



UNIVERSITAS INDONESIA

**SKRINING FITOKIMIA DAN UJI PENGHAMBATAN  
AKTIVITAS  $\alpha$ -GLUKOSIDASE PADA EKSTRAK ETANOL  
DARI BEBERAPA TANAMAN YANG DIGUNAKAN SEBAGAI  
OBAT ANTIDIABETES**

**SKRIPSI**

**ARY ANDRIANI  
0706264495**

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



UNIVERSITAS INDONESIA

**SKRINING FITOKIMIA DAN UJI PENGHAMBATAN  
AKTIVITAS  $\alpha$ -GLUKOSIDASE PADA EKSTRAK ETANOL  
DARI BEBERAPA TANAMAN YANG DIGUNAKAN SEBAGAI  
OBAT ANTIDIABETES**

**SKRIPSI**

**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana farmasi**

**ARY ANDRIANI**

**0706264495**

**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.**



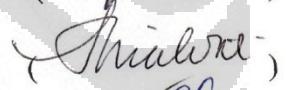
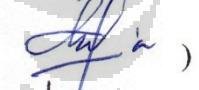
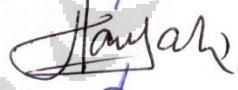
**Nama : Ary Andriani**  
**NPM : 0706264495**  
**Tanda Tangan :**   
**Tanggal : 5 Juli 2011**

## HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh

Nama : Ary Andriani  
NPM : 0706264495  
Program Studi : Sarjana Farmasi  
Judul Skripsi : Skrining Fitokimia dan Uji Penghambatan Aktivitas  $\alpha$ -Glukosidase pada Ekstrak Etanol dari Beberapa Tanaman yang Digunakan sebagai Obat Antidiabetes

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

Pembimbing I : Dr. Abdul Mun'im, M.Si., Apt. (  )  
Pembimbing II : Dra. Azizahwati, M.S., Apt. (  )  
Penguji I : Dr. Berna Elya, M.S., Apt. (  )  
Penguji II : Dra. Maryati Kurniadi, M.Si., Apt. (  )  
Penguji III : Santi Purna Sari, M.Si., Apt. (  )

Ditetapkan di : Depok  
Tanggal : 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 yang berjudul “Skrining Fitokimia dan Uji Penghambatan Aktivitas  $\alpha$ -Glukosidase pada Ekstrak Etanol dari Beberapa Tanaman yang Digunakan sebagai Obat Antidiabetes” 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) Bapak Dr. Abdul Mun'im, M.S., Apt., dan Ibu Dra. Azizahwati, M.S., Apt, selaku dosen pembimbing skripsi yang telah menyediakan waktu, bantuan, tenaga, dan pikiran untuk mengarahkan penulis dalam penyusunan skripsi ini;
- 2) Ibu Prof.Dr. Yahdiana Harahap, MS, selaku ketua Departemen Farmasi FMIPA UI;
- 3) Ibu Dr. Joshita Djajadisastra M.S., Ph.D, selaku pembimbing akademik yang telah memberikan bimbingan dan bantuan selama penulis menempuh pendidikan di Departemen Farmasi FMIPA UI;
- 4) Ibu Dr. Katrin, M.S., selaku kepala Laboratorium Fitokimia Departemen Farmasi FMIPA UI
- 5) Bapak Drs. Hayun, M. Si., selaku kepala Laboratorium Kimia Kuantitatif Departemen Farmasi FMIPA UI.
- 6) 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;

- 7) Para laboran serta karyawan Departemen Farmasi FMIPA UI yang telah membantu terlaksananya penelitian ini;
- 8) Bapak, ibu, dan kakak yang senantiasa memberikan kasih sayang, semangat, dan doa demi kelancaran studi penulis;
- 9) Rekan penelitian Kun Fitriana, Siti Masitoh, M. Gama Ramadhan, dan rekan-rekan penelitian fitokimia lain yang selalu membantu selama proses penelitian;
- 10) Sahabat-sahabatku Hanif, Hana, Rina, Dian P, Diah, Diandra, dan seluruh teman-teman seperjuangan Farmasi 2007 yang telah memberikan dukungan serta semangat kepada penulis;
- 11) Adik-adik farmasiku Seli, Fara, Purwa, dan Wardah, yang yang telah memberikan dukungan serta semangat kepada penulis selama penelitian berlangsung;
- 12) Semua pihak yang tidak dapat disebutkan namanya satu persatu yang telah membantu proses penelitian dan penyusunan skripsi ini.

Penulis berharap Tuhan yang Maha Esa berkenan membalas segala kebaikan semua pihak yang telah membantu. Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih banyak kekurangannya, baik dari segi ilmiah maupun penyajiannya. Penulis berharap penelitian ini dapat bermanfaat bagi rekan-rekan Farmasi khususnya dan para pengembang ilmu pengetahuan pada umumnya

Penulis

5 Juli 2011

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

---

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

Nama : Ary Andriani

NPM : 0706264495

Program Studi : Sarjana Farmasi

Departemen : Farmasi

Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Jenis karya : Skripsi

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

Skrining Fitokimia dan Uji Penghambatan Aktivitas a-Glukosidase pada Ekstrak Etanol dari Beberapa Tanaman yang Digunakan sebagai Obat Antidiabetes

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 mempublikasikan 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 : 5 Juli 2011

Yang menyatakan



( Ary Andriani )

## ABSTRAK

Nama : Ary Andriani  
Program Studi : Farmasi  
Judul : Skrining Fitokimia dan Uji Penghambatan Aktivitas  $\alpha$ -Glukosidase pada Ekstrak Etanol dari Beberapa Tanaman yang Digunakan sebagai Obat Antidiabetes

Diabetes melitus (DM) merupakan gangguan metabolisme yang ditandai dengan hiperglikemia dan abnormalitas metabolisme karbohidrat, lemak, dan protein. Penderita DM di dunia terus meningkat seiring dengan perkembangan populasi. Berawal dari kondisi ini, upaya pencarian sumber-sumber pengobatan DM selalu dilakukan. Salah satu terapi yang digunakan dalam mengobati DM adalah agen penghambat  $\alpha$ -glukosidase.  $\alpha$ -Glukosidase merupakan enzim yang dapat memecah karbohidrat kompleks menjadi gula sederhana. Penghambatan enzim ini dapat memperlambat pencernaan karbohidrat sehingga menunda absorpsi glukosa. Tujuan penelitian ini untuk mengidentifikasi kandungan golongan senyawa dan menguji kemampuan dalam menghambat aktivitas  $\alpha$ -glukosidase pada ekstrak etanol dari beberapa tanaman yang digunakan sebagai obat antidiabetes. Uji penghambatan aktivitas  $\alpha$ -glukosidase dilakukan dengan metode spektrofotometri. Serbuk simplisia diekstrak dengan cara refluks menggunakan etanol 80%. Berdasarkan uji penghambatan aktivitas  $\alpha$ -glukosidase, semua ekstrak tanaman dapat menghambat aktivitas  $\alpha$ -glukosidase. Tiga ekstrak paling aktif adalah ekstrak kulit batang *Ceiba pentandra* (L.) Gaertn, ekstrak akar *Saccharum officinarum*, dan ekstrak kulit batang *Persea americana* Mill. dengan nilai IC<sub>50</sub> berturut-turut, 5,16 ppm; 10,35 ppm; dan 10,83 ppm. Ketiganya mengandung glikosida, tanin, dan saponin. Berdasarkan uji kinetika penghambatan enzim diketahui bahwa ekstrak kulit batang randu memiliki aktivitas penghambatan kompetitif.

Kata kunci : *Ceiba pentandra* (L.) Gaertn, diabetes melitus,  $\alpha$ -glukosidase, *Persea americana* Mill., *Saccharum officinarum*.

xiv + 80 halaman : 20 gambar; 29 tabel; 5 lampiran

Daftar referensi : 50 (1966-2011)

## **ABSTRACT**

Nama : Ary Andriani  
Program Studi : Pharmacy  
Judul : Phytochemicals Screening and  $\alpha$ -Glucosidase Inhibitory Activity Test in Ethanolic Extract from Some Plants that were used as Antidiabetic.

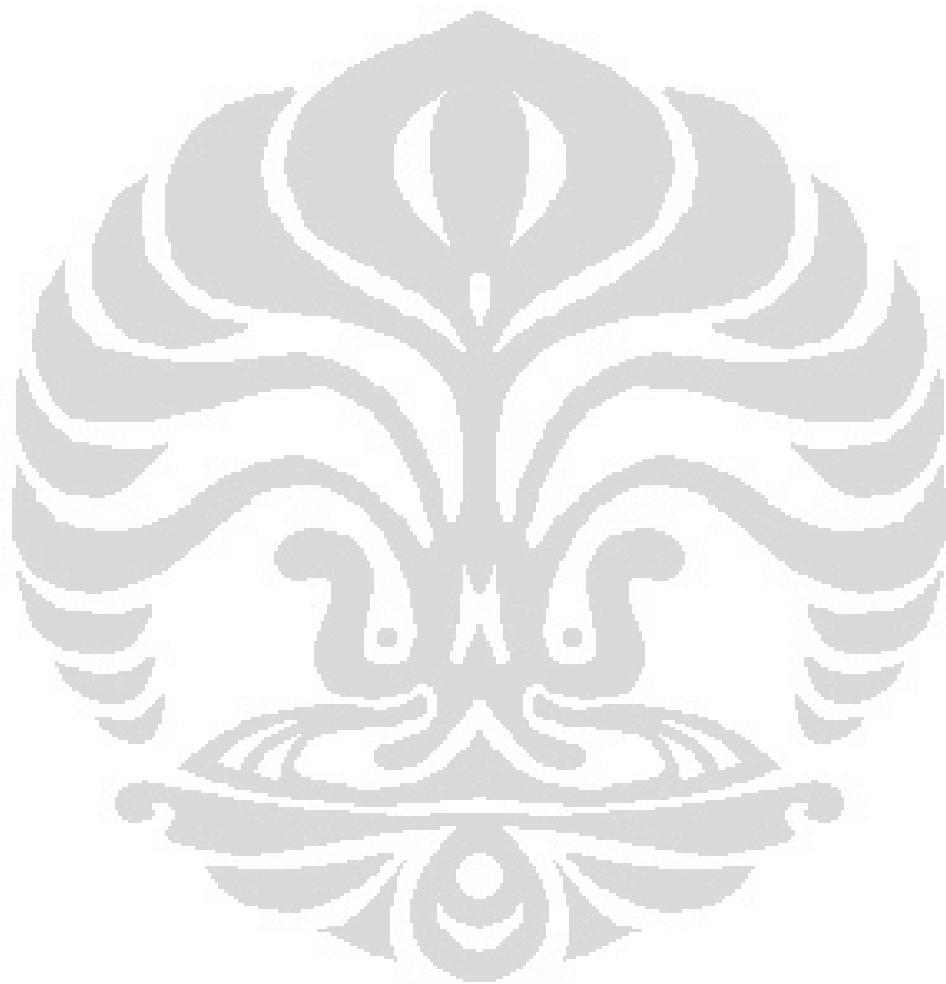
Diabetes mellitus (DM) is a group of metabolic disorders characterized by hyperglycemia and associated with abnormalities in carbohydrate, fat, and protein metabolism. Patients with DM in the world continues to increase along with population growth. Starting from this condition, the search for sources of DM treatment was always performed. One therapy used in treating DM is  $\alpha$ -glucosidase inhibitor.  $\alpha$ -Glucosidase is an enzyme that can break down complex carbohydrate into simple sugar. Inhibiton of this enzyme can retard the rate of carbohydrate digestion resulting in a delay in glucose absorption. The purpose of this study was to identify the content of chemical compound and to test the  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activity in ethanolic extracts of some plants used as antidiabetic.  $\alpha$ -Glucosidase inhibitory activity test carried out by spectrophotometric method. The simplisia powder was extracted by reflux using 80% ethanol. Based on  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activity test, all the plant extracts were active in inhibiting  $\alpha$ -glucosidase. The three most active extracts were *Ceiba pentandra* (L.) Gaetern bark extract, *Saccharum officinarum* root extract, and *Persea americana* Mill. bark extract with IC<sub>50</sub> of 5.16 ppm; 10.35 ppm; and 10.83 ppm, respectively. They were contain glycoside, tannin, and saponin. From the test results of the kinetics of inhibition of the enzyme is known that the bark extract of randu have competitive inhibitory activity.

Kata kunci : *Ceiba pentandra* (L.) Gaetern, diabetes mellitus,  $\alpha$ -glucosidase, *Persea americana* Mill., *Saccharum officinarum*.  
xiv + 80 pages : 20 figures; 29 tables; 5 appendices  
Bibliography : 50 (1966-2011)

## DAFTAR ISI

	Halaman
<b>HALAMAN JUDUL .....</b>	ii
<b>HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS .....</b>	iii
<b>HALAMAN PENGESAHAN .....</b>	iv
<b>KATA PENGANTAR .....</b>	v
<b>HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI TUGAS AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS .....</b>	vii
<b>ABSTRAK .....</b>	viii
<b>ABSTRACT .....</b>	ix
<b>DAFTAR ISI .....</b>	x
<b>DAFTAR GAMBAR .....</b>	xii
<b>DAFTAR TABEL .....</b>	xiii
<b>DAFTAR LAMPIRAN .....</b>	xiv
 <b>BAB 1. PENDAHULUAN .....</b>	 1
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Tujuan Penelitian .....	3
 <b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA .....</b>	 4
2.1 Diabetes Melitus .....	4
2.2 $\alpha$ -Glukosidase .....	7
2.3 Agen Penghambat $\alpha$ -Glukosidase .....	8
2.4 Tanaman yang Berkhasiat Sebagai Antidiabetes .....	9
2.5 Deskripsi Tanaman .....	10
2.6 Simplisia .....	14
2.7 Ekstraksi dan Ekstrak .....	15
2.8 Penapisan Fitokimia .....	16
2.9 Enzim .....	19
2.10 Uji Penghambatan Aktivitas $\alpha$ -Glukosidase .....	20
2.11 Penentuan Kinetika Penghambatan Enzim .....	21
 <b>BAB 3. METODE PENELITIAN .....</b>	 24
3.1 Tempat dan Waktu .....	24
3.2 Bahan .....	24
3.3 Alat .....	25
3.4 Prosedur Kerja .....	25
 <b>BAB 4. PEMBAHASAN .....</b>	 39
4.1 Penyiapan Bahan .....	39
4.2 Ekstraksi Simplisia .....	40
4.3 Identifikasi Kandungan Kimia .....	40
4.4 Uji Pendahuluan .....	44
4.5 Uji Penghambatan Aktivitas $\alpha$ -Glukosidase .....	45
4.6 Uji Kinetika Penghambatan Enzim .....	49

<b>BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>51</b>
5.1    Kesimpulan .....	51
5.2    Saran .....	51
<b>DAFTAR ACUAN .....</b>	<b>52</b>



## DAFTAR GAMBAR

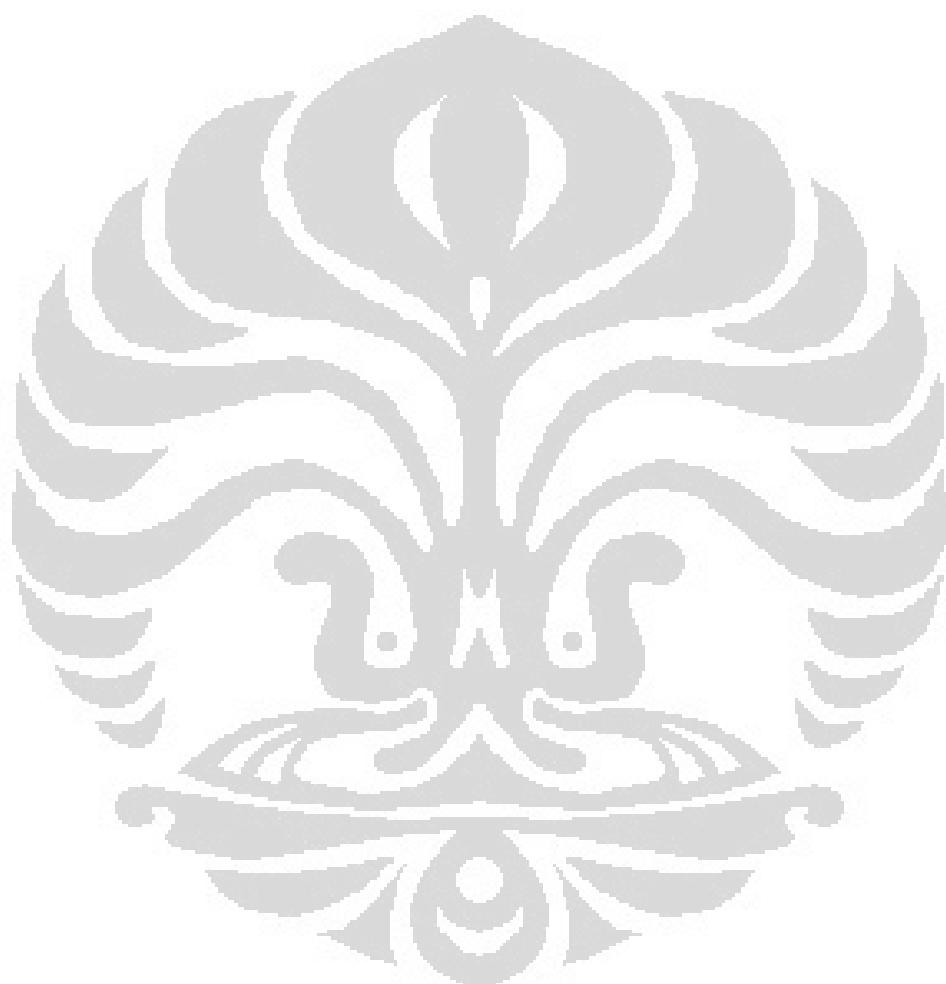
	Halaman
Gambar 2.1. Struktur kimia Akarbose .....	9
Gambar 2.2. Reaksi enzimatik $\alpha$ -glukosidase dan p-nitrofenil- $\alpha$ -D-glukopiranosa .....	21
Gambar 2.3. Kurva Lineweaver-Burk .....	22
Gambar 2.4. Plot Lineweaver-Burk pada inhibisi kompetitif .....	22
Gambar 2.5. Plot Lineweaver-Burk pada inhibisi nonkompetitif .....	23
Gambar 4.1. Kurva hasil uji pendahuluan .....	45
Gambar 4.2. Plot Lineweaver-Burk hasil uji kinetika pada ekstrak kulit batang randu .....	50
Gambar 4.3. Jali ( <i>Coix lachryma-jobi</i> ).....	57
Gambar 4.4. Tebu ( <i>Saccharum officinarum</i> ).....	57
Gambar 4.5. Kumis Kucing ( <i>Orthosiphon aristatus</i> ).....	57
Gambar 4.6. Alpukat ( <i>Persea americana</i> ) .....	57
Gambar 4.7. Bawang Putih ( <i>Allium sativum</i> ).....	58
Gambar 4.8. Lidah Buaya ( <i>Aloe barbadensis</i> ) .....	58
Gambar 4.9. Delima ( <i>Punica granatum</i> ).....	58
Gambar 4.10 Randu ( <i>Ceiba pentandra</i> ) .....	58
Gambar 4.11. Mimba ( <i>Azadirachta indica</i> ) .....	59
Gambar 4.12. Brotowali ( <i>Tinospora crispa</i> ) .....	59
Gambar 4.13. Tiin ( <i>Ficus carica</i> ).....	59
Gambar 4.14 Lowa ( <i>Ficus glomerata</i> ) .....	59
Gambar 4.15. Spektrum serapan uji penghambatan aktivitas $\alpha$ -glukosidase ekstrak kulit batang randu .....	60

## DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1. Kondisi berdasarkan kadar glukosa darah .....	7
Tabel 2.2. Tanaman yang berkhasiat sebagai antidiabetes .....	10
Tabel 3.1. Prosedur uji pendahuluan .....	31
Tabel 3.2. Prosedur uji penghambatan aktivitas $\alpha$ -glukosidase .....	35
Tabel 3.3. Prosedur uji kinetika penghambatan enzim .....	37
Tabel 4.1. Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak etanol .....	43
Tabel 4.2. Hasil uji penghambatan aktivitas $\alpha$ -glukosidase .....	48
Tabel 4.3. Susut pengeringan .....	61
Tabel 4.4. Rendemen ekstrak .....	62
Tabel 4.5. Hasil identifikasi kandungan kimia tiap ekstrak .....	63
Tabel 4.6. Hasil uji pendahuluan .....	65
Tabel 4.7. Penghambatan aktivitas enzim oleh akarbose (sebagai pembanding) .....	65
Tabel 4.8. Penghambatan aktivitas enzim oleh daun jali .....	66
Tabel 4.9. Penghambatan aktivitas enzim oleh biji jali .....	66
Tabel 4.10. Penghambatan aktivitas enzim oleh akar tebu .....	67
Tabel 4.11. Penghambatan aktivitas enzim oleh kumis kucing .....	67
Tabel 4.12. Penghambatan aktivitas enzim oleh kulit batang alpukat .....	68
Tabel 4.13. Penghambatan aktivitas enzim oleh umbi bawang putih .....	68
Tabel 4.14. Penghambatan aktivitas enzim oleh daun lidah buaya .....	69
Tabel 4.15. Penghambatan aktivitas enzim oleh daging buah-biji delima .....	69
Tabel 4.16. Penghambatan aktivitas enzim oleh kulit batang randu .....	70
Tabel 4.17. Penghambatan aktivitas enzim oleh daun mimba .....	70
Tabel 4.18. Penghambatan aktivitas enzim oleh daun brotowali .....	71
Tabel 4.19. Penghambatan aktivitas enzim oleh batang brotowali .....	71
Tabel 4.20. Penghambatan aktivitas enzim oleh daun tiin .....	72
Tabel 4.21. Penghambatan aktivitas enzim oleh kulit batang tiin .....	72
Tabel 4.22. Penghambatan aktivitas enzim oleh buah lowa .....	73
Tabel 4.23. Penghambatan aktivitas enzim oleh kulit batang lowa .....	73
Tabel 4.24. Hasil uji kinetika penghambatan enzim .....	74

## **DAFTAR LAMPIRAN**

	Halaman
Lampiran 1. Skema kerja .....	75
Lampiran 2. Hasil identifikasi tanaman .....	76
Lampiran 3. Sertifikat analisis $\alpha$ -glukosidase .....	79
Lampiran 4. <i>Shaking bath incubator</i> .....	80
Lampiran 5. Spektrofotometer Shimadzu UV-265 .....	80



## **BAB 1**

### **PENDAHULUAN**

#### **1.1 Latar Belakang**

Diabetes melitus (DM) merupakan gangguan metabolisme yang ditandai dengan hiperglikemia dan abnormalitas metabolisme karbohidrat, lemak, dan protein. Hal ini muncul sebagai akibat dari berkurangnya sekresi insulin, menurunnya sensitivitas insulin, atau keduanya (Dipiro, Talbert, Yees, Matzke, Wells, & Posey, 2005)

Penderita DM meningkat seiring dengan pertumbuhan populasi. Pada tahun 2000, jumlah penderita DM di Indonesia telah menempati urutan keempat tertinggi di dunia setelah India, Cina, dan Amerika Serikat. Pada tahun 2030 diperkirakan penderita mencapai 366 juta. Penyakit ini sangat mengancam jiwa. Tercatat satu dari dua puluh kematian disebabkan oleh DM (WHO, 2006). Berawal dari kondisi ini, upaya pencarian sumber-sumber pengobatan DM selalu dilakukan.

Penggunaan obat herbal secara tradisional dalam mengobati DM sudah lama dilakukan oleh masyarakat di dunia. Namun, sangat sedikit spesies yang telah dimanfaatkan secara modern, dalam skala besar, dan telah teruji secara klinik. Sebagai contoh ginseng di Cina dan pare di India terdapat di dalam produk yang boleh diresepkan untuk terapi DM. Maka dibutuhkan penelitian lebih luas pada tanaman-tanaman yang berkhasiat sebagai antidiabetes (Soumyanath, 2006). Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan di Indonesia, beberapa tanaman yang telah terbukti sebagai agen penghambat  $\alpha$ -glukosidase antara lain mangga dan pule (Kardono, Dewi, Lotulung, & Riswan, 2001), buah mahkota dewa (Sugiwati, Setiasih, & Afifah, 2009), dan daun sirih merah (Alfarabi, 2010).

Agen penghambat  $\alpha$ -glukosidase merupakan salah satu agen terapi antidiabetik oral yang dapat membantu menjaga tingkat glukosa darah dalam rentang normal, terutama setelah makan. Kontrol glukosa darah merupakan hal yang penting dalam terapi DM untuk menurunkan kejadian komplikasi kronis (makrovaskular dan mikrovaskular), mencegah komplikasi akut, dan

mempertahankan kualitas hidup pasien secara keseluruhan (Chisholm-Burn, et al., 2008).

Agen penghambat  $\alpha$ -glukosidase bekerja secara kompetitif menghambat enzim-enzim pencernaan karbohidrat di usus halus seperti maltase, isomaltase, sukrase, dan glukoamilase (Dipiro, Talbert, Yees, Matzke, Wells, & Posey, 2005). Penghambatan pada enzim ini dapat menunda penyerapan karbohidrat pada saluran pencernaan, sehingga dapat mencegah peningkatan konsentrasi glukosa darah setelah makan (Chisholm-Burn, et al., 2008). Agen penghambat  $\alpha$ -glukosidase memiliki efek samping yang ringan pada saluran cerna. Hal ini disebabkan oleh mekanisme aksi yang terbatas pada sisi luminal usus. Selain itu, agen penghambat  $\alpha$ -glukosidase dapat mencegah perkembangan menuju DM tipe 2 pada pasien yang lemah dalam mengkompensasi asupan glukosa (Chiasson, Josse, Gomis, Hanefeld, Karasik, & Lakso, 2002).

Pada penelitian ini dilakukan identifikasi kandungan senyawa dan uji penghambatan aktivitas  $\alpha$ -glukosidase pada ekstrak etanol dari beberapa tanaman yang digunakan sebagai obat antidiabetes. Ekstrak etanol diketahui memiliki kemampuan ekstraksi yang tinggi untuk hampir semua senyawa bahan alam yang memiliki berat molekul rendah, seperti alkaloid, saponin, dan flavonoid (Samuelsson, 1999). Maka pada proses ekstraksi digunakan pelarut etanol.

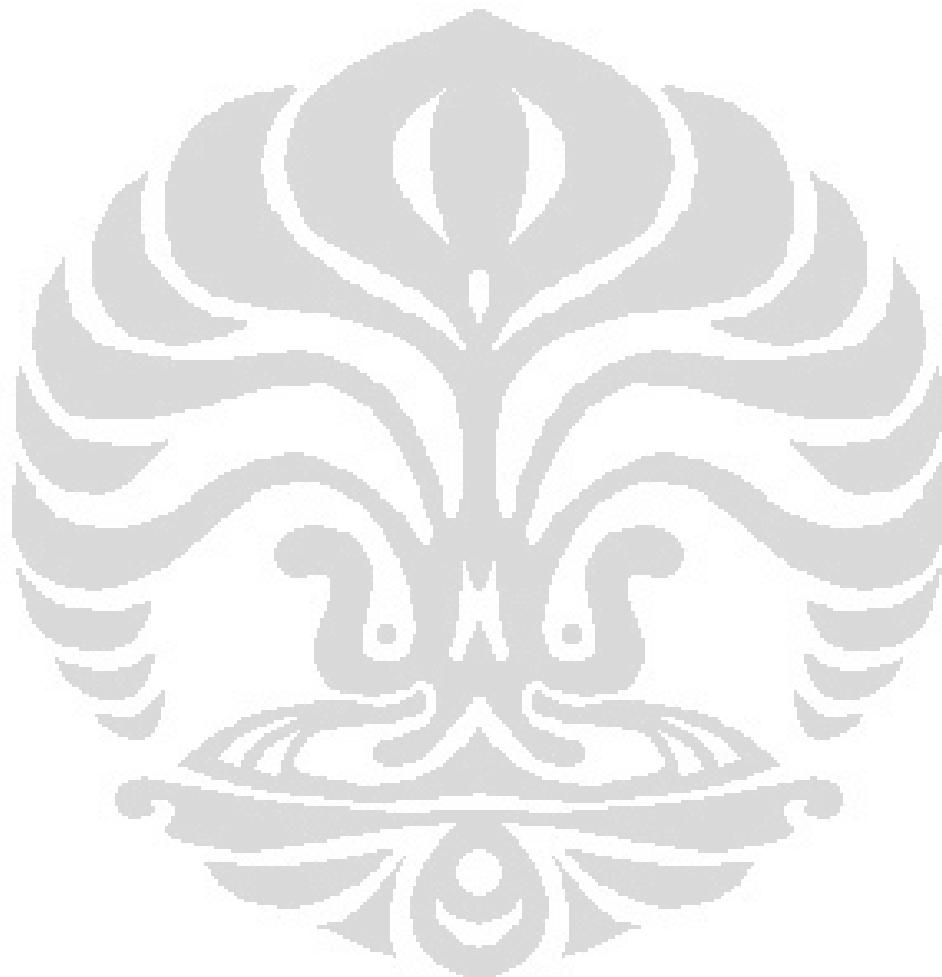
Skrining fitokimia dan uji penghambatan aktivitas  $\alpha$ -glukosidase merupakan tahap awal dalam menemukan sumber baru terapi pengobatan DM. Hasil dari skrining ini dapat dilanjutkan untuk pengujian yang lebih mendalam. Skrining fitokimia perlu dilakukan untuk mencirikan senyawa aktif yang mungkin berperan dalam kemampuan yang ditunjukkan oleh ekstrak tanaman (Harborne, 1987). Walaupun belum bisa dipastikan senyawa yang berperan dalam menghambat aktivitas  $\alpha$ -glukosidase, data kandungan senyawa ini digunakan sebagai data pelengkap untuk pengujian selanjutnya.

Uji penghambatan aktivitas  $\alpha$ -glukosidase dilakukan dengan metode spektrofotometri. Metode ini digunakan karena mudah dilakukan dan mampu memberikan hasil yang akurat dengan cepat dan tepat digunakan untuk jumlah sampel yang banyak (Eisenthal & Danson, 2002). Hasil penghambatan reaksi enzimatik tersebut diukur serapannya pada panjang gelombang 400 nm. Nilai

penghambatan ditetapkan dengan menggunakan nilai IC<sub>50</sub>, yaitu konsentrasi yang dapat menghambat 50% aktivitas  $\alpha$ -glukosidase dalam kondisi pengujian.

### 1.2 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengidentifikasi kandungan senyawa dan menguji kemampuan dalam menghambat aktivitas  $\alpha$ -glukosidase pada ekstrak etanol dari beberapa tanaman yang digunakan sebagai obat antidiabetes.



## **BAB 2**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 Diabetes Melitus**

##### **2.1.1 Klasifikasi**

Secara garis besar, diabetes diklasifikasikan menjadi diabetes tipe 1 (DM 1), dan diabetes tipe 2 (DM 2). DM 1 terjadi ketika hanya terdapat sedikit atau tidak ada sekresi insulin sebagai akibat kerusakan sel  $\beta$  pankreas. Oleh karena itu, pasien DM 1 membutuhkan terapi insulin. Umumnya DM 1 terlihat pada masa anak-anak atau remaja. Pasien DM 1 biasanya berbadan kurus karena defisiensi insulin kronis, dan ketidakmampuan sel dalam menggunakan dan menyimpan kalori dari karbohidrat secara terus-menerus (Linn, Wofford, O'Keefe, & Posey, 2009). Hiperglikemia terjadi ketika 80-90% sel  $\beta$  mengalami kehancuran. DM 1 terhitung mencapai 5%-10% dari kasus diabetes (Chisholm-Burn, et al., 2008).

DM 2 terjadi ketika terdapat resistensi insulin yang signifikan dan didukung oleh sekresi insulin yang tidak cukup dalam mengatasi adanya resistensi insulin. Usia, gaya hidup, dan penimbunan lemak merupakan faktor risiko utama terjadinya DM 2. Pasien DM 2 biasanya berumur tua dan memiliki berat badan berlebihan (obesitas); 85-90% pasien DM 2 mengalami obesitas. DM 2 terhitung mencapai 90%-95% dari kasus diabetes (Chisholm-Burn, et al., 2008).

Selain dari dua kelompok besar diabetes tersebut, terdapat tipe diabetes lainnya. Diabetes gestasional yaitu DM yang terjadi pada wanita pada masa kehamilan, diabetes yang disebabkan oleh infeksi, efek samping obat, endokrinopati, kerusakan pankreas dan kelainan genetik (Dipiro, Talbert, Yees, Matzke, Wells, & Posey, 2005).

##### **2.1.2 Terapi**

###### **2.1.2.1 Terapi Nonfarmakologi**

###### **a. Diet**

Diet yang dianjurkan adalah makanan dengan komposisi yang seimbang. Jumlah kalori disesuaikan dengan pertumbuhan, status gizi, umur, dan kegiatan

fisik. Pada dasarnya penyesuaian kalori ditujukan untuk mencapai dan mempertahankan berat badan ideal. Penurunan berat badan dapat mengurangi resistensi insulin dan memperbaiki respon sel-sel  $\beta$  terhadap stimulus glukosa. Asupan serat sangat penting bagi penderita diabetes, disamping akan menolong menghambat penyerapan lemak, makanan berserat yang tidak dapat dicerna oleh tubuh juga dapat membantu mengatasi rasa lapar yang sering dirasakan penderita DM (Depkes RI, 2005).

b. Olah raga

Olahraga secara teratur dapat menurunkan dan menjaga kadar glukosa darah tetap normal karena dapat memperbanyak jumlah dan meningkatkan aktivitas reseptor insulin dalam tubuh, serta meningkatkan penggunaan glukosa (Depkes RI, 2005).

#### 2.1.2.2 Terapi Farmakologi

Perkembangan terapi-terapi baru untuk mengobati pasien DM semakin tersedia dalam beberapa dekade terakhir. Terapi DM meliputi agen penghambat  $\alpha$ -glukosidase, biguanida, agen penginduksi sekresi insulin, dan tiazolidindion (TZD), begitu juga dengan insulin. Antidiabetik oral diindikasikan bagi pasien DM 2 yang tidak bisa mengontrol glukosa darah dengan diet dan olahraga (Chisholm-Burn, et al., 2008).

a. Sulfonilurea

Golongan sulfonilurea diklasifikasikan menjadi generasi pertama dan generasi kedua. Keduanya memiliki efektivitas yang sama ketika diberikan dalam dosis yang sesuai. Saat ini umumnya pasien DM diberikan sulfonilurea generasi kedua. Sulfonilurea generasi pertama antara lain tolazamid, tolbutamid, dan klorpropamid. Sulfonilurea generasi kedua antara lain glipizid, gliburid, dan glimepirid. Mekanisme kerja hipoglikemik sulfonilurea adalah dengan meningkatkan sekresi insulin (Chisholm-Burn, et al., 2008).

b. Meglitinid

Meglitinid merupakan terapi antidiabetik oral dengan mekanisme kerja meningkatkan sekresi insulin seperti golongan sulfonilurea. Maka sering disebut juga agen penginduksi sekresi insulin nonsulfonilurea (Chisholm-Burn, et al., 2008).

c. Biguanid

Obat golongan ini menurunkan glukosa darah dengan mekanisme kerja meningkatkan sensitivitas insulin pada jaringan hepatis dan otot. Contoh obat golongan ini adalah metformin. Metformin tidak memengaruhi pelepasan insulin dari sel  $\beta$  pankreas, sehingga tidak menyebabkan hipoglikemia (Chisholm-Burn, et al., 2008).

d. Tiazolidindion

Tiazolidindion bekerja dengan meningkatkan sensitivitas insulin. Contoh obat golongan ini adalah pioglitazon dan rosiglitazon (Chisholm-Burn, et al., 2008).

e. Penghambat  $\alpha$ -glukosidase

Penghambat  $\alpha$ -glukosidase bekerja dengan menunda penyerapan karbohidrat di usus halus sehingga mencegah peningkatan glukosa darah setelah makan. Contoh obat golongan ini adalah akarbose dan miglitol (Chisholm-Burn, et al., 2008).

f. Insulin

Insulin tersedia dalam berbagai mula kerja dan masa kerja. Sehingga insulin diklasifikasikan berdasarkan mula kerja dan masa kerjanya. Insulin yang tersedia antara lain insulin mula kerja cepat (*Short-acting Insulin*), insulin masa kerja sedang (*Intermediate-duration insulin*), insulin mula kerja cepat dengan masa kerja singkat (*reguler insulin*), dan insulin masa kerja panjang (*Long-duration insulin*) (Chisholm-Burn, et al., 2008).

