rata

Tabel 4.21. Hasil uji aktivitas penghambatan enzim  $\alpha$ -glukosidase oleh ekstrak daun *Posoqueria latifolia* (Lam.) Roem. & Schult.

$B_1$	$B_0$	B	Konsentrasi Sampel ( $\mu\text{g/mL}$ )	Konsentrasi Sampel dalam Larutan Uji ( $\mu\text{g/mL}$ )	$S_1$	$S_0$	S	% Penghambatan ( $(B-S/B \times 100\%)$ )	Persamaan Regresi	$IC_{50}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )
2,501	0,011	2,528	1255	4,1833	2,534	0,016	2,524	0,15	$y = -1,1795 + 0,6376x$	80,2689
					2,545	0,014				
					2,539	0,015				
2,581	0,016		2510	8,3667	2,481	0,025	2,456	2,85		
					2,478	0,022				
					2,479	0,023				
5020	16,7333		2,281	0,025	2,180	13,77				
			2,128	0,023						
			2,204	0,024						
2,541	0,013		10040	33,4667	2,129	0,032	2,060	18,51		
					2,060	0,036				
					2,094	0,034				

Keterangan:

B = absorbansi blangko ( $B_1$ ) dikurangi absorbansi kontrol blangko ( $B_0$ )S = absorbansi sampel ( $S_1$ ) dikurangi absorbansi kontrol sampel ( $S_0$ ) $IC_{50} = 50 - a/b$  = rata-rata

Tabel 4.22. Hasil uji aktivitas penghambatan enzim  $\alpha$ -glukosidase oleh ekstrak ranting *Beaumontia multiflora* Teijsm. & Binn.

$B_1$	$B_0$	B	Konsentrasi Sampel ( $\mu\text{g/mL}$ )	Konsentrasi Sampel dalam Larutan Uji ( $\mu\text{g/mL}$ )	$S_1$	$S_0$	S	% Penghambatan ( $(B-S/B \times 100\%)$ )	Persamaan Regresi	$IC_{50}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )
2,662	0,015	2,624	1260	4,2	2,539	0,024	2,539	3,24	$y = 1,5404 + 0,3722x$	130,1977
					2,494	0,021				
					2,561	0,0225				
2,612	0,016		2520	8,4	2,498	0,023	2,494	4,95		
					2,538	0,025				
					2,518	0,024				
2,639	0,015		5040	16,8	2,465	0,038	2,437	7,13		
					2,483	0,036				
					2,474	0,037				
2,639	0,015		10080	33,6	2,270	0,044	2,249	14,29		
					2,320	0,048				
					2,295	0,046				

Keterangan:

B = absorbansi blangko ( $B_1$ ) dikurangi absorbansi kontrol blangko ( $B_0$ )S = absorbansi sampel ( $S_1$ ) dikurangi absorbansi kontrol sampel ( $S_0$ ) $IC_{50} = 50-a/b$ 

■ = rata-rata



Tabel 4.23. Hasil uji aktivitas penghambatan enzim  $\alpha$ -glukosidase oleh ekstrak ranting *Carissa carandas L.*

$B_1$	$B_0$	B	Konsentrasi Sampel ( $\mu\text{g/mL}$ )	Konsentrasi Sampel dalam Larutan Uji ( $\mu\text{g/mL}$ )	$S_1$	$S_0$	S	% Penghambatan ( $(B-S/B \times 100\%)$ )	Persamaan Regresi	$IC_{50}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )
2,667	0,015	2,624	1258,75	4,1958	2,596	0,026	2,509	4,38	$y = -4,0325 + 2,6433x$	20,4413
					2,472	0,025				
					2,534	0,025				
2,612	0,016		2517,5	8,3917	2,364	0,033	2,219	15,44		
					2,136	0,030				
					2,250	0,031				
5035	16,7833		1,453	0,042	1,336	49,08				
			1,305	0,044						
			1,379	0,043						
2,639	0,015		10070	33,5667	0,497	0,084	0,490	81,33		
					0,647	0,080				
					0,572	0,082				