### 2.1.3 Kontrol Glukosa Darah

Kadar glukosa darah yang mendekati normal merupakan hal utama dalam mencapai target terapi DM. Target terapi DM meliputi menurunkan kejadian komplikasi kronis (makrovaskular dan mikrovaskular), mencegah komplikasi akut, dan mempertahankan kualitas hidup pasien secara keseluruhan (Chisholm-Burn, et al., 2008).

Tabel 2.1. Kondisi berdasarkan kadar glukosa darah

Parameter	mg/dL	mmol/L
<b>Glukosa Puasa</b>		
Normal	< 100	< 5,6
<i>Impaired fasting glucose (IFG)</i>	100-125	5,6-6,9
Diabetes melitus	≥ 126	≥ 7,0
<b>Glukosa setelah makan</b>		
Normal	< 140	< 7,8
<i>Impaired glucose tolerance (IGT)</i>	140-199	7,8-11,0
Diabetes melitus	≥ 200	≥ 11,1

[Sumber: Chisholm-Burn, et al., 2008]

Asupan makanan yang terlalu banyak merupakan salah satu hal yang dapat menyebabkan hiperglikemia pada pasien DM (Ulbricht, & Seamon, 2010). Dalam makanan, karbohidrat merupakan penyebab utama dalam meningkatnya glukosa darah setelah makan (Chisholm-Burn, et al., 2008). Maka asupan karbohidrat harus dimonitor untuk mencapai kadar glukosa darah yang mendekati normal (Linn, Wofford, O'Keefe, & Posey, 2009). Selain menurunkan jumlah karbohidrat dalam makanan, asupan karbohidrat dapat juga diturunkan dengan menghambat enzim yang berperan dalam pencernaan karbohidrat, yaitu  $\alpha$ -glukosidase.

## 2.2 $\alpha$ -Glukosidase

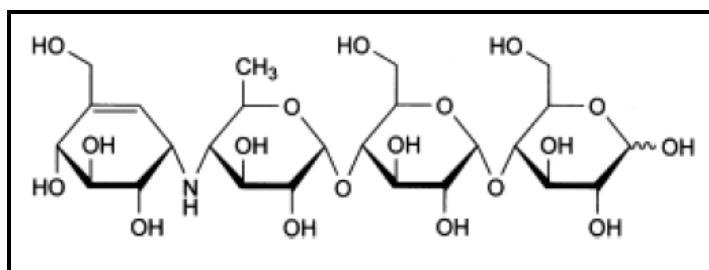
$\alpha$ -Glukosidase merupakan enzim yang berada di sepanjang dinding usus halus. Enzim ini dapat memecah karbohidrat kompleks menjadi gula sederhana (Chisholm-Burn, et al., 2008). Enzim yang terpenting adalah maltase yang

menghidrolisis maltosa, sukrase yang menghidrolisis sukrosa, dan isomaltase yang mengkatalisis pemecahan maltotriosa. Selain itu, terdapat glukoamilase yang dapat melepas satu residu gula dari ujung dekstrin yang tidak tereduksi (Coulson, 1994). Penghambatan pada enzim ini dapat menunda penyerapan karbohidrat pada saluran pencernaan, sehingga dapat mencegah peningkatan konsentrasi glukosa darah setelah makan (Chisholm-Burn, et al., 2008).

### 2.3 Agen Penghambat $\alpha$ -Glukosidase

Agen penghambat  $\alpha$ -glukosidase menghambat enzim-enzim pencernaan yang bekerja di usus halus seperti maltase, isomaltase, sukrase, dan glukoamilase secara kompetitif. Namun, obat ini tidak menyebabkan malabsorbsi. Mekanisme aksi terbatas pada sisi luminal usus. Konsentrasi glukosa setelah makan menurun 40-50 mg/dL, sementara itu tingkat glukosa puasa relatif tidak berubah (10%). Rata-rata penurunan HbA<sub>1C</sub> antara 0,3-1%. Terapi ini tepat diberikan pada pasien dengan target penurunan HbA<sub>1C</sub> yang tidak terlalu besar, dan tingkat glukosa puasa mendekati normal, tetapi memiliki tingkat glukosa yang tinggi setelah makan (Dipiro, Talbert, Yees, Matzke, Wells, & Posey, 2005).

Salah satu agen penghambat  $\alpha$ -glukosidase adalah akarbose. Dosis akarbose diawali dengan dosis rendah (25 mg), kemudian tingkatkan secara bertahap setelah beberapa bulan sampai dosis maksimum 50 mg 3 kali sehari untuk pasien dengan berat badan lebih dari 60 kg. Agen penghambat  $\alpha$ -glukosidase harus dikonsumsi bersamaan saat makan agar obat dapat menghambat aktivitas enzim. Hanya pada pasien yang mengkonsumsi makanan tinggi karbohidrat kompleks yang memiliki penurunan tingkat glukosa yang signifikan. Obat golongan ini dikontraindikasikan bagi pasien dengan sindrom *short-bowel* atau penyakit inflamasi *bowel*, dan tidak diberikan pada pasien dengan serum kreatinin kurang dari 2 mg/dL (Dipiro, Talbert, Yees, Matzke, Wells, & Posey, 2005).



[Sumber: British Pharmacopoeia 2009, 2008]

Gambar 2.1. Struktur kimia Akarbose

Efek samping pada saluran pencernaan seperti kembung, ketidaknyamanan pada perut, dan diare, sangat umum terjadi dalam penggunaan agen penghambat  $\alpha$ -glukosidase (Chisholm-Burn, et al., 2008; Dipiro, Talbert, Yees, Matzke, Wells, & Posey, 2005; Linn, Wofford, O'Keefe, & Posey, 2009). Insiden efek samping pada saluran cerna yaitu, 41,5% kembung, 11,7% ketidaknyamanan pada perut, dan 28,7% diare (Chisholm-Burn, et al., 2008). Efek samping ini disebabkan oleh mikroflora mendegradasi karbohidrat yang tidak dicerna sehingga menghasilkan gas karbondioksida dan metana (Chisholm-Burn, et al., 2008; Dipiro, Talbert, Yees, Matzke, Wells, & Posey, 2005). Penggunaan dengan dosis awal yang rendah, kemudian ditingkatkan secara perlahan dapat menurunkan efek samping pada saluran pencernaan. (Chisholm-Burn, et al., 2008; Dipiro, Talbert, Yees, Matzke, Wells, & Posey, 2005; Linn, Wofford, O'Keefe, & Posey, 2009).

Agen penghambat  $\alpha$ -glukosidase dapat digunakan sebagai terapi tunggal atau dikombinasikan dengan pengobatan diabetes lain. Pasien tidak akan mengalami peningkatan berat badan dan hipoglikemia kecuali digunakan bersamaan dengan insulin atau obat-obat golongan sulfonilurea (Linn, Wofford, O'Keefe, & Posey, 2009).

#### 2.4 Tanaman yang Berkhasiat sebagai Antidiabetes

Tabel 2.2 menunjukkan beberapa tanaman yang secara empiris digunakan sebagai pengobatan diabetes (Soumyanath, 2006) dan tumbuh di Indonesia (Medicinal herb index in Indonesia, 1986).

Tabel 2.2. Tanaman yang berkhasiat sebagai antidiabetes

No	Tanaman		Bagian yang Digunakan
	Famili	Spesies	
1	Poaceae	<i>Coix lachryma-jobi</i> L. (Jali)	Daun dan biji
2	Poaceae	<i>Saccharum officinarum</i> (Tebu)	Akar
3	Lamiaceae	<i>Orthosiphon aristatus</i> Miq. (kumis kucing)	Daun
4	Lauraceae	<i>Persea americana</i> Mill. (alpukat)	Kulit batang
5	Liliaceae	<i>Allium sativum</i> L. (bawang putih)	Umbi
6	Liliaceae	<i>Aloe barbadensis</i> Mill (Lidah buaya)	Daun
7	Punicaceae	<i>Punica granatum</i> L. (Delima)	Daging buah-biji
8	Bombacaceae	<i>Ceiba pentandra</i> (L.) Gaetern (Randu)	Kulit batang
9	Meliaceae	<i>Azadirachta indica</i> A. Juss (Mimba)	Daun
10	Menispermaceae	<i>Tinospora crispa</i> Miers. (Brotowali)	Daun, batang
11	Moraceae	<i>Ficus carica</i> L. (Tiin)	Daun, kulit batang
12	Moraceae	<i>Ficus glomerata</i> Roxb. (Lowa)	Buah, kulit batang

## 2.5 Deskripsi Tanaman

### 2.5.1 Jali (*Coix lachryma-jobi* L.)

Jali merupakan rumput yang sangat merumpun dengan tinggi 1,5-3 m. Daun berukuran besar, dan lebar. Terdiri atas satu atau dua bunga betina yang bertumpuk. Bunga betina dikelilingi sebuah daun pelindung yang mengkilat seperti porselein, tebal, dan keras seperti batu. Buah dapat berubah warna menjadi putih kapur kadang-kadang menjadi kuning atau merah lembayung (Heyne, 1987). Biji dan akar mengandung saponin dan flavonoid, disamping itu biji juga mengandung polifenol dan akarnya juga mengandung tanin. Biji jali berkhasiat sebagai peluruh air seni. Sedangkan akarnya dapat digunakan untuk mengobati sakit perut dan cacingan (Riset dan Teknologi Indonesia, 2002).

### 2.5.2 Tebu (*Saccharum officinarum*)

Tanaman berupa rumput yang kokoh, kuat, menahun, berumpun kuat dengan tunas merayap. Tinggi 2,6 m. Batang dengan mata akar pada ruas, berwarna kuning, ungu, coklat, atau merah. Pelepas daun pada sisi dan punggungnya berambut panjang dan tajam. Helaian daun berbentuk garis dan bertepi kasar (Steenis, 1975). Batang mengandung glikosida, saponin, flavonoid,

dan polifenol. Batang tebu berkhasiat sebagai obat batuk, obat pegal, dan obat kuat (Riset dan Teknologi Indonesia, 2002).

#### 2.5.3 Kumis kucing (*Orthosiphon aristatus* Miq.)

Tanaman berupa herba berkayu. Pada batang sering bercabang. Tinggi 0,4-1,5 m. Batang berambut pendek. Tangkai daun 0,4-3 cm; helaihan daun berbentuk bulat telur, elips, atau memanjang. Daun pelindung kecil. Tangkai bunga pendek. Kelopak berambut pendek dengan panjang 5,5-7,5 mm. Kepala sari berwarna ungu. Kelopak buah panjangnya lebih kurang 1 cm. Buah keras memanjang, berkerut, dan halus (Steenis, 1975). Daun mengandung alkaloid, saponin, flavonoid, dan polifenol. Daun kumis kucing dapat digunakan sebagai peluruh air seni dan untuk mengobati penyakit batu ginjal, kencing manis, dan encok (Riset dan Teknologi Indonesia, 2002).

#### 2.5.4 Alpukat (*Persea americana* Mill.)

Pohon dengan tinggi 3-10 m. Daun bertangkai, berkumpul pada ujung ranting, bulat telur memanjang, bulat telur terbalik memanjang seperti kulit, saat muda memiliki banyak rambut, kemudian gundul. Bunga berkelamin dua, terdapat di dekat ujung ranting. Buah berbentuk bola atau buah pir, panjang 5-20 cm, berbiji satu, berwarna hijau atau kuning, keungu-unguan atau berbintik-bintik, dan berbau enak. Biji berbentuk bola dengan garis tengah 2,5-5 m (Steenis, 1975). Buah dan daun alpukat mengandung tanin, saponin, glikosida dan alkaloid (Mensah, Okoli, Turay, & Ogie-Odia, 2009).

#### 2.5.5 Bawang putih (*Allium sativum* L.)

Tanaman herba, semusim, dengan tinggi 50-60 cm. Batang Semu, beralur, dan berwarna hijau. Daun tunggal, berupa reset. Akar berbentuk lanset, tepi rata, ujung runcing, beralur, dengan panjang 60 cm, lebar lebih kurang 1,5 cm, menebal dan berdaging serta mengandung persediaan makanan yang terdiri atas lubang yang dilapisi daun sehingga menjadi umbi, dan berwarna hijau. Bunga majernuk, berbentuk payung, bertangkai panjang, dan berwarna putih (Hutapea et al., 1993). Ekstrak etanol dan air dari umbi bawang putih mengandung

karbohidrat, gula pereduksi, lipid, flavonoid, keton, alkaloid, steroid, dan triterpen (Olusanmi & Amadi, 2009). Bawang putih dapat digunakan untuk mengobati hipertensi dan sakit kepala. Selain itu bawang putih berkhasiat sebagai antibiotik (Riset dan Teknologi Indonesia, 2002).

#### 2.5.6 Lidah buaya (*Aloe barbadensis* Mill)

Tanaman semak, dengan tinggi kurang lebih 1 m. Batang berbentuk bulat, tidak berkayu, dan berwarna coklat. Daun tunggal, lanset, ujung runcing, pangkal tumpul, tepi bergerigi, dengan panjang 30-50 cm, dan lebar 2-5 cm, berdaging tebal, berlendir, bergetah kuning, dan berwarna hijau. Biji berbentuk bulat, kecil, dan berwarna hitam. Akar serabut, dan berwarna kuning kotor (Hutapea et al., 1993). Ekstrak etanol daun lidah buaya mengandung tanin, saponin, flavonoid, dan terpenoid (Arunkumar & Muthuselvam, 2009). Selain itu mengandung glikosida dan antrakuinon (Joseph & Raj, 2010). Daun lidah buaya berkhasiat untuk urus-urus, sebagai obat sakit perut, obat eksim, dan dapat menyuburkan rambut (Riset dan Teknologi Indonesia, 2002).

#### 2.5.7 Delima (*Punica granatum* L.)

Tanaman perdu yang bercabang, dengan tinggi 1-5 m. Ranting berduri. Daun bertangkai, berbentuk memanjang atau bentuk lanset, gundul. Bunga berada di ujung dan ketiak daun teratas. Kelopak bunga tingginya 2-3 cm, berwarna merah atau kuning pucat. Daun mahkota membulat dengan panjang 1,5-3 cm, berwarna merah atau putih. Tangkai sari waktu bunga kuncup melengkung ke dalam. Buah berdiameter 5-12 cm, berwarna putih hijau kekuningan, coklat merah, atau ungu hitam. Biji berwarna merah atau putih kekuningan (Steenis, 1975). Ekstrak etanol biji delima mengandung flavonoid, tanin, glikosida, dan saponin (Kumar, Maheswari, & Singh, 2008). Akar delima digunakan untuk mengobati cacingan, batuk, dan diare (Riset dan Teknologi Indonesia, 2002).

#### 2.5.8 Randu (*Ceiba pentandra* (L.) Gaetern)

Pohon dengan tinggi 8-30 m dan berdiameter 100-300 cm. Batang berbentuk silindris sampai mengembung. Daun berbentuk majemuk menjari,

bergantian dan berkerumun di ujung dahan. Panjang tangkai daun 5-25 cm, merah di bagian pangkal, langsing dan tidak berbulu. Daun memiliki 5-9 anak daun, dengan panjang 5-20 cm, lebar 1.5-5 cm, lonjong sampai lonjong sungsang, ujung meruncing, dasar segitiga sungsang terpisah satu sama lain, berwarna hijau tua di bagian atas dan hijau muda di bagian bawah, dan tidak berbulu. Bunga menggantung majemuk, bergerombol pada ranting, hermaprodit, berwarna keputih-putihan, dan berukuran besar. Buah keras, menyerupai elips, menggantung dengan panjang 10-30 cm, dan lebar 3-6 cm, jarang pecah di atas pohon. Buah berkotak lima, berisi kapuk abu-abu, terdapat 120-175 butir biji. Biji berwarna hitam atau coklat tua, dan terbungkus kapuk (Informasi singkat benih, 2001). Ekstrak etanol randu mengandung saponin, tanin, dan alkaloid (Kubmarawa, Ajoku, Enwerem, & Okorie, 2007). Daun randu dapat digunakan untuk mengobati batuk, diare, dan sebagai penguat rambut (Riset dan Teknologi Indonesia, 2002).

#### 2.5.9 Mimba (*Azadirachta indica* A. Juss)

Pohon atau perdu dengan tinggi 2-30 cm. Panjang daun 20-60 cm, sirip 3-5 pasang, memiliki anak daun 4-8 pasang dan anak daun di ujung. Anak daun panjangnya 3-5 kali lebarnya. Anak daun berbentuk lanset sampai elips. Daun mahkota berjumlah lima, berwarna ungu pucat dengan panjang lebih kurang 1 cm. Panjang buah lebih kurang 1,5 cm, berbentuk bulat, berwarna coklat kekuningan, dan berbiji satu (Steenis, 1975). Ekstrak etanol daun mimba mengandung tanin, saponin, terpenoid, flavonoid, glikosida, dan alkaloid (Ayeni & Yahaya, 2010) . Daun mimba dapat digunakan untuk mengobati demam, dan untuk menguatkan badan (Riset dan Teknologi Indonesia, 2002).

#### 2.5.10 Brotowali (*Tinospora crispa* Miers.)

Tanaman perdu, dan memanjat. Tinggi batang mencapai 2,5 m, berkutil-kutil rapat. Daun bertangkai, dengan panjang mencapai 16 cm, bentuknya seperti jantung atau agak bundar telur, dan berujung lancip dengan lebar 6-13 cm. Bunga berbentuk tandan semu dengan bunga 1-3 bersama-sama, menggantung, dengan panjang 7-25 cm. Bunga jantan bergagang pendek dengan panjang 3-4 mm. Daun

mahkota berjumlah tiga, dengan panjang lebih kurang 8 mm. Brotowali mengandung pati, glikosida pikroretosid, alkaloid, berberin, dan palmatin, zat pahit pikroretin, harsa, damar lunak. Akarnya mengandung berberin dan kolumbin (Depkes RI, 1989). Batang brotowali dapat digunakan sebagai obat kudis, demam, dan peluruh air seni (Riset dan Teknologi Indonesia, 2002).

#### 2.5.11 Tiin (*Ficus carica* L.)

Pohon perdu lebar, tumbuh hingga ketinggian 3-10 meter. Panjang daun 12-25 cm panjang dan lebar 10-18 cm dengan 3 atau 5 cuping. Panjang buahnya 3-5 cm dan biasanya berwarna hijau. Beberapa kultivar berubah warna menjadi ungu jika masak (Haris, 2010). Daun mengandung steroid/triterpenoid, flavonoid, dan tanin (Kalaskar, Shah, Raja, Surana, & Gond, 2010).

#### 2.5.12 Lowa (*Ficus glomerata* Roxb)

Pohon dengan tinggi 17 m. Batang berkayu, tegak, bulat, percabangan simpodial, dan berwarna coklat. Daun tunggal, lonjong, dengan panjang 7,5 cm, dan lebar 2,5 cm. Ujung daun runcing, pangkal membulat, tepi rata, pertulangan menyirip, tangkai silindris, dengan panjang 2 cm, dan berwarna coklat kehijauan, atau hijau. Bunga majemuk, berbentuk tandan, terdapat bunga jantan dan betina serta bunga yang steril. Buah buni, bulat, berdiameter 6 cm, dan berwarna merah. Biji berbentuk bulat, kecil, dan berwarna putih. Akar berbentuk tunggang, dan berwarna coklat (Hutapea et al., 1993). Ekstrak etanol buah lowa mengandung alkaloid, flavonoid, glikosida, tanin, dan terpenoid (Kumar, Sharma, & Rao, 2010). Ekstrak etanol batang lowa mengandung flavonoid, glikosida, tanin, dan triterpenoid (Poongothai, Sreena, Sreejith, Uthiralingam, & Annapoorani, 2011). Daun dan buah lowa dapat digunakan sebagai obat diare (Riset dan Teknologi Indonesia, 2002).

### 2.6 Simplisia

Simplisia adalah bahan alamiah yang dipergunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan dan bila dinyatakan lain berupa bahan yang telah dikeringkan. Simplisia berdasarkan sumbernya dapat dibedakan menjadi tiga yaitu

simplisia nabati, simplisia hewani, simplisia pelikan (mineral). Simplisia nabati adalah simplisia yang berupa tumbuhan utuh, bagian tumbuhan atau eksudat tumbuhan (isi sel) yang secara spontan keluar dari tumbuhan atau isi sel yang dengan cara tertentu dikeluarkan dari selnya. 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 yang belum diolah dengan cara sederhana atau belum berupa zat kimia murni (Depkes RI, 1995).

## 2.7 Ekstraksi dan Ekstrak

Ekstraksi adalah kegiatan penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut dengan pelarut cair. Terdapat beberapa metode ekstraksi antara lain cara dingin dan cara panas. Ekstrak adalah sediaan pekat yang diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang diperoleh diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan. Cairan pelarut dalam proses pembuatan ekstrak adalah pelarut yang baik 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 yang diinginkan (Depkes RI, 2000).

### 2.7.1 Cara dingin

Ekstraksi cara dingin dapat dilakukan dengan maserasi atau perkolasasi. Maserasi adalah proses ekstraksi simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan. Secara teknologi termasuk ekstraksi dengan prinsip metode pencapaian konsentrasi pada keseimbangan. Maserasi kinetik berarti dilakukan pengadukan yang terus-menerus. Remaserasi berarti dilakukan pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserat pertama, dan seterusnya.

Perkolasi adalah ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru sampai sempurna (*exhaustive extraction*) yang umumnya dilakukan pada temperatur ruangan. Proses terdiri dari tahap pengembangan bahan, tahap maserasi antara,

tahap perkolasai sebenarnya (penetesan/penampungan ekstrak). Hal ini terus menerus sampai diperoleh ekstrak yang jumlahnya 1-5 kali bahan.

### 2.7.2 Cara panas

Ekstraksi dengan cara panas dapat dilakukan dengan refluks, soxhlet, digesti, infus, atau dekok. 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.

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

Digesti adalah maserasi kinetik, yaitu dengan pengadukan secara terus-menerus pada temperatur yang lebih tinggi dari temperatur ruangan. Digesti umumnya dilakukan pada temperatur 40-50°C. Infus adalah ekstraksi dengan pelarut air pada temperatur penangas air (bejana infus tercelup dalam penangas air mendidih, temperatur terukur 96-98°C) selama waktu tertentu (15-20 menit). Sedangkan dekok adalah infus pada waktu yang lebih lama dan temperatur sampai titik didih air.

## 2.8 Penapisan Fitokimia

Penapisan fitokimia adalah pemeriksaan kandungan kimia secara kualitatif untuk mengetahui golongan senyawa yang terkandung dalam suatu tumbuhan. Pemeriksaan dilakukan pada senyawa metabolit sekunder yang memiliki khasiat bagi kesehatan seperti, alkaloid, glikosida, flavonoid, terpenoid, tanin, dan saponin (Harborne, 1987).

### 2.8.1 Alkaloid

Alkaloid adalah senyawa yang mengandung satu atau lebih atom nitrogen, biasanya dalam gabungan, sebagai bagian dari sistem siklik. Alkaloid umumnya tidak berwana, sering kali bersifat optis aktif, dan umumnya berbentuk

kristal tetapi hanya sedikit yang berupa cairan pada suhu kamar, misalnya nikotin (Harborne, 1987). Alkaloid dalam bentuk garam mudah larut dalam air. Sedangkan dalam bentuk bebas atau basanya mudah larut dalam pelarut organik. Karena sifatnya yang mudah membentuk garam dengan asam klorida atau asam sulfat maka alkaloid dapat ditarik menggunakan pelarut asam klorida encer atau asam sulfat encer. Kemudian dibasakan dengan natrium hidroksida atau kalsium laktat (Sirait, 2007).

### 2.8.2 Glikosida

Glikosida adalah suatu senyawa, bila dihidrolisis akan terurai menjadi gula (glikon) dan senyawa lain (aglikon atau genin). Glikosida dibedakan menjadi  $\alpha$ -glikosida dan  $\beta$ -glikosida. Pada tanaman, glikosida biasanya terdapat dalam bentuk beta. Umumnya glikosida mudah terhidrolisis oleh asam mineral atau enzim. Hidrolisis oleh asam memerlukan panas. Hidrolisis oleh enzim tidak memerlukan panas. Pada tanaman, hidrolisis oleh enzim terjadi pada proses perkecambahan, luka, dan aktivitas fisiologis dari sel (Sirait, 2007)

### 2.8.3 Flavonoid

Flavonoid merupakan senyawa yang umumnya terdapat pada tumbuhan berpembuluh, terikat pada gula sebagai glikosida dan aglikon flavonoid. Dalam menganalisis flavonoid, yang diperiksa adalah aglikon dalam ekstrak tumbuhan yang sudah dihidrolisis. Proses ekstraksi senyawa ini dilakukan dengan etanol mendidih untuk menghindari oksidasi enzim (Harborne, 1987).

### 2.8.4 Terpen

Terpen adalah suatu senyawa yang tersusun atas isopren  $\text{CH}_2=\text{C}(\text{CH}_3)-\text{CH}=\text{CH}_2$  dan kerangka karbonnya dibangun oleh penyambungan dua atau lebih satuan C5 ini. Terpenoid terdiri atas beberapa macam senyawa seperti monoterpen dan seskuiterpen yang mudah menguap, diterpen yang sukar menguap, dan triterpen dan sterol yang tidak menguap. Secara umum senyawa ini larut dalam lemak dan terdapat dalam sitoplasma sel tumbuhan. Biasanya senyawa ini diekstraksi dengan menggunakan petroleum eter, eter, atau

kloroform. Steroid merupakan senyawa triterpen yang terdapat dalam bentuk glikosida (Harborne, 1987).

#### 2.8.5 Tanin

Tanin merupakan senyawa umum yang terdapat dalam tumbuhan berpembuluh, memiliki gugus fenol, memiliki rasa sepat dan mampu menyamak kulit karena kemampuannya menyambung silang protein. Jika bereaksi dengan protein membentuk kopolimer mantap yang tidak larut dalam air.

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).

#### 2.8.6 Saponin

Saponin adalah glikosida triterpen yang merupakan senyawa aktif permukaan dan bersifat seperti sabun yang jika dikocok kuat akan menimbulkan busa. Pada konsentrasi yang rendah sering menyebabkan hemolisis sel darah merah pada tikus (Harborne, 1987).

#### 2.8.7 Kuinon

Kuinon adalah senyawa berwarna dan mempunyai kromofor dasar. Untuk tujuan identifikasi, kuinon dibagi menjadi empat kelompok: benzokuinon, naftokuinon, antrakuinon dan kuinon isoprenoid. Benzokuinon, naftokuinon, dan antrakuinon umumnya terhidroksilasi dan bersifat senyawa fenol dan mungkin terdapat *in vivo* dalam bentuk glikosida. Sedangkan kuinon isoprenoid terlibat dalam respirasi sel (ubikuinon) dan fotosintesis (plastokuinon) maka tersebar luas dalam tumbuhan (Harborne, 1987).

## 2.9 Enzim

### 2.9.1 Karakter Enzim

Enzim merupakan protein yang berperan sebagai katalisator yang dapat mempercepat reaksi tanpa mengalami perubahan di dalam reaksi yang berlangsung. Enzim memiliki celah khusus yang disebut dengan sisi aktif. Sisi aktif terdiri dari rantai samping asam amino yang membentuk permukaan tiga dimensi dan sesuai dengan substrat. Bila sisi aktif enzim berikatan dengan substrat, akan terbentuk kompleks enzim-substrat (ES). ES diubah menjadi enzim-produk (EP), kemudian terpecah menjadi enzim dan produk (Champe, Harvey, & Ferrier, 2005).

Enzim memiliki spesifitas atau spesifik dalam bereaksi dengan satu atau beberapa substrat dan hanya mengkatalisis satu macam reaksi kimia. Kecepatan reaksi yang dikatalisis oleh enzim dapat dipengaruhi oleh berbagai faktor, antara lain konsentrasi substrat, suhu, dan pH (Champe, Harvey, & Ferrier, 2005).

### 2.9.2 Persamaan Michaelis-Menten

Persamaan Michaelis-Menten menunjukkan kecepatan reaksi bervariasi dengan variasi konsentrasi substrat.

$$V_i = \frac{V_{max}[s]}{K_m + [s]} \quad (2.1)$$

Keterangan :  $V_i$  = kecepatan reaksi awal;  $V_{max}$  = kecepatan maksimum;  $K_m$  = tetapan kinetika; Michaelis-Menten;  $[S]$  = konsentrasi substrat

Berdasarkan persamaan Michaelis-Menten, dapat ditarik beberapa kesimpulan. Pertama, nilai  $K_m$  menunjukkan afinitas antara enzim dan substrat. Secara nilai,  $K_m$  sebanding dengan konsentrasi substrat dimana kecepatan reaksi mencapai setengah kecepatan reaksi ( $V_{max}/2$ ). Dalam hal ini,  $K_m$  tidak dipengaruhi oleh konsentrasi enzim. Kedua, kecepatan reaksi berbanding lurus dengan konsentrasi enzim. Ketiga, berdasarkan orde reaksi, saat konsentrasi substrat lebih rendah dari  $K_m$ , kecepatan reaksi sebanding dengan konsentrasi

substrat. Maka kecepatan reaksi memenuhi orde satu. Namun, ketika konsentrasi substrat jauh lebih besar dari  $K_m$ , kecepatan reaksi konstan dan sama dengan  $V_{max}$ . Kemudian kecepatan reaksi tidak dipengaruhi oleh konsentrasi substrat, dan kecepatan reaksi memenuhi orde nol.

### 2.9.3 Penghambatan Aktivitas Enzim

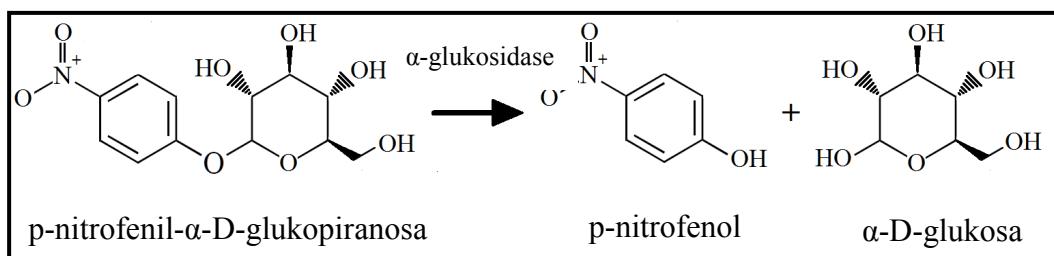
Suatu senyawa yang dapat menurunkan kecepatan reaksi yang dikatalisis oleh enzim disebut inhibitor (Champe, Harvey, & Ferrier, 2005). Proses penghambatan aktivitas enzim dapat terjadi secara *reversible* atau *irreversible*. Pada penghambatan enzim secara *irreversible*, terbentuk ikatan kovalen antara enzim dan inhibitor. Aktivitas enzim tidak dapat diperbaiki dengan memisahnya inhibitor dari enzim. Penghambatan enzim secara *reversible* dibagi menjadi dua tipe penghambatan enzim, yaitu penghambatan kompetitif dan nonkompetitif (McPherson & Pincus, 2007).

Penghambatan kompetitif terjadi ketika inhibitor berikatan dengan sisi aktif yang sama dengan substrat. Hal ini terjadi karena inhibitor memiliki struktur yang menyerupai substrat sehingga enzim mengenal dan mengikat inhibitor seolah-olah sebagai substrat (McPherson & Pincus, 2007).

Penghambatan nonkompetitif terjadi ketika inhibitor berikatan dengan sisi yang berbeda dari sisi ikatan substrat. Baik inhibitor maupun substrat memiliki kemampuan untuk berikatan dengan enzim secara bersamaan. Ikatan inhibitor pada sisi lain ini dapat menghambat aktivitas enzim baik secara keseluruhan maupun sebagian. Inhibitor nonkompetitif dapat berikatan baik dengan enzim bebas maupun kompleks ES (McPherson & Pincus, 2007).

## 2.10 Uji Penghambatan Aktivitas $\alpha$ -Glukosidase

Uji penghambatan  $\alpha$ -glukosidase dilakukan dengan reaksi enzimatis. Dalam pengujian ini,  $\alpha$ -glukosidase akan menghidrolisis substrat p-nitrofenil- $\alpha$ -D-glukopiranosa menjadi p-nitrofenol yang berwarna kuning dan glukosa (Sugiwati, Setiasih, & Afifah, 2009)



Gambar 2.2. Reaksi enzimatik  $\alpha$ -glukosidase dan p-nitrofenil- $\alpha$ -D-glukopiranosa

Pengukuran aktivitas didasarkan pada pengukuran serapan p-nitrofenol yang berwarna kuning. Intensitas warna kuning yang terbentuk ditentukan serapannya dengan menggunakan spektrofotometer *double beam* pada panjang gelombang 400 nm. Apabila ekstrak tanaman memiliki kemampuan menghambat aktivitas  $\alpha$ -glukosidase maka p-nitrofenol yang dihasilkan akan berkurang. Metode spektrofotometri digunakan karena mudah dilakukan dan mampu memberikan hasil yang akurat dengan cepat dan tepat digunakan untuk jumlah sampel yang banyak (Eisenthal & Danson, 2002).

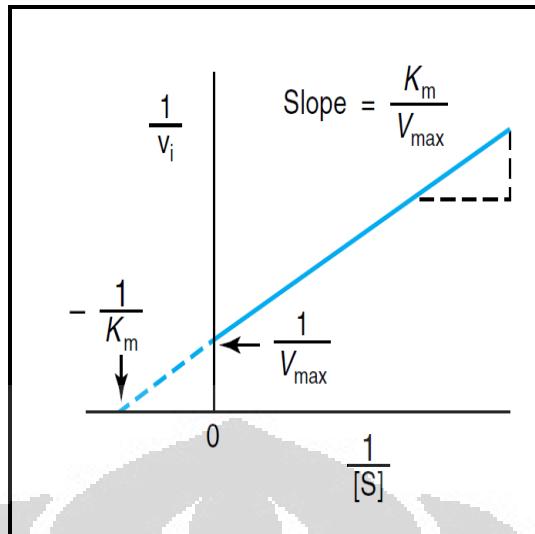
### 2.11 Penentuan Kinetika Penghambatan Enzim

Penentuan kinetika inhibisi enzim diukur dengan meningkatkan konsentrasi p-nitrofenil  $\alpha$ -D-glukopiranosa sebagai substrat baik pada saat tidak adanya penghambat  $\alpha$ -glukosidase (ekstrak), maupun pada saat adanya penghambat  $\alpha$ -glukosidase (ekstrak) dengan beberapa konsentrasi yang berbeda. Jenis inhibisi ditentukan dengan analisis data menggunakan metode Lineweaver-Burk untuk memperoleh tetapan kinetika Michaelis-Menten (Dewi et al., 2007).

Tetapan kinetika Michaelis-Menten dihitung berdasarkan persamaan regresi  $y = a + b x$  yang diperoleh melalui penurunan persamaan Michaelis-Menten, dimana  $x$  adalah  $1/[S]$  dan  $y$  adalah  $1/V_0$  (Murray, Granner, Mayes, & Rodwell, 2003).

$$\frac{1}{V_i} = \frac{K_m}{V_{max}} \times \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{max}}$$

$$y = bx + a \quad (2.2)$$



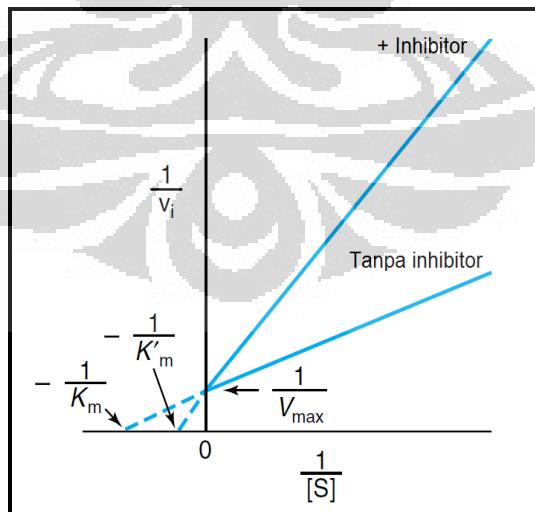
[Sumber: Murray, Granner, Mayes, & Rodwell, 2003]

Gambar 2.3. Kurva Lineweaver-Burk

Sehingga  $y = 0 \rightarrow x = -1/K_M$

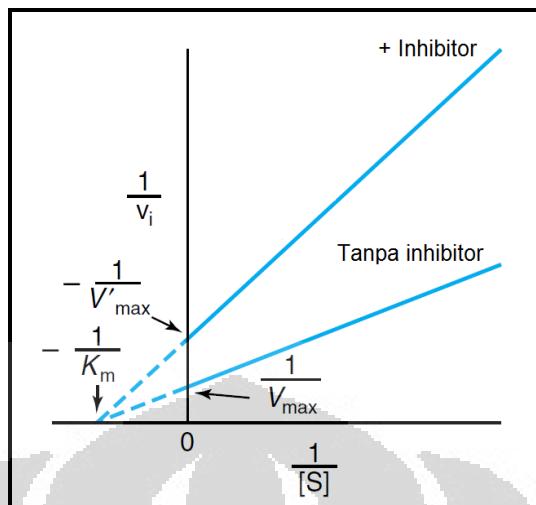
$$y = a + b(-1/K_M) \rightarrow K_M = b/a \quad (2.3)$$

Jenis penghambatan dapat juga dilihat dari bentuk plot Lineweaver-Burk (Murray, Granner, Mayes, & Rodwell, 2003). Berikut ini plot Lineweaver-Burk pada jenis inhibisi kompetitif dan nonkompetitif.