Keterangan:

B = absorbansi blangko ( $B_1$ ) dikurangi absorbansi kontrol blangko ( $B_0$ )S = absorbansi sampel ( $S_1$ ) dikurangi absorbansi kontrol sampel ( $S_0$ ) $IC_{50} = 50 - a/b$ 

■ = rata-rata

Tabel 4.24. Hasil uji aktivitas penghambatan enzim  $\alpha$ -glukosidase oleh ekstrak ranting *Adina trichotoma* Zoll. & Moritzi.

$B_1$	$B_0$	B	Konsentrasi Sampel ( $\mu\text{g/mL}$ )	Konsentrasi Sampel dalam Larutan Uji ( $\mu\text{g/mL}$ )	$S_1$	$S_0$	S	% Penghambatan ( $(B-S/B \times 100\%)$ )	Persamaan Regresi	$IC_{50}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )
2,709	0,011	2,665	1257,5	4,1917	2,297	0,017	2,206	17,22	$y = 17,3765 + 0,6132x$	53,2020
					2,149	0,017				
					2,223	0,017				
2,646	0,014		2515	8,3833	1,951	0,020	2,048	23,15		
					2,183	0,018				
					2,067	0,019				
5030	16,7667		1,904	0,026	1,826	31,48				
			1,796	0,022						
			1,850	0,024						
2,677	0,012		10060	33,5333	1,732	0,037	1,700	36,21		
					1,742	0,038				
					1,737	0,037				

Keterangan:

B = absorbansi blangko ( $B_1$ ) dikurangi absorbansi kontrol blangko ( $B_0$ )S = absorbansi sampel ( $S_1$ ) dikurangi absorbansi kontrol sampel ( $S_0$ ) $IC_{50} = 50 - a/b$ 

■ = rata-rata

Tabel 4.25. Hasil uji aktivitas penghambatan enzim  $\alpha$ -glukosidase oleh ekstrak ranting *Hydnophytum formicarum*

B <sub>1</sub>	B <sub>0</sub>	B	Konsentrasi Sampel (µg/mL)	Konsentrasi Sampel dalam Larutan Uji (µg/mL)	S <sub>1</sub>	S <sub>0</sub>	S	% Penghambatan (B-S/B x 100%)	Persamaan Regresi	IC <sub>50</sub> (µg/mL)
2,709	0,011	2,665	1253,75	4,1792	1,854	0,033	1,887	29,19	y = 26,1034 + 2,1640x	11,0428
					1,982	0,029				
					1,918	0,031				
2,646	0,014		2507,5	8,3583	1,629	0,059	1,485	44,28		
					1,459	0,060				
					1,544	0,059				
5015	16,7167		0,825	0,078	0,731	72,57				
			0,785	0,070						
			0,805	0,074						
2,677	0,012	10030	33,4333	0,315	0,155	0,159	94,03			
				0,311	0,153					
				0,313	0,154					

Keterangan:

B = absorbansi blangko (B<sub>1</sub>) dikurangi absorbansi kontrol blangko (B<sub>0</sub>)S = absorbansi sampel (S<sub>1</sub>) dikurangi absorbansi kontrol sampel (S<sub>0</sub>)IC<sub>50</sub> = 50-a/b

■ = rata-rata

**Tabel 4.26. Hasil uji aktivitas penghambatan enzim  $\alpha$ -glukosidase oleh ekstrak ranting *Nauclea calycina* (Batr. ex DC.) Merr.**

$B_1$	$B_0$	B	Konsentrasi Sampel ( $\mu\text{g/mL}$ )	Konsentrasi Sampel dalam Larutan Uji ( $\mu\text{g/mL}$ )	$S_1$	$S_0$	S	% Penghambatan ( $(B-S/B \times 100\%)$ )	Persamaan Regresi	$IC_{50}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )
2,551	0,014	2,583	1257,5	4,1917	2,487	0,024	2,471	4,34	$y = -5,7514 + 2,1453x$	25,9877
					2,507	0,028				
					2,497	0,026				
2,641	0,012		2515	8,3833	2,412	0,033	2,343	9,29		
					2,342	0,035				
					2,377	0,034				
2,596	0,013		5030	16,7667	1,753	0,047	1,738	32,71		
					1,823	0,053				
					1,788	0,05				
2,596	0,013	10060	33,5333	0,973	0,092	0,890	65,54			
				0,985	0,087					
				0,979	0,089					

Keterangan:

B = absorbansi blangko ( $B_1$ ) dikurangi absorbansi kontrol blangko ( $B_0$ )

S = absorbansi sampel ( $S_1$ ) dikurangi absorbansi kontrol sampel ( $S_0$ )

$IC_{50} = 50-a/b$

= rata-rata

Tabel 4.27. Daftar IC<sub>50</sub> hasil uji aktivitas penghambatan enzim  $\alpha$ -glukosidase

Famili	Nama Simplisia	IC <sub>50</sub> ( $\mu$ g/mL)
	<b>Daun</b>	
Apocynaceae	<i>Beaumontia multiflora</i>	79,7937
	<i>Carissa carandas</i>	21,1362
	<i>Ochrosia citrodora</i>	112,0159
Rubiaceae	<i>Adina trichotoma</i>	28,2225
	<i>Amaracarpus pubescens</i>	3,6443
	<i>Canthium glabrum</i>	117,8491
	<i>Chiococca javanica</i>	23,8598
	<i>Hydnophytum formicarum</i>	181,9005
	<i>Nauclea calycina</i>	18,8107
	<i>Posoqueria latifolia</i>	80,2689
	<b>Ranting</b>	
Apocynaceae	<i>Beaumontia multiflora</i>	130,1977
	<i>Carissa carandas</i>	20,4413
Rubiaceae	<i>Adina trichotoma</i>	53,2020
	<i>Hydnophytum formicarum</i>	11,0428
	<i>Nauclea calycina</i>	25,9877
<b>IC<sub>50</sub> Akarbose</b>		117,4543


Tabel 4.28. Data absorbansi kinetika penghambatan enzim  $\alpha$ -glukosidase oleh ekstrak daun *Amaracarpus pubescens* Blume.

Konsentrasi Substrat (S)	0,03125% (V1)			0,0625% (V2)			0,125% (V3)			0,25% (V4)			Blangko (B)		
	a	b	a-b	A	b	a-b	a	b	a-b	a	b	a-b	a	b	a-b
20 mM	2,112	0,087	2,011	2,028	0,089	1,978	1,260	0,099	1,250	1,020	0,09	0,939	2,268	0,069	2,261
	2,083	0,085		2,106	0,089		1,423	0,093		1,058	0,11		2,399	0,072	
	2,097	0,086		2,067	0,089		1,341	0,096		1,039	0,10		2,331	0,070	
10 mM	1,980	0,038	1,920	1,890	0,051	1,830	0,528	0,091	0,440	0,845	0,099	0,692	2,351	0,05	2,308
	1,939	0,040		1,879	0,057		0,534	0,091		0,732	0,093		2,358	0,043	
	1,959	0,039		1,884	0,054		0,531	0,091		0,788	0,096		2,354	0,046	
5 mM	1,609	0,035	1,659	1,617	0,036	1,592	0,460	0,049	0,360	0,391	0,050	0,334	2,363	0,021	2,275
	1,780	0,035		1,637	0,034		0,356	0,047		0,381	0,046		2,230	0,021	
	1,694	0,035		1,627	0,035		0,408	0,048		0,386	0,048		2,296	0,021	
2,5 mM	1,338	0,013	1,274	1,497	0,015	1,526	0,432	0,019	0,288	0,315	0,017	0,290	2,052	0,037	1,942
	1,234	0,011		1,580	0,013		0,370	0,015		0,298	0,017		1,904	0,035	
	1,286	0,012		1,538	0,014		0,305	0,017		0,306	0,017		1,978	0,036	
1,25 mM	0,929	0,008	0,910	1,063	0,009	1,012	0,246	0,011	0,189	0,14	0,011	0,131	1,382	0,041	1,269
	0,907	0,008		0,978	0,007		0,154	0,011		0,161	0,011		1,237	0,039	
	0,918	0,008		1,020	0,008		0,200	0,011		0,150	0,011		1,309	0,040	