[Sumber: Murray, Granner, Mayes, & Rodwell, 2003]

Gambar 2.4. Plot Lineweaver-Burk pada inhibisi kompetitif (telah diolah kembali)



[Sumber: Murray, Granner, Mayes, & Rodwell, 2003]

Gambar 2.5. Plot Lineweaver-Burk pada inhibisi nonkompetitif (telah diolah kembali)

## **BAB 3**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Tempat dan Waktu**

Laboratorium Penelitian Fitokimia dan Laboratorium Penelitian Kimia Farmasi Kuantitatif, Departemen Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Indonesia, Depok, selama bulan Februari hingga Mei 2011.

#### **3.2 Bahan**

##### **3.2.1 Bahan Uji**

Simplisia yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun dan biji jali (*Coix lachryma-jobi* L.), akar tebu (*Saccharum officinarum*), kulit batang randu (*Ceiba pentandra* (L.) Gaetern), daun mimba (*Azadirachta indica* A. Juss), daun dan batang brotowali (*Tinospora crispa* Miers), buah dan kulit batang Iwawa (*Ficus glomerata* Roxb.) yang diperoleh dari Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik, Bogor, Indonesia; buah delima (*Punica granatum* L.) diperoleh dari kebun percobaan Manoko, Lembang, Indonesia; daun dan kulit batang tiin (*Ficus carica* L.) yang diperoleh dari Taman Tiin, Mojokerto, Indonesia; daun kumis kucing (*Orthosiphon aristatus* Miq.), dan kulit batang alpukat (*Persea americana* Mill.) yang diperoleh dari kebun di daerah Jakarta Timur; daun lidah buaya (*Aloe barbadensis* Mill), umbi bawang putih (*Allium sativum* L.) yang diperoleh dari pasar swalayan di daerah Jakarta Timur. Semua tanaman telah diidentifikasi di Herbarium Bogoriensis, Pusat Penelitian Biologi Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI).

##### **3.2.2 Bahan Kima**

Enzim  $\alpha$ -glukosidase yang berasal dari *Saccharomyces cerevisiae recombinant* (Sigma Aldrich, USA), substrat p-nitrofenil- $\alpha$ -D-glukopiranosida (PNPG) (Wako Pure Chemical Industries Ltd., Jepang), *bovine serum albumin* (BSA) (Merck, Jerman), akarbose, kalium dihidrogen fosfat (Merck, Jerman), dikalium hidrogen fosfat (Merck, Jerman), natrium karbonat (Merck, Jerman),

dimetil sulfoksida (DMSO) (Merck, Jerman), etanol, asam klorida (Merck, Jerman), iodium (Merck, Jerman), kalium Iodida (Merck, Jerman), raksa (II) klorida (Merck, Jerman), bismut (III) nitrat (Merck, Jerman), asam nitrat (Merck, Jerman), timbal (II) asetat, natrium sulfat anhidrat (Merck, Jerman), metanol, asam asetat anhidrat (Univar, USA), asam sulfat (Merck, Jerman),  $\alpha$ -naftol, etil asetat, serbuk zink (Merck, Jerman), serbuk magnesium (Merck, Jerman), aseton, serbuk asam borat (Merck, Jerman), serbuk asam oksalat (Merck, Jerman), eter, besi (III) klorida, natrium klorida (Mallinckrodt Chemicals, USA), gelatin (Merck, Jerman), natrium hidroksida (Univar, USA), quersetin (Merck, Jerman), alumunium (III) klorida.

### 3.3 Alat

Lemari pengering, Oven (Hotpack vacuum oven), mesin penggiling (Waring, USA), *Rotary evaporator* (Janke & Kunkel IKA, Jerman), timbangan analitik, pH meter (Eutech Instruments), *Shaking bath incubator* (Lab-Line Instruments), spektrofotometer (Shimadzu UV-265, Jepang), kuvet kuarsa (Quartz cells, Jerman), pipet mikro 10-100  $\mu\text{L}$ , dan 100-1000  $\mu\text{L}$  (Eppendorf, Jerman dan Socorex, Swiss), dan alat-alat gelas.

### 3.4 Prosedur Kerja

#### 3.4.1 Penyiapan Bahan Uji

Penyiapan bahan uji dilakukan dengan beberapa tahap, yaitu pengumpulan bahan baku, sortasi basah, pencucian, perajangan, pengeringan, penyerbukan, dan penyimpanan.

##### a. Pengumpulan bahan baku

Tanaman yang digunakan diambil dari tempat tumbuhnya.

##### b. Sortasi basah

Kotoran-kotoran, bahan-bahan asing, bagian lain dari tanaman yang tidak digunakan, dan bagian tanaman yang rusak dipisahkan dari tanaman yang dikumpulkan.

c. Pencucian

Tanaman dicuci dengan air bersih untuk menghilangkan tanah dan pengotor lainnya yang melekat pada bahan simplisia.

d. Perajangan

Perajangan bahan simplisia dilakukan untuk mempermudah proses pengeringan dan penyerbukan. Perajangan dilakukan dengan cara bahan simplisia dipotong menjadi ukuran yang lebih kecil.

e. Pengeringan

Pengeringan simplisia dilakukan dengan menggunakan sinar matahari tidak langsung, atau dengan menggunakan lemari pengering.

f. Penyerbukan

Bagian tanaman yang telah kering diserbukkan dengan menggunakan mesin penggiling hingga menjadi serbuk.

g. Penyimpanan

Serbuk simplisia disimpan dalam wadah.

### 3.4.2 Ekstraksi Simplisia

Sebanyak 20 gram simplisia direfluks menggunakan 150 ml etanol 80% selama satu jam dan diulangi sebanyak dua kali. Ekstrak yang didapat kemudian diuapkan pelarutnya hingga menjadi ekstrak kental (ekstrak tidak dapat mengalir).

### 3.4.3 Penyiapan Larutan Pereaksi

#### 3.4.3.1 Pereaksi Identifikasi Kandungan Kimia

a. Larutan Pereaksi Bouchardat

Larutan pereaksi bouchardat dibuat dari campuran iodium dan kalium iodida. Sebanyak 2 g iodium P dan 4 g kalium iodida P dilarutkan dalam 100 mL akuades.

b. Larutan Pereaksi Mayer

Pereaksi Mayer dibuat dari campuran larutan raksa (II) klorida P 2,266% b/v dan kalium iodida P 50% b/v . Larutan raksa (II) klorida dibuat dengan cara 1,3596 g raksa (II) klorida P dilarutkan dalam 60 ml akuades dan larutan kalium

iodida dibuat dengan cara 5 g kalium iodida P dilarutkan dalam 10 mL akuades. Kedua larutan dicampur dan dicukupkan dengan akuades hingga 100 mL.

#### c. Larutan Pereaksi Dragendorf

Pereaksi Dragendorf dibuat dari campuran bismuth nitrat P 40% b/v dalam asam nitrat dan kalium iodida P 54,4% b/v . Larutan bismuth nitrat dibuat dengan cara 8 g bismuth nitrat P dilarutkan dalam 20 mL asam nitrat dan larutan kalium iodida dibuat dengan cara 27,2 g kalium iodida P dilarutkan dalam 50 mL akuades. Kedua larutan dicampur, dan didiamkan hingga memisah sempurna. Larutan jernih diambil dan dicukupkan dengan akuades hingga 100 mL

#### d. Larutan Pereaksi Mollisch

Pereaksi Mollisch merupakan larutan  $\alpha$ -naftol P 3% b/v dalam asam nitrat 0,5 N. Pembuatan dilakukan dengan cara 1,5 g  $\alpha$ -naftol P dilarutkan dalam 50 ml asam nitrat 0,5 N.

#### 3.4.3.2 Pereaksi Uji Penghambatan Aktivitas $\alpha$ -Glukosidase

##### a. Larutan Dapar Fosfat pH 7,0

Larutan dapar fosfat pH 7,0 dibuat dari campuran larutan 0,1 M dikalium hidrogen fosfat dan larutan 0,1 M kalium dihidrogen fosfat. Larutan 0,1 M dikalium hidrogen fosfat dibuat dengan cara 17,418 g dikalium hidrogen fosfat dalam 1000 mL akuades. Sedangkan 0,1 M kalium dihidrogen fosfat dibuat dengan cara 13,609 g kalium dihidrogen fosfat dalam 1000 mL akuades.

##### b. Larutan Natrium Karbonat 0,2 M

Sebanyak 21,2 g natrium karbonat ditimbang. Kemudian dilarutkan dalam 1000 mL akuades.

##### c. Larutan Enzim

Larutan pembawa enzim dibuat dengan cara 200 mg *bovine serum albumin* (BSA) dilarutkan dalam 100 ml dapar fosfat pH 7,0. Larutan enzim dibuat dengan cara 4,0 mg  $\alpha$ -glukosidase dilarutkan dalam 100 ml larutan

pembawa enzim dalam kondisi dingin. Kemudian larutan induk enzim diencerkan dengan dapar fosfat pH 7,0 hingga diperoleh larutan enzim 0,05 U/mL.

#### d. Larutan Substrat.

Larutan substrat 10 mM dibuat dengan cara sebanyak 301,25 mg p-nitrofenil- $\alpha$ -D-glukopiranosa ditimbang kemudian dilarutkan dalam 100 mL akuades. Pada pembuatan beberapa konsentrasi substrat, dilakukan pengenceran dari larutan substrat 20 mM. Sebanyak 602,5 mg p-nitrophenyl- $\alpha$ -D-glukopiranosa ditimbang kemudian dilarutkan dalam 100 mL akuades maka diperoleh larutan substrat 20 mM. Larutan substrat 20 mM diencerkan sehingga diperoleh larutan substrat 10 mM; 5 mM; 2,5 mM; dan 1,25 mM.

### 3.4.4 Identifikasi Kandungan Kimia

#### 3.4.4.1 Identifikasi Alkaloid (Depkes RI, 1995; Farnsworth, 1966)

Beberapa mg ekstrak ditambah 1 mL asam klorida 2 N dan 9 mL akuades, dipanaskan di penangas air selama 2 menit, dan didinginkan. Kemudian disaring dan ditampung filtratnya. Filtrat digunakan sebagai larutan percobaan selanjutnya.

- a. Larutan percobaan ditambahkan 2 tetes Bouchardart LP, terbentuk endapan coklat sampai dengan hitam (positif alkaloid).
- b. Larutan percobaan ditambahkan 2 tetes Mayer LP, terbentuk endapan menggumpal putih atau kuning yang larut dalam metanol (positif alkaloid).
- c. Larutan percobaan ditambahkan 2 tetes Dragendorf LP, terbentuk endapan jingga coklat (positif alkaloid).

#### 3.4.4.2 Identifikasi Glikosida (Depkes RI, 1995)

Beberapa mg ekstrak ditambahkan 15 mL asam klorida 10%, dipanaskan selama 10 menit, didinginkan dan disaring. Filtrat disari tiga kali, tiap kali dengan 5 mL eter. Lapisan asam klorida diambil. Pada lapisan asam klorida, ditambahkan sodium sulfat anhidrat, disaring, dan diuapkan. Pada residu, ditambahkan 2 mL akuades, 8 tetes mollisch LP. Kemudian dengan hati-hati ditambahkan 2 mL asam

sulfat P. Hasil positif dilihat dari terbentuknya cincin berwarna ungu pada batas cairan.

#### 3.4.4.3 Identifikasi Flavonoid (Depkes RI, 1995)

Beberapa mg ekstrak dilarutkan dalam 5 mL etil asetat. Kemudian disaring dan filtrat ditampung. Filtrat digunakan sebagai larutan percobaan selanjutnya.

- a. Larutan percobaan sebanyak 1 mL diuapkan hingga kering. Residu ditambahkan 2 mL etanol 95%, 0,5 gram serbuk seng P, dan 2 mL asam klorida 2 N, dan didiamkan 1 menit. Kemudian ditambahkan 10 tetes asam klorida pekat, dikocok perlahan, dan diamkan 2-5 menit. Terbentuk warna merah intensif (positif flavonoid).
- b. Larutan percobaan sebanyak 1 mL diuapkan hingga kering. Residu ditambahkan 2 mL etanol 95%, 0,5 gram serbuk magnesium P, dan 10 tetes asam klorida pekat, dan dikocok perlahan. Terbentuk warna merah jingga hingga merah ungu (positif flavonoid) atau kuning jingga (flavon, kalkon, auron).
- c. Larutan percobaan sebanyak 1 mL diuapkan hingga kering. Residu ditambahkan aseton, sedikit serbuk asam borat P dan asam oksalat P, dipanaskan dengan hati-hati. Kemudian ditambahkan 10 mL eter. Amati dengan sinar ultraviolet 366 nm. Larutan akan berfluoresensi kuning intensif (positif flavonoid).

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

Beberapa mg ekstrak dilarutkan dalam 5 mL larutan eter di dalam cawan penguap. Kemudian diuapkan hingga kering. Larutan pereaksi yang terdiri dari campuran 10 tetes asam asetat anhidrat, dan 5 tetes asam sulfat pekat disiapkan. Kemudian, larutan pereaksi ditambahkan ke dalam residu. Ekstrak mengandung terpen apabila terbentuk warna merah-hijau-violet-biru.

#### 3.4.4.5 Identifikasi Tanin (Farnsworth, 1966)

Beberapa mg ekstrak ditambahkan 15 mL air panas. Kemudian dipanaskan hingga mendidih selama 5 menit. Larutan disaring dan filtrat ditampung. Filtrat digunakan sebagai larutan percobaan selanjutnya.

- a. Larutan percobaan sebanyak 1 mL ditambahkan beberapa tetes besi (III) klorida 1%, terbentuk warna hijau violet (positif tanin).
- b. Larutan percobaan sebanyak 1 mL ditambahkan 3 ml larutan gelatin 10%, terbentuk endapan putih (positif tanin).
- c. Larutan percobaan sebanyak 1 mL ditambahkan larutan natrium klorida-gelatin (1:10) membentuk endapan putih (positif tanin).

#### 3.4.4.6 Identifikasi Saponin (Depkes RI, 1995)

Beberapa mg ekstrak ditambahkan 10 mL air panas dan didinginkan. Kemudian dikocok vertikal selama 10 detik dan didiamkan selama 10 menit. Terbentuk buih setinggi 1 hingga 10 cm. Pada penambahan 1 tetes asam klorida 2 N buih tidak hilang.

#### 3.4.4.7 Identifikasi Antrakuinon (Depkes RI, 1995)

Beberapa mg ekstrak dilarutkan dalam 5 mL asam sulfat 2 N, dipanaskan sebentar kemudian didinginkan. Larutan ditambahkan 10 mL benzen P, dikocok, dan didiamkan. Lapisan washbenzen dipisahkan dan disaring. Filtrat berwarna kuning menunjukkan adanya antrakuinon. Lapisan washbenzen dikocok dengan penambahan 1-2 mL natrium hidroksida 2 N. Setelah didiamkan, lapisan air berwarna merah intensif dan lapisan washbenzen tidak berwarna.

#### 3.4.5 Uji Pendahuluan (Kikkoman, 2011)

Uji pendahuluan dilakukan untuk menentukan konsentrasi substrat yang digunakan pada reaksi enzimatis agar reaksi berlangsung optimal. Uji dilakukan dengan menggunakan variasi konsentrasi substrat pada unit enzim yang telah ditentukan.

### 3.4.5.1 Pengujian Larutan Uji

Larutan 1 mL diperlukan fosfat pH 7,0 dan 500  $\mu\text{L}$  p-Nitrofenil  $\alpha$ -D-glukopiranosida (PNPG) diinkubasi selama 5 menit pada suhu 37°C. Kemudian ditambahkan 500  $\mu\text{L}$  larutan enzim. Larutan diinkubasi kembali selama 15 menit pada suhu 37°C. Setelah masa inkubasi selesai, segera ditambahkan 2 mL natrium karbonat 0,2 M untuk menghentikan reaksi enzimatis. Larutan diukur serapannya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 400 nm.

### 3.4.5.2 Pengujian Larutan Blanko

Larutan 1 mL diperlukan fosfat pH 7,0 dan 500  $\mu\text{L}$  p-Nitrofenil  $\alpha$ -D-glukopiranosida (PNPG) diinkubasi selama 5 menit pada suhu 37°C. Kemudian ditambahkan 2 mL natrium karbonat 0,2 M untuk memberikan suasana basa agar reaksi enzimatis tidak berjalan. Larutan diinkubasi kembali selama 15 menit pada suhu 37°C. Setelah masa inkubasi selesai, segera ditambahkan 500  $\mu\text{L}$  larutan enzim. Larutan diukur serapannya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 400 nm. Prosedur uji pendahuluan secara keseluruhan dapat dilihat pada Tabel 3.1.