Keterangan:

a = serapan larutan uji

b = serapan kontrol larutan uji

 = rata-rata

**Tabel 4.29.** Data kinetika penghambatan enzim  $\alpha$ -glukosidase oleh ekstrak daun *Amaracarpus pubescens* Blume.

Konsentrasi Substrat (S)	Absorbansi					1/S	1/V1	1/V2	1/V3	1/V4	1/B
	0,03125% (V1)	0,0625% (V2)	0,125% (V3)	0,25% (V4)	Blangko (B)						
20 mM	2,011	1,978	1,250	0,939	2,261	0,05	0,497	0,506	0,800	1,065	0,442
10 mM	1,920	1,830	0,440	0,692	2,308	0,10	0,521	0,546	2,273	1,445	0,433
5 mM	1,659	1,592	0,360	0,334	2,275	0,20	0,603	0,628	2,778	2,994	0,439
2,5 mM	1,274	1,526	0,288	0,290	1,942	0,40	0,785	0,655	3,472	3,448	0,515
1,25 mM	0,910	1,012	0,189	0,131	1,269	0,80	1,099	0,988	5,910	7,634	0,788

**Tabel 4.30.** Hasil perhitungan konstanta Michaelis-Menten ( $K_M$ ) dan  $V_{max}$

	a	b	r	$K_M$ (b/a)	$V_{max}$ (1/a)
<b>0,03125% (V1)</b>	0,4475	0,8177	0,9993	1,8273	2,2346
<b>0,0625% (V2)</b>	0,4748	0,6123	0,9799	1,2896	2,1061
<b>0,125% (V3)</b>	1,1987	5,9609	0,9683	4,9728	0,8342
<b>0,25% (V4)</b>	0,6995	8,4443	0,9851	12,0719	1,4296
<b>Blangko</b>	0,3748	0,4794	0,9639	1,2790	2,6681



# LAMPIRAN



## Lampiran 1. Surat hasil identifikasi tanaman



**LEMBAGA ILMU PENGETAHUAN INDONESIA  
( Indonesian Institute of Sciences )  
PUSAT KONSERVASI TUMBUHAN - KEBUN RAYA BOGOR  
( Center for Plant Conservation - Bogor Botanical Gardens )**

Jalan Ir. H. Juanda No. 13, P.O. BOX 309 Bogor 16003, Indonesia  
Telepon (0251) 322187 - 321657 - 322220 - 311362, 352519, Fax. 62 (251) 322187, 313985  
e-mail : kriblipi@indosat.net.id

Nomor : 067 /IPH.3.02/KS/2011

Bogor, // Januari 2011

Lamp. : -

Perihal : **Identifikasi tanaman**

Kepada Yth.  
Sdri. Wulan Yuliasuti  
Npm : 0606071046  
Departemen Farmasi  
FMIPA - UI  
Jakarta

Dengan hormat,

Bersama ini kami sampaikan daftar hasil identifikasi material tumbuhan berupa daun dan ranting yang Saudari pesan dari Pusat Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Bogor, LIPI adalah dari jenis tanaman sebagaimana terlampir.