Tabel 3.1. Prosedur uji pendahuluan

<b>Reagen</b>	<b>Volume (<math>\mu\text{l}</math>)</b>	
	<b>U</b>	<b>K</b>
<b>Diperlukan</b>	980	980
<b>Substrat</b>	500	500
Inkubasi penangas air 37°C selama 5 menit		
<b>Enzim</b>	500	-
<b>Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub></b>	-	2000
Inkubasi penangas air 37°C selama 15 menit		
<b>Enzim</b>	-	500
<b>Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub></b>	2000	-
Ukur absorbansi pada $\lambda=400$ nm		

Keterangan: U = larutan uji; K = larutan kontrol

### 3.4.5.3 Perhitungan Aktivitas Enzim

Pada setiap pengujian, hitung aktivitas enzim dengan rumus:

$$\text{Unit/ml enzim} = \frac{(A_{400\text{nm}} \text{Uji} - A_{400\text{nm}} \text{Blanko}) \times V \times df}{18,1 \times V_e \times t} \quad (3.1)$$

$$\text{Unit/mg enzim} = \text{Unit/ml enzim} \times \frac{1}{C} \quad (3.2)$$

Keterangan : V = Volume total; df = faktor pengenceran; 18,1 = Ekstensi milimolar p-Nitrophenol pada 400 nm;  $V_e$  = Volume enzim (ml); t = Waktu inkubasi (menit); C = Banyaknya  $\alpha$ -glukosidase dalam larutan (mg/ml); Unit: Satu unit akan melepaskan 1,0  $\mu\text{mol}$   $\alpha$ -D-glukosa dari p-nitrofenil- $\alpha$ -D-glukosida per menit pada pH 7,0 dan suhu 37°C.

### 3.4.6 Uji Penghambatan Aktivitas $\alpha$ -Glukosidase (Dewi, et al., 2007; Sugiwati, Setiasih, & Afifah, 2009)

#### 3.4.6.1 Preparasi Larutan Akarbose

Larutan akarbose digunakan sebagai pembanding. Akarbose ditimbang sebanyak 100 mg dan dilarutkan dengan dapar fosfat pH 7,0 hingga 10 mL sehingga diperoleh konsentrasi ekstrak 1%. Larutan akarbose 1% diencerkan sehingga diperoleh konsentrasi larutan akarbose 0,5%; 0,25%; dan 0,125%.

#### 3.4.6.2 Preparasi Larutan Sampel (Ekstrak)

Ekstrak ditimbang sebanyak 100 mg dan dilarutkan dengan dimetil sulfoksida (DMSO) secukupnya kemudian dicukupkan larutannya hingga 10 ml dengan dapar fosfat pH 7,0 sehingga diperoleh konsentrasi ekstrak 1%. Larutan ekstrak 1% diencerkan sehingga diperoleh konsentrasi ekstrak 0,5%; 0,25%; dan 0,125%.

#### 3.4.6.3 Pengujian Blanko

Larutan 980  $\mu\text{L}$  dapar fosfat pH 7,0, 500  $\mu\text{L}$  p-Nitrofenil  $\alpha$ -D-glukopiranosa (PNPG) dan 20  $\mu\text{L}$  DMSO diinkubasi selama 5 menit pada suhu 37°C. Kemudian ditambahkan 500  $\mu\text{L}$  larutan enzim. Larutan diinkubasi kembali selama 15 menit pada suhu 37°C. Setelah masa inkubasi selesai, segera

ditambahkan 2 mL natrium karbonat 0,2 M untuk menghentikan reaksi enzimatis. Larutan diukur serapannya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 400 nm.

#### 3.4.6.4 Pengujian Kontrol Blanko

Larutan 980  $\mu\text{L}$  dapar fosfat pH 7,0, 500  $\mu\text{L}$  p-Nitrofenil  $\alpha$ -D-glukopiranosida (PNPG) dan 20  $\mu\text{L}$  DMSO diinkubasi selama 5 menit pada suhu 37°C. Kemudian ditambahkan 2 mL natrium karbonat 0,2 M untuk memberikan suasana basa agar reaksi enzimatis tidak berjalan. Larutan diinkubasi kembali selama 15 menit pada suhu 37°C. Setelah masa inkubasi selesai, segera ditambahkan 500  $\mu\text{L}$  larutan enzim. Larutan diukur serapannya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 400 nm.

#### 3.4.6.5 Pengujian Sampel

Larutan 980  $\mu\text{L}$  dapar fosfat pH 7,0, 500  $\mu\text{L}$  p-Nitrofenil  $\alpha$ -D-glukopiranosida (PNPG) dan 20  $\mu\text{L}$  larutan sampel (ekstrak) diinkubasi selama 5 menit pada suhu 37°C. Kemudian ditambahkan 500  $\mu\text{L}$  larutan enzim. Larutan diinkubasi kembali selama 15 menit pada suhu 37°C. Setelah masa inkubasi selesai, segera ditambahkan 2 mL natrium karbonat 0,2 M untuk menghentikan reaksi enzimatis. Larutan diukur serapannya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 400 nm. Hitung % inhibisi pada setiap konsentrasi ekstrak dan IC<sub>50</sub> pada setiap ekstrak.

#### 3.4.6.6 Pengujian Kontrol Sampel

Larutan 980  $\mu\text{L}$  dapar fosfat pH 7,0, 500  $\mu\text{L}$  p-Nitrofenil  $\alpha$ -D-glukopiranosida (PNPG) dan 20  $\mu\text{L}$  larutan sampel (ekstrak) diinkubasi selama 5 menit pada suhu 37°C. Kemudian ditambahkan 2 mL natrium karbonat 0,2 M untuk memberikan suasana basa agar reaksi enzimatis tidak berjalan. Larutan diinkubasi kembali selama 15 menit pada suhu 37°C. Setelah masa inkubasi selesai, segera ditambahkan 500  $\mu\text{L}$  larutan enzim. Larutan diukur serapannya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 400 nm.

#### 3.4.6.5 Pengujian Pembanding (Akarbose)

Larutan 980  $\mu\text{L}$  dapar fosfat pH 7,0, 500  $\mu\text{L}$  p-Nitrofenil  $\alpha$ -D-glukopiranosida (PNPG) dan 20  $\mu\text{L}$  larutan akarbose diinkubasi selama 5 menit pada suhu 37°C. Kemudian ditambahkan 500  $\mu\text{L}$  larutan enzim. Larutan diinkubasi kembali selama 15 menit pada suhu 37°C. Setelah masa inkubasi selesai, segera ditambahkan 2 mL natrium karbonat 0,2 M untuk menghentikan reaksi enzimatis. Larutan diukur serapannya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 400 nm. Hitung nilai % inhibisi pada setiap konsentrasi akarbose dan nilai IC<sub>50</sub> akarbose.

#### 3.4.6.6 Pengujian Kontrol Pembanding (Akarbose)

Larutan 980  $\mu\text{L}$  dapar fosfat pH 7,0, 500  $\mu\text{L}$  p-Nitrofenil  $\alpha$ -D-glukopiranosida (PNPG) dan 20  $\mu\text{L}$  larutan akarbose diinkubasi selama 5 menit pada suhu 37°C. Kemudian ditambahkan 2 mL natrium karbonat 0,2 M untuk memberikan suasana basa agar reaksi enzimatis tidak berjalan. Larutan diinkubasi kembali selama 15 menit pada suhu 37°C. Setelah masa inkubasi selesai, segera ditambahkan 500  $\mu\text{L}$  larutan enzim. Larutan diukur serapannya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 400 nm. Prosedur uji penghambatan aktivitas  $\alpha$ -glukosidase secara keseluruhan dapat dilihat pada Tabel 3.2.

Tabel 3.2. Prosedur uji penghambatan aktivitas  $\alpha$ -Glukosidase

Reagen	Volume ( $\mu\text{l}$ )			
	B <sub>1</sub>	B <sub>0</sub>	S <sub>1</sub>	S <sub>0</sub>
<b>Sampel</b>	-	-	20	20
<b>DMSO</b>	20	20	-	-
<b>Dapar</b>	980	980	980	980
<b>Substrat</b>	500	500	500	500
Inkubasi penangas air 37°C, 5 menit				
<b>Enzim</b>	500	-	500	-
<b>Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub></b>	-	2000	-	2000
Inkubasi penangas air 37°C, 15 menit				
<b>Enzim</b>	-	500	-	500
<b>Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub></b>	2000	-	2000	-
Ukur absorbansi pada $\lambda=400$ nm				

Keterangan: B<sub>1</sub> = blanko; B<sub>0</sub> = kontrol blanko; S<sub>1</sub> = sampel dan pembanding akarbose;  
S<sub>0</sub> = kontrol sampel dan kontrol pembanding akarbose

### 3.4.6.7 Perhitungan Persen Inhibisi dan IC<sub>50</sub>

% Inhibisi dihitung dengan rumus:

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

Keterangan: S = serapan sampel (S<sub>1</sub>-S<sub>0</sub>); B = serapan blanko (DMSO), (B<sub>1</sub>-B<sub>0</sub>)

IC<sub>50</sub> dapat dihitung dengan menggunakan persamaan regresi linear, konsentrasi sampel sebagai sumbu x dan % inhibisi sebagai sumbu y. Dari persamaan: y = a + bx, IC<sub>50</sub> dihitung dengan rumus:

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

### 3.4.7 Uji Kinetika Penghambatan Enzim

Penentuan kinetika inhibisi enzim diukur dengan melihat aktivitas enzim dengan berbagai konsentrasi substrat. Ekstrak yang akan digunakan sebagai penghambat enzim merupakan ekstrak yang memiliki penghambatan aktivitas enzim tertinggi pada uji penghambatan aktivitas enzim. Uji Kinetika dilakukan dengan empat konsentrasi ekstrak dan tanpa adanya ekstrak.

#### 3.4.7.1 Pengujian Tanpa Inhibitor

Larutan 980  $\mu\text{L}$  diperlukan fosfat pH 7,0, 500  $\mu\text{L}$  p-Nitrofenil  $\alpha$ -D-glukopiranosa (PNPG) dan 20  $\mu\text{L}$  DMSO diinkubasi selama 5 menit pada suhu 37°C. Kemudian ditambahkan 500  $\mu\text{L}$  larutan enzim. Larutan diinkubasi kembali selama 15 menit pada suhu 37°C. Setelah masa inkubasi selesai, segera ditambahkan 2 mL natrium karbonat 0,2 M untuk menghentikan reaksi enzimatis. Larutan diukur serapannya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 400 nm.

#### 3.4.7.2 Pengujian Kontrol Tanpa Inhibitor

Larutan 980  $\mu\text{L}$  diperlukan fosfat pH 7,0, 500  $\mu\text{L}$  p-Nitrofenil  $\alpha$ -D-glukopiranosa (PNPG) dan 20  $\mu\text{L}$  DMSO diinkubasi selama 5 menit pada suhu 37°C. Ke dalam larutan tambahkan 500  $\mu\text{L}$  larutan enzim. Larutan diinkubasi kembali selama 15 menit pada suhu 37°C. Kemudian ditambahkan 2 mL natrium karbonat 0,2 M untuk memberikan suasana basa agar reaksi enzimatis tidak berjalan. Larutan diinkubasi kembali selama 15 menit pada suhu 37°C. Setelah masa inkubasi selesai, segera ditambahkan 500  $\mu\text{L}$  larutan enzim. Larutan diukur serapannya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 400 nm.

#### 3.4.7.3 Pengujian dengan Inhibitor

Larutan 980  $\mu\text{L}$  diperlukan fosfat pH 7,0, 500  $\mu\text{L}$  p-Nitrofenil  $\alpha$ -D-glukopiranosa (PNPG) dan 20  $\mu\text{L}$  larutan ekstrak sebagai inhibitor diinkubasi selama 5 menit pada suhu 37°C. Kemudian ditambahkan 500  $\mu\text{L}$  larutan enzim. Larutan diinkubasi kembali selama 15 menit pada suhu 37°C. Setelah masa inkubasi selesai, segera ditambahkan 2 mL natrium karbonat 0,2 M untuk

menghentikan reaksi enzimatis. Larutan diukur serapannya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 400 nm.

#### 3.4.7.4 Pengujian Kontrol dengan Inhibitor

Larutan 980  $\mu\text{L}$  dapar fosfat pH 7,0, 500  $\mu\text{L}$  p-Nitrofenil  $\alpha$ -D-glukopiranosida (PNPG) dan 20  $\mu\text{L}$  larutan ekstrak sebagai inhibitor diinkubasi selama 5 menit pada suhu 37°C. Kemudian ditambahkan 2 mL natrium karbonat 0,2 M untuk memberikan suasana basa agar reaksi enzimatis tidak berjalan. Larutan diinkubasi kembali selama 15 menit pada suhu 37°C. Setelah masa inkubasi selesai, segera ditambahkan 500  $\mu\text{L}$  larutan enzim. Larutan diukur serapannya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 400 nm. Prosedur uji kinetika penghambatan enzim secara keseluruhan dapat dilihat pada Tabel 3.3.

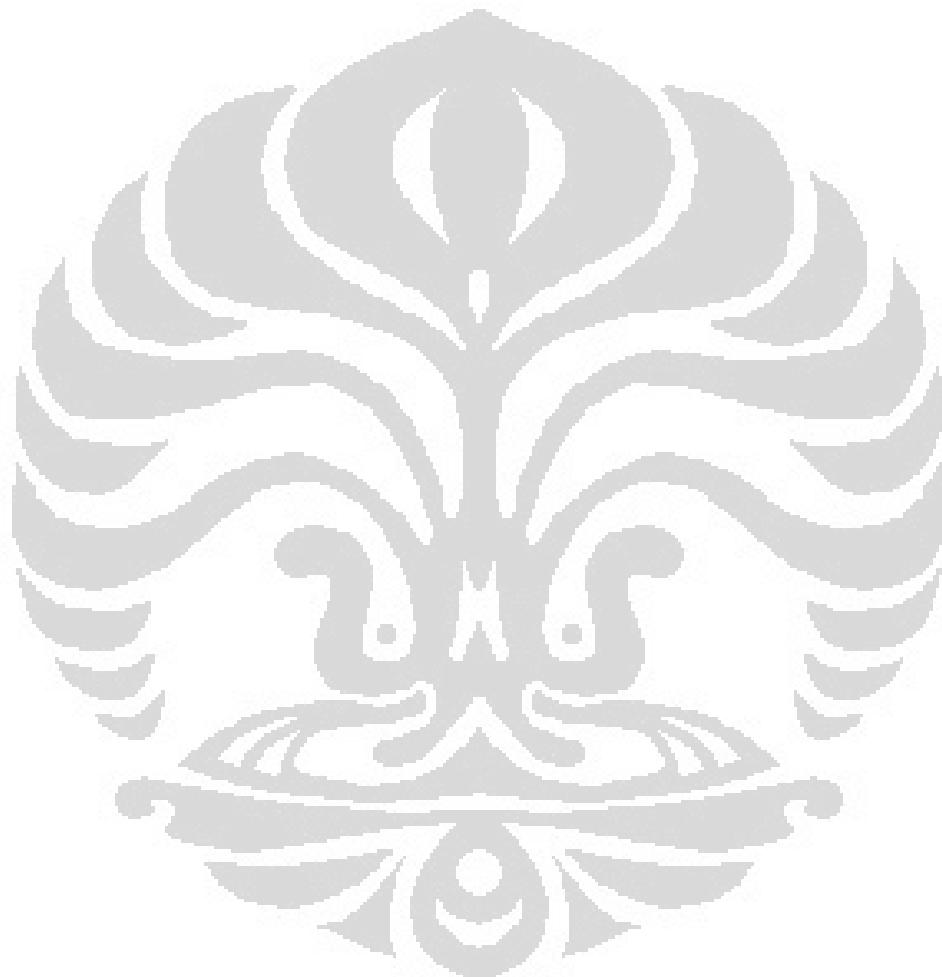
Tabel 3.3. Prosedur uji kinetika penghambatan enzim

<b>Reagen</b>	<b>Volume (<math>\mu\text{l}</math>)</b>			
	<b>B<sub>1</sub></b>	<b>B<sub>0</sub></b>	<b>I<sub>1</sub></b>	<b>I<sub>0</sub></b>
<b>Ekstrak</b>	-	-	20	20
<b>DMSO</b>	20	20	-	-
<b>Dapar</b>	980	980	980	980
<b>Substrat</b>	500	500	500	500
Inkubasi penangas air 37°C selama 5 menit				
<b>Enzim</b>	500	-	500	-
<b>Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub></b>	-	2000	-	2000
Inkubasi penangas air 37°C selama 15 menit				
<b>Enzim</b>	-	500	-	500
<b>Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub></b>	2000	-	2000	-
Ukur absorbansi pada $\lambda=400$ nm				

Keterangan: B<sub>1</sub> = tanpa inhibitor; B<sub>0</sub> = kontrol tanpa inhibitor; I<sub>1</sub> = dengan inhibitor; I<sub>0</sub> = kontrol dengan inhibitor

### 3.4.7.3 Penentuan Kinetika Inhibisi Enzim

Jenis inhibisi ditentukan dengan analisis data menggunakan metode Lineweaver-Burk untuk memperoleh tetapan kinetika Michaelis-Menten (Dewi et al., 2007). Tetapan kinetika Michaelis-Menten dihitung berdasarkan persamaan regresi  $y = a + b x$ , dimana  $x$  adalah  $1/[S]$  dan  $y$  adalah  $1/A$ . Jenis inhibisi dapat juga dilihat dari bentuk plot Lineweaver-Burk (Murray, Granner, Mayes, & Rodwell, 2003).



## **BAB 4**

### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

#### **4.1 Penyiapan Bahan**

Pemilihan tanaman yang digunakan dalam penelitian ini berdasarkan data yang menyebutkan bahwa tanaman telah digunakan secara empiris sebagai obat antidiabetes dan beberapa diantaranya telah diuji secara *in vivo* dapat menurunkan kadar glukosa darah dalam hewan uji (Soumyanath, 2006). Namun, tanaman yang dipilih belum dilakukan uji mengenai kemampuannya dalam menghambat aktivitas  $\alpha$ -glukosidase.

Segera setelah diperoleh, tanaman segar disortasi basah dengan tujuan untuk memisahkan kotoran-kotoran, bahan-bahan asing yang menempel pada tanaman, bagian tanaman yang tidak digunakan, atau bagian tanaman yang rusak dari bahan simplisia. Kemudian dilakukan pencucian untuk menghilangkan kotoran-kotoran yang melekat pada bahan simplisia. Simplisia yang telah dicuci, dikeringkan di suhu ruangan untuk menghilangkan air hasil pencucian, kemudian ditimbang untuk mengetahui berat bahan awal.

Setelah dicuci, bahan-bahan simplisia dirajang menjadi ukuran yang lebih kecil. Proses ini dilakukan untuk mempermudah proses pengeringan dan penyerbukan. Selanjutnya dilakukan pengeringan bahan dengan cara diangin-anginkan dengan pemanasan sinar matahari tidak langsung.

Pada daun lidah buaya dan daging buah-biji delima dimasukkan ke dalam lemari pengering. Tujuannya adalah untuk mempercepat proses pengeringan karena kedua bahan tersebut memiliki kandungan air yang cukup besar. Bahan simplisia yang telah kering ditimbang untuk mengetahui berat akhir, dan susut penerangan. Hasil susut pengeringan dapat dilihat pada Tabel 4.3. Kemudian bahan simplisia yang telah kering tersebut diserbukskan dengan mesin penggiling, dan disimpan dalam wadah.

## 4.2 Ekstraksi Simplisia

Ekstraksi serbuk simplisia dilakukan dengan cara panas, yaitu dengan cara refluks. Ekstraksi dengan cara refluks dilakukan karena proses ekstraksi tidak membutuhkan waktu yang lama.

Pelarut yang digunakan adalah etanol 80%. Etanol digunakan sebagai pelarut karena alkohol alifatis yang memiliki rantai karbon sampai dengan tiga, atau campuran alkohol dengan air merupakan pelarut dengan kemampuan ekstraksi yang tinggi untuk hampir semua senyawa bahan alam yang memiliki berat molekul yang rendah, seperti alkaloid, saponin, dan flavonoid. Selain itu alkohol merupakan pelarut yang relatif murah, tidak berbahaya bagi manusia dan lingkungan, mudah diuapkan, dan tidak bereaksi dengan senyawa yang diekstrak atau senyawa lain yang ada di tanaman. Etanol seringkali dicampur dengan air untuk menginduksi pembengkakan partikel tanaman dan meningkatkan porositas dinding sel sehingga memudahkan proses difusi senyawa-senyawa dari dalam sel menuju pelarut. Perbandingan ideal campuran etanol dan air adalah sebesar 8:2 atau 7:3 (Samuelsson, 1999). Berdasarkan pertimbangan untuk mempermudah proses penguapan pelarut dalam memperoleh ekstrak kental, maka digunakan etanol 80%.

Ekstrak cair etanol yang diperoleh diuapkan pelarutnya dengan menggunakan penangas air hingga diperoleh ekstrak kental. Ekstrak kental didefinisikan ekstrak yang tidak bisa mengalir. Ekstrak yang diperoleh disimpan dalam wadah dan ditimbang untuk menghitung rendemennya. Data rendemen ekstrak dapat dilihat pada Tabel 4.4. Kemudian ekstrak kental disimpan dalam lemari pendingin pada suhu 4°C.

## 4.3 Identifikasi Kandungan Kimia

Kandungan kimia ekstrak yang diidentifikasi adalah alkaloid, glikosida, flavonoid, terpen, tanin, saponin, dan antrakuinon. Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak etanol dapat dilihat pada Tabel 4.1.

### 4.3.1 Alkaloid

Alkaloid umumnya berada dalam bentuk garamnya dan larut dalam air. Melalui penarikan alkaloid dengan larutan asam, alkaloid dapat diidentifikasi

langsung dengan satu atau lebih pereaksi pengendap. Namun, senyawa alkaloid dengan struktur nitrogen heterosiklik, amin oksida, dan alkaloid kuartener tidak dapat terdeteksi dengan pereaksi pengendap. Hal ini akan menghasilkan negatif palsu pada pengujian alkaloid dengan pereaksi pengendap (Farnsworth, 1966). Pereaksi yang digunakan dalam identifikasi ini adalah pereaksi Mayer, Bouchardat, dan Dragendorf. Berdasarkan hasil identifikasi, alkaloid terkandung pada ekstrak daun jali, kulit batang alpukat, umbi bawang putih, biji delima, kulit batang randu, daun mimba, daun brotowali, batang brotowali, daun tiin, dan kulit batang lowa.

#### 4.3.2 Glikosida

Pada proses identifikasi, gula hasil hidrolisis dapat diidentifikasi dengan tes Mollisch. Hidrolisis dapat dilakukan pemanasan dengan larutan asam (Sirait, 2007). Maka pada proses identifikasi, ekstrak dipanaskan selama 10 menit dalam 15 ml asam klorida 10%. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya cincin ungu. Berdasarkan hasil identifikasi glikosida terkandung pada semua ekstrak.

#### 4.3.3 Flavonoid

Pada identifikasi flavonoid dengan reaksi Shinoda dan Wilson-Taubock, tidak memperlihatkan hasil positif sesuai dengan literatur. Maka dilakukan identifikasi flavonoid dengan metode lain. Identifikasi flavonoid dilakukan dengan melihat hasil fluoresensi dengan sinar UV panjang gelombang 366 nm pada kromatogram. Penyemprot pereaksi yang digunakan adalah alumunium (III) klorida 5% dalam etanol. Hasil positif ditunjukkan dengan fluoresensi hijau kuning (Harborne, 1987). Standar quersetin digunakan sebagai standar positif. Berdasarkan hasil fluoresensi, flavonoid terkandung pada ekstrak daun jali, biji jali, daun kumis kucing, daun lidah buaya, daun mimba, dan daun tiin.

#### 4.3.4 Terpen

Senyawa terpen umumnya merupakan senyawa yang larut dalam lemak (Harborne, 1987). Maka berdasarkan tingkat kelarutannya, dalam pengujian golongan senyawa, terpen ditarik dengan eter. Terpen dapat diidentifikasi dengan

tes Liebermann-Bouchard. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah, merah muda, atau violet (Farnsworth, 1966). Berdasarkan hasil identifikasi, terpen terkandung pada ekstrak daun jali, akar tebu, daun kumis kucing, biji delima, daun mimba, daun brotowali, batang brotowali, daun tiin, dan kulit batang tiin.

#### 4.3.5 Tanin

Tanin memiliki kemampuan dalam menyambung-silang protein, dan jika bereaksi dengan protein, dapat membentuk kopolimer mantap yang tidak larut dalam air (Harborne, 1987). Maka identifikasi tanin dapat dilakukan dengan larutan gelatin, dan natrium klorida-gelatin. Hasil positif pada kedua reaksi ini dikonformasi dengan reaksi larutan besi (III) klorida 1%. Hasil positif ditunjukkan oleh terbentuknya warna biru, biru-hitam, hijau, atau biru hijau (Farnsworth, 1966). Berdasarkan hasil identifikasi, tanin terkandung pada ekstrak akar tebu, daun kumis kucing, kulit batang alpukat, kulit batang randu, daun mimba, kulit batang tiin, dan buah lowa.

#### 4.3.6 Saponin

Dalam cairan, saponin dapat membentuk busa setelah pengocokan dan busa bertahan. Metode identifikasi ini digunakan karena mudah dilakukan, cepat, dan hanya membutuhkan sedikit peralatan. Bila busa yang terbentuk hanya sedikit, dan hanya bertahan selama beberapa menit, hal ini mungkin disebabkan adanya senyawa asam, atau rendahnya konsentrasi saponin (Farnsworth, 1966). Berdasarkan hasil identifikasi, saponin terkandung pada hampir semua ekstrak, ekstrak yang tidak mengandung saponin adalah ekstrak biji jali, biji delima, dan bawang putih.

#### 4.3.7 Antrakuinon

Distribusi antrakuinon pada tanaman sangat terbatas. Antrakuinon banyak ditemukan pada famili Rhamnaceae, Polygonaceae, Rubiaceae, Leguminosae, dan Liliaceae. Keberadaan antrakuinon dalam tanaman dapat diketahui dengan tes Borntrager. Namun, bila dalam ekstrak terdapat senyawa C-

glikosida, antrakuinon tidak dapat dideteksi dengan tes borntrager. Dalam proses identifikasi dibutuhkan perlakuan khusus dalam memecah gula dari aglikonnya. Hal ini dapat dilakukan dengan penambahan besi (III) klorida, natrium ditionat, atau dengan hidrogen peroksida dalam larutan basa (Farnsworth, 1966). Berdasarkan hasil identifikasi, antrakuinon terkandung pada ekstrak daun jali, dan biji jali.

Tabel 4.1. Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak etanol

Ekstrak	Kandungan Senyawa						
	Alkaloid	Glikosida	Flavonoid	Terpen	Tanin	Saponin	Antrakuinon
Daun jali	+	+	+	+	-	+	+
Biji jali	-	+	+	-	-	-	+
Akar tebu	-	+	-	+	+	+	-
Daun kumis kucing	-	+	+	+	+	+	-
Kulit batang alpukat	+	+	-	-	+	+	-
Umbi bawang putih	+	+	-	-	-	-	-
Daun lidah buaya	-	+	+	-	-	+	-
Daging buah-Biji delima	+	+	-	+	-	-	-
Kulit batang randu	+	+	-	-	+	+	-
Daun mimba	+	+	+	+	+	+	-
Daun brotowali	+	+	-	+	-	+	-
Batang brotowali	+	+	-	+	-	+	-
Daun tiin	+	+	+	+	-	+	-
Kulit batang tiin	-	+	-	+	+	+	-
Buah lowa	-	+	-	-	+	+	-
Kulit batang lowa	+	+	-	-	-	+	-

Keterangan : + = terdeteksi dalam ekstrak

- = tidak terdeteksi dalam ekstrak

Hasil identifikasi kimia beberapa ekstrak terlihat tidak sama dengan data literatur. Hal ini bisa disebabkan oleh konsentrasi senyawa dalam ekstrak terlalu sedikit sehingga tidak terdeteksi dan memperlihatkan hasil positif saat direaksikan dengan pereaksi uji. Selain itu senyawa-senyawa yang terkandung dalam tanaman dapat dipengaruhi oleh berbagai faktor. Faktor-faktor tersebut antara lain

perbedaan iklim, habitat, kondisi nutrisi tanah, dan waktu pemanenan dari tanaman. Kemudian, pemilihan pelarut pada proses ekstraksi dan kondisi pada saat preparasi ekstrak dapat memengaruhi senyawa yang terkandung dalam ekstrak yang akan diuji (Farrnsworth, 1966). Data hasil identifikasi kandungan kimia tiap ekstrak etanol dengan tiap pereaksi pada dilihat pada Tabel 4.5.

#### 4.4 Uji Pendahuluan

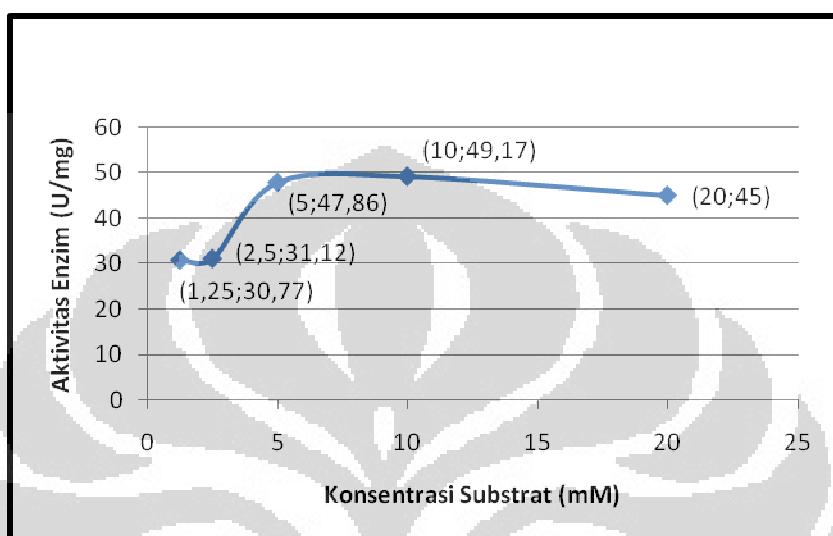
Uji pendahuluan dilakukan untuk mengetahui konsentrasi substrat yang sesuai pada unit enzim yang akan digunakan, agar aktivitas enzim berlangsung optimal.  $\alpha$ -Glukosidase yang digunakan berasal dari *Saccharomyces cereviceae recombinant*. Keterbatasan data mengenai pH optimum dan pH stabilitas enzim menyebabkan peneliti mengambil data tersebut dari data  $\alpha$ -glukosidase yang berasal dari *Eschericia coli recombinant*. Perbedaan antara kedua enzim terletak pada aktivitas enzim. Aktivitas enzim ditetapkan dengan nilai unit enzim. Unit enzim merupakan jumlah enzim yang mengkatalisis pembentukan 1  $\mu\text{M}$  produk dalam satu menit dibawah kondisi pH, suhu, kekuatan ionik, dan faktor-faktor lain yang memengaruhi aktivitas enzim (McPherson & Pincus, 2007).

Reaksi enzimatis berlangsung pada suhu 37°C. Enzim bekerja optimal pada pH 6,0-9,0 dan stabil pada pH 5,0-10,0 (Kikkoman, 2011). Maka pada pengujian digunakan dapar fosfat pH 7,0, dengan suhu inkubasi 37°C, dan natrium karbonat untuk menghentikan reaksi enzimatis. Proses inkubasi terdiri dari dua tahap. Pada tahap pertama, inkubasi selama 5 menit bertujuan untuk memberikan waktu bagi larutan uji untuk mencapai suhu 37°C. Sedangkan pada tahap kedua, inkubasi selama 15 menit merupakan waktu inkubasi untuk reaksi enzimatis.

Unit enzim yang dapat digunakan pada uji pendahuluan adalah 0,05-0,10 U/ml (Kikkoman, 2011). Unit enzim yang digunakan dalam uji pendahuluan ini adalah 0,05 U/ml. Enzim yang digunakan sebesar 4,2 mg dengan spesifikasi 16,5 mg enzim mengandung 26% protein dan terdapat 179 unit enzim tiap mg protein. Berdasarkan hasil pengenceran larutan enzim, diperoleh larutan enzim 0,055 U/ml.

Pada uji pendahuluan, larutan substrat dibuat dalam berbagai konsentrasi, yaitu 1,25 mM; 2,5 mM; 5 mM; 10 mM; dan 20 mM. Berdasarkan

hasil uji yang diperoleh pada tiap konsentrasi substrat, dapat dihitung aktivitas enzimnya. Konsentrasi substrat yang menghasilkan aktivitas enzim optimal, akan digunakan pada uji penghambatan aktivitas  $\alpha$ -glukosidase. Data serapan, dan nilai aktivitas enzim pada uji pendahuluan dapat dilihat pada Tabel 4.6.



Gambar 4.1. Kurva Hasil Uji Pendahuluan

Peningkatan aktivitas enzim terjadi pada peningkatan konsentrasi substrat 1,25 mM sampai 10 mM, dengan aktivitas enzim berturut-turut 30,77 U/mg; 31,12 U/mg; 47,86 U/mg; dan 49,17 U/mg. Kemudian aktivitas enzim menurun pada konsentrasi substrat 20 mM dengan aktivitas enzim 45,00 U/mg. Penurunan aktivitas ini diperkirakan karena terbentuknya produk inhibitor dari reaksi enzim. Produk inhibitor dapat menghambat aktivitas enzim. Produk inhibitor tersebut adalah  $\alpha$ -D-glukosa dan p-nitrofenil. Kedua produk tersebut memiliki kemiripan struktur dengan substrat p-nitrofenil- $\alpha$ -D-glukopiranosa sehingga dapat berperan sebagai produk inhibitor. Berdasarkan hasil yang diperoleh, konsentrasi substrat yang digunakan untuk uji penghambatan aktivitas enzim  $\alpha$ -glukosidase adalah 10 mM.

#### 4.5 Uji Penghambatan Aktivitas Enzim

Uji penghambatan aktivitas  $\alpha$ -glukosidase dilakukan dengan menggunakan larutan enzim 0,055 U/ml, dan larutan substrat dengan konsentrasi

10 mM. Pengujian dilakukan dengan variasi konsentrasi ekstrak dengan tujuan mengetahui pengaruh variasi konsentrasi ekstrak terhadap daya hambat enzim. Konsentrasi ekstrak yang digunakan adalah 0,125%; 0,25%; 0,5%; dan 1%.

Uji aktivitas dilakukan dengan mengukur serapan produk hasil peruraian substrat, yaitu p-nitrofenol pada panjang gelombang 400 nm menggunakan alat spektrofotometer UV-VIS (Shimadzu UV-265). Pengujian dilakukan pada larutan blanko ( $B_1$ ), kontrol blanko ( $B_0$ ), sampel dan pembanding akarbose ( $S_1$ ), dan kontrol sampel dan kontrol pembanding akarbose ( $S_0$ ).

Pengujian larutan  $B_1$  dan  $B_0$  dilakukan untuk mengetahui aktivitas enzim tanpa penambahan ekstrak. Pengujian pada  $B_1$  dan  $B_0$  dilakukan setiap hari pengujian. Hal ini dilakukan karena pada penelitian ini dilakukan penyimpanan larutan enzim. Idealnya, larutan enzim digunakan segera setelah dibuat. Penyimpanan larutan enzim dapat menyebabkan penurunan aktivitas enzim. Penyimpanan larutan enzim dilakukan karena nilai unit enzim besar pada tiap mg serbuk enzim sedangkan nilai unit enzim yang digunakan untuk pengujian sangat kecil, yaitu 0,055 U/mL sehingga larutan enzim tidak segera habis digunakan. Selain itu, keterbatasan dalam penggunaan alat pengukuran, yaitu sepektrofotometri UV-Vis menyebabkan pengujian seluruh sampel uji tidak bisa dilakukan segera, namun hanya bisa dilakukan secara bertahap. Penurunan aktivitas enzim dapat dilihat dari nilai serapan blanko.

Pengujian larutan  $S_1$  dilakukan untuk mengetahui kemampuan penghambatan aktivitas enzim yang diberikan oleh ekstrak dan pembanding akarbose. Sedangkan pengujian  $S_0$  dilakukan sebagai faktor koreksi terhadap larutan  $S_1$ . Pada larutan  $S_1$  untuk pengujian ekstrak nilai serapan bisa saja tidak murni berasal dari p-nitrofenol, yaitu bisa dipengaruhi oleh serapan dari ekstrak yang berwarna. Ekstrak yang berwarna dapat memberikan nilai serapan pada panjang gelombang pengukuran yang digunakan. Maka  $S_0$  diperlukan untuk menghilangkan nilai serapan dari ekstrak berwarna.  $S_0$  merupakan sistem dengan ekstrak, namun tanpa adanya aktivitas enzim.