Demikianlah hasil identifikasi kami sampaikan untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

a.n. KEPALA  
KEPALA BIDANG KONSERVASI EX SITU

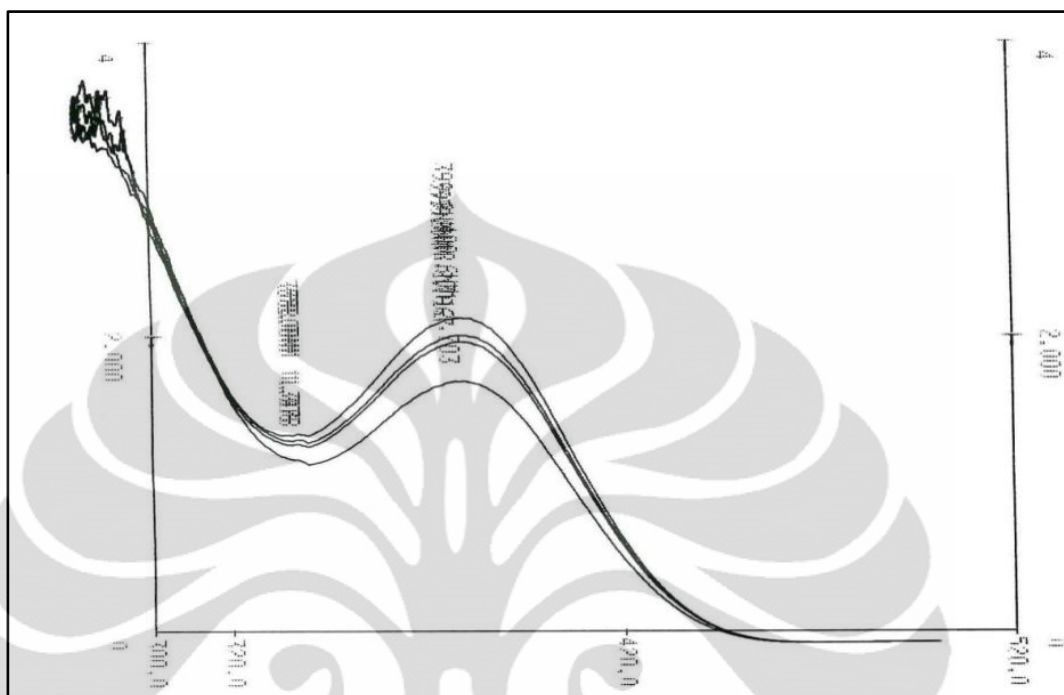


Dr. Ir. Joko Ridho Witono  
NIP. 197010091994031004

(lanjutan)

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

No.	Nama tanaman	Family
1	<i>Beaumontia multiflora</i> <i>Teijsm. &amp; Binn.</i>	Apocynaceae
2	<i>Carissa carandas</i> <i>L.</i>	Apocynaceae
3	<i>Ochrosia citrodora</i> <i>Lauterb. &amp; K. Schum.</i>	Apocynaceae
4	<i>Adina trichotoma</i> <i>Zoll. &amp; Moritz.</i>	Rubiaceae
5	<i>Amaracarpus pubescens</i> <i>Blume.</i>	Rubiaceae
6	<i>Canthium glabrum</i> <i>Blume.</i>	Rubiaceae
7	<i>Chiococca javanica</i> <i>Blume.</i>	Rubiaceae
8	<i>Hydnophytum formicarum</i>	Rubiaceae
9	<i>Nuclea calycina</i> ( <i>Batl. ex DC.</i> ) <i>Merr.</i>	Rubiaceae
10	<i>Posoqueria latifolia</i> ( <i>Lam.</i> ) <i>Roem. &amp; Schult.</i>	Rubiaceae

**Lampiran 2. Spektrum serapan p-nitrofenol akarbose**

Lampiran 3. Spektrum serapan p-nitrofenol ekstrak etanol 80%  
*Amaracarpus pubescens* Blume.