Sebagai pembanding digunakan akarbose. Pengujian dilakukan dengan konsentrasi 0,125%; 0,25%; 0,5%; dan 1%. Hasil pengujian menunjukkan bahwa akarbose memiliki efek penghambatan enzim  $\alpha$ -glukosidase dengan nilai  $IC_{50}$

503,91 ppm. Hasil uji penghambatan aktivitas Akarbose dapat dilihat pada Tabel 4.7. Berdasarkan beberapa pengujian terhadap akarbose pada penelitian yang pernah dilakukan sebelumnya, kemampuan akarbose dalam menghambat  $\alpha$ -glukosidase, menunjukkan nilai IC<sub>50</sub> 677,97  $\mu$ M yang setara dengan 437,46 ppm (Chan, Sun, Reddy, & Wu, 2010), 780  $\mu$ M yang setara dengan 503,29 ppm (Choudhary et al., 2008), dan 128 ppm (Andrade-Cetto, Becerra-Jimenez, & Cardenas-Vazquez, 2007). Selain itu, terdapat beberapa pengujian yang menunjukkan bahwa akarbose tidak memiliki penghambatan terhadap aktivitas  $\alpha$ -glukosidase (Kim, Nam, Kurihara, & Kim, 2008; Shinde et al., 2008). Kelima pengujian tersebut menggunakan  $\alpha$ -glukosidase yang berasal dari *Saccharomyces cerevisiae*.

Berdasarkan nilai IC<sub>50</sub>, akarbose memiliki sedikit kemampuan dalam menghambat  $\alpha$ -glukosidase yang berasal dari mikroorganisme seperti *Saccharomyces cerevisiae*. Akarbose lebih efektif dalam menghambat  $\alpha$ -glukosidase yang berasal dari mamalia, seperti sukrase dan maltase (Kim, Nam, Kurihara, & Kim, 2008; Shinde et al., 2008). Nilai IC<sub>50</sub> akarbose pada beberapa pengujian dapat berbeda karena nilai IC<sub>50</sub> sangat dipengaruhi oleh kondisi pengujian (Polya, 2003). Hasil pengujian menggunakan enzim tidak dapat dibandingkan antara satu nilai dengan nilai yang lain kecuali digunakan kondisi pengujian yang sama (McPherson & Pincus, 2007).

Hasil pengujian pada semua ekstrak menunjukkan adanya penghambatan aktivitas  $\alpha$ -glukosidase. Tabel 4.2 memperlihatkan hasil uji penghambatan aktivitas  $\alpha$ -glukosidase pada setiap ekstrak. Nilai penghambatan ditetapkan dengan nilai IC<sub>50</sub>. Nilai IC<sub>50</sub> merupakan konsentrasi yang dapat menghambat 50% aktivitas enzim (Polya, 2003).

Berdasarkan nilai IC<sub>50</sub> yang diperoleh dari pengujian, semua ekstrak etanol tanaman memperlihatkan penghambatan aktivitas enzim yang lebih baik dibandingkan akarbose. Hal ini mungkin disebabkan adanya kandungan beberapa senyawa yang aktif dalam ekstrak, sehingga dapat bekerja bersamaan dalam menghambat aktivitas enzim (Kim, Nam, Kurihara, & Kim, 2008; Ahmad, Aqil, & Owais, 2006). Tiga ekstrak dengan penghambatan enzim paling tinggi berdasarkan pengujian adalah ekstrak kulit batang randu, ekstrak akar tebu, dan

ekstrak kulit batang alpukat dengan nilai IC<sub>50</sub> berturut-turut, 5,16 ppm; 10,35 ppm; dan 10,83 ppm. Sedangkan ekstrak yang memiliki aktivitas penghambatan enzim paling rendah adalah ekstrak daun kumis kucing dengan nilai IC<sub>50</sub> 373,92 ppm. Spektrum serapan uji penghambatan aktivitas α-glukosidase ekstrak kulit batang randu dapat dilihat pada Gambar 4.15.

Tabel 4.2. Hasil uji penghambatan aktivitas α-glukosidase

No.	Sampel Uji	Bagian yang digunakan	IC <sub>50</sub> (ppm)
1	<i>Ceiba pentandra</i> (L.) Gaetern (randu)	Kulit batang	5,16
2	<i>Saccharum officinarum</i> (tebu)	Akar	10,35
3	<i>Persea americana</i> Mill. (alpukat)	Kulit batang	10,83
4	<i>Azadirachta indica</i> A. Juss (mimba)	Daun	21,94
5	<i>Tinospora crispa</i> Miers. (brotowali)	Batang	22,99
6	<i>Ficus glomerata</i> Roxb. (lawa)	Buah	40,62
7	<i>Tinospora crispa</i> Miers. (brotowali)	Daun	68,06
8	<i>Aloe barbadensis</i> Mill (lidah buaya)	Daun	98,56
9	<i>Ficus carica</i> L. (tiin)	Kulit batang	112,84
10	<i>Ficus carica</i> L. (tiin)	Daun	177,92
11	<i>Ficus glomerata</i> Roxb. (lawa)	Kulit batang	183,30
12	<i>Allium sativum</i> L. (bawang putih)	Umbi	193,00
13	<i>Coix lachryma-jobi</i> L. (jali)	Daun	203,00
14	<i>Punica granatum</i> L. (delima)	Daging buah-biji	209,81
15	<i>Coix lachryma-jobi</i> L. (jali)	Biji	371,08
16	<i>Orthosiphon aristatus</i> Miq. (kumis kucing)	Daun	373,91
17	Akarbose		503,91

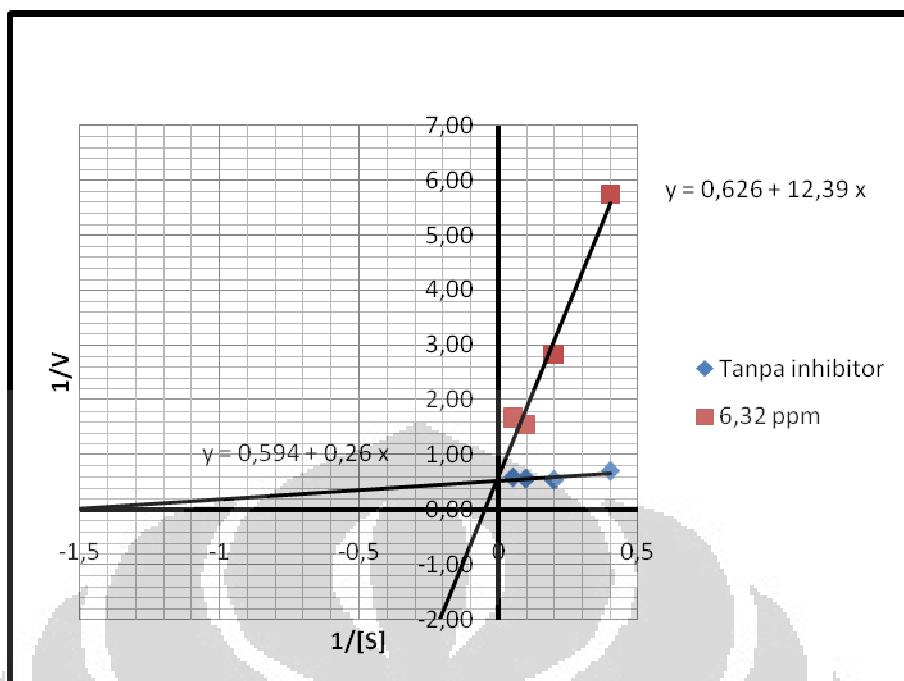
Pada pengujian ekstrak kulit batang randu dan kulit batang alpukat konsentrasi ekstrak yang digunakan dalam pengujian lebih rendah dibandingkan konsentrasi ekstrak yang ditetapkan sebelumnya, yaitu 0,015%; 0,031%; dan 0,062%. Hal ini disebabkan kemampuan ekstrak pada konsentrasi 0,25%; 0,5%; dan 1% dalam menghambat α-glukosidase terlalu besar, mendekati 100%. Hal ini

menyebabkan pengaruh konsentrasi ekstrak terhadap % inhibisi tidak terlihat sehingga nilai IC<sub>50</sub> tidak ditemukan. Maka harus dilakukan pengenceran konsentrasi ekstrak agar pengaruh konsentrasi terhadap % inhibisi terlihat. Data penghambatan aktivitas enzim oleh semua ekstrak dapat dilihat pada Tabel 4.8 sampai Tabel 4.23.

#### 4.6 Uji Kinetika Penghambatan Enzim

Analisis kinetika penghambatan enzim dilakukan dengan menggunakan plot Lineweaver-Burk yang dapat menunjukkan jenis penghambatan enzim oleh ekstrak. Ekstrak yang digunakan adalah ekstrak kulit batang randu dengan konsentrasi 1,58 ppm, 3,16 ppm, 6,32 ppm, dan 12,64 ppm. Ekstrak kulit batang randu dipilih karena berdasarkan pengujian yang telah dilakukan, ekstrak ini memiliki penghambatan aktivitas  $\alpha$ -glukosidase paling baik dibandingkan ekstrak lainnya. Konsentrasi substrat yang digunakan adalah 2,5 mM; 5 mM; 10mM; dan 20 mM. Data hasil uji kinetika penghambatan enzim dapat dilihat pada Tabel 4.24.

Berdasarkan hasil plot Lineweaver-burk (Gambar 4.2.), saat 1/[S] mendekati 0, kecepatan maksimum reaksi (V max) tidak dipengaruhi oleh adanya inhibitor. Maka pada saat konsentrasi substrat tinggi, V max pada sistem dengan inhibitor sama dengan atau mendekati V max dengan sistem tanpa inhibitor. Inhibitor yang bekerja secara kompetitif tidak mempengaruhi nilai Vmax, tetapi meningkatkan nilai Km (Murray, Granner, Mayes, & Rodwell, 2003). Berdasarkan persamaan yang diperoleh, nilai V max dan Km dapat ditentukan. Pada sistem tanpa inhibitor diperoleh persamaan  $y = 0,594 + 0,26 x$  dengan nilai V max 1,68 dan nilai Km 0,44. Sedangkan pada sistem dengan inhibitor 6,32 ppm diperoleh persamaan  $y = 0,626 + 12,39 x$  dengan nilai V max 1,60 dan nilai Km 19,79.



Gambar 4.2. Plot Lineweaver-Burk hasil uji kinetika pada ekstrak kulit batang randu

Hasil uji kinetika penghambatan enzim menunjukkan bahwa ekstrak etanol kulit batang randu (*Ceiba pentandra* (L.) Gaertn) memiliki mekanisme penghambatan konpetitif. Pernyataan tersebut dapat dilihat dari hasil plot kurva Lineweaver-Burk antara sistem tanpa inhibitor dengan sistem dengan ekstrak dengan konsentrasi 6,32 ppm yang menunjukkan penghambatan kompetitif. Inhibitor yang memiliki mekanisme penghambatan kompetitif memiliki struktur senyawa yang menyerupai substrat atau disebut sebagai analog substrat (Murray, Granner, Mayes, & Rodwell, 2003; Polya, 2003).

Pada pengukuran serapan p-nitrofenol, nilai serapan yang diperoleh cukup besar. Serapan yang terbaca pada spektrofotometer hendaknya antara 0,2-0,8. Pada rentang serapan tersebut kesalahan pembacaan cukup kecil, yaitu 0,5% (Gandjar & Rohman, 2007). Nilai serapan yang tinggi dapat menyebabkan bias sehingga bisa saja tidak menggambarkan nilai yang sebenarnya. Namun, data ini masih bisa diterima karena merupakan data awal dari proses skrining yang dapat digunakan untuk penelitian berikutnya yang lebih mendalam. Maka untuk penelitian berikutnya serapan sebaiknya berada dalam rentang nilai 0,2-0,8.

## **BAB 5** **KESIMPULAN DAN SARAN**

### **5.1 Kesimpulan**

Berdasarkan identifikasi kandungan kimia pada ekstrak etanol tanaman, semua simplisia mengandung glikosida, 13 simplisia mengandung saponin, sepuluh simplisia mengandung alkaloid, sembilan simplisia mengandung terpen, tujuh simplisia mengandung tanin, enam simplisia mengandung flavonoid, dan hanya dua simplisia yang mengandung antrakuinon. Tiga ekstrak etanol tanaman yang memiliki kemampuan penghambatan aktivitas  $\alpha$ -glukosidase tertinggi berdasarkan pengujian adalah ekstrak kulit batang randu (*Ceiba pentandra* (L.) Gaetern), akar tebu (*Saccharum officinarum*), dan kulit batang alpukat (*Persea americana* Mill.) dengan nilai IC<sub>50</sub> berturut-turut, 5,16 ppm; 10,35 ppm; dan 10,83 ppm. Ketiga simplisia tersebut mengandung glikosida, saponin, dan tanin.

### **5.2 Saran**

Perlu diadakan penelitian lebih lanjut mengenai fraksinasi, isolasi dan karakterisasi senyawa aktif yang terdapat pada ekstrak kulit batang randu (*Ceiba pentandra* (L.) Gaetern), akar tebu (*Saccharum officinarum*), dan kulit batang alpukat (*Persea americana* Mill.).

## DAFTAR ACUAN

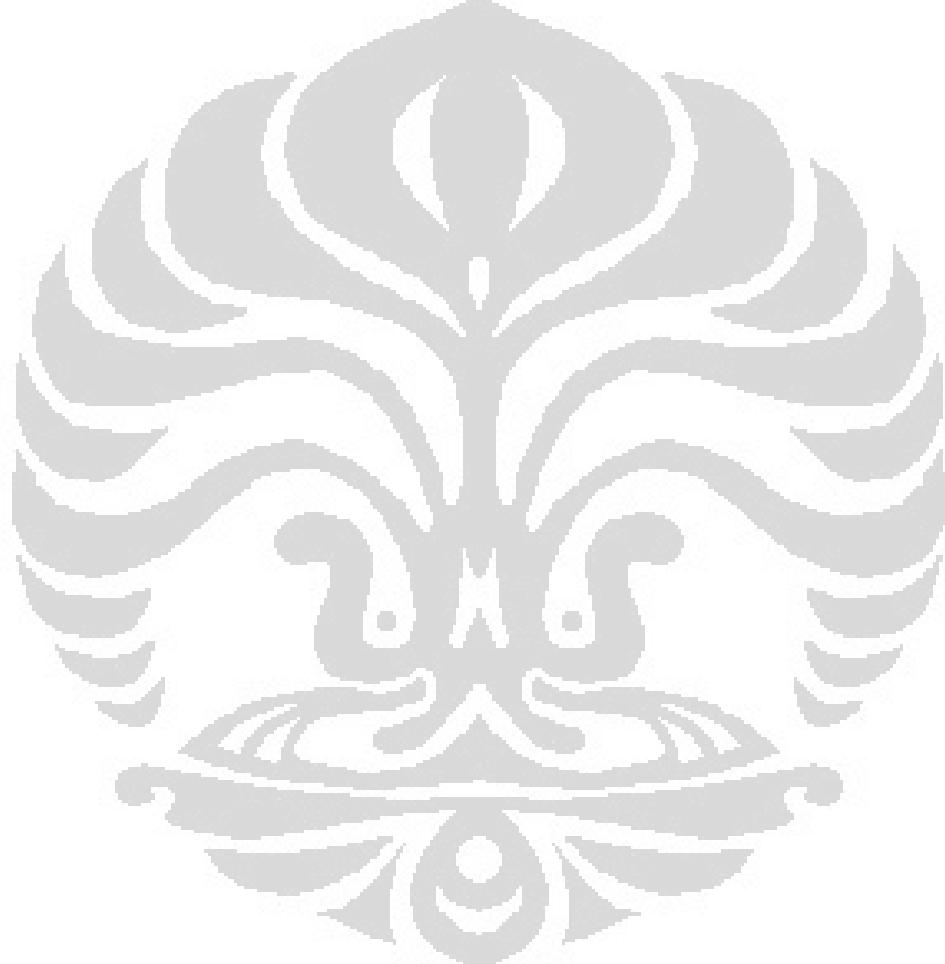
- Ahmad, I., Aqil, F., & Owais, M (Ed). (2006). *Modern Phytomedicine: Turning Medicinal Plants into Drugs*. Weinheim: WILEY-VCH.
- Alfarabi, M. (2010). *Kajian Antidiabetogenik Ekstrak Daun Sirih Merah (Piper crocatum) in Vitro*. Tesis Institut Pertanian Bogor, 4.
- Andrade-Cetto, A., Becerra-Jimenez, J., & Cardenas-Vazquez, R. (2007). Alpha-Glucosidase-inhibiting activity of some Mexican Plants Used in the Treatment of Type 2 Diabetes. *Journal of Ethnopharmacology*, 116: 27-32.
- Arunkumar, S. & Muthuselvam, M. (2009). Analysis of Phytochemical Constituent and Antimicrobial Activities of *Aloe vera* L. Against Clinical Pathogens. *World Journal of Agricultural Sciences*, 5 (5): 572-576.
- Ayeni, K.E & S, Y. (2010). Phytochemical Screening of Three Medicinal Plants Neem Leaf (*Azadirachta indica*), Hibiscus Leaf (*Hibiscus rosasinensis*), and Spear Grass Leaf (*Imperata cylindrical*). *Continental Journal Pharmaceutical Sciences*, 4 (47): 47-50.
- British Pharmacopoeia 2009*. (2008). London: Crown.
- Champe, P.C., Harvey, R.A., & Ferrier, D.R. (2005). *Lippincott's Illustrated Reviews: Biochemistry*. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins.
- Chan, H.H, Sun, H.D., Reddy, M.V.B, & Wu, T.S. (2010). Potent  $\alpha$ -Glucosidase inhibitors from the Roots of *Panax japonicus* C. A. Meyer var.major. *Phytochemistry*, 71 (11): 1360-1364.
- Chiasson J.L., Josse R.G., Gomis R., Hanefeld, KarasikA., Laakso M. (2002). Acarbose for prevention of type 2 diabetes mellitus: The STOP NIDDM randomized trial. *Lancet*, 359 (9323): 2072-2077.
- Chisholm-Burns, M.A., et al. (2008). *Pharmacotherapy Principles and Practice*. New York : McGraw-Hill.
- Choudary, M.I., et al. (2008). Microbial Transformation of Oleanolic Acid by *Fusarium lini* and  $\alpha$ -Glucosidase Inhibitory Activity of its Transformed Products. *Natural Product Research*, 22 (6): 489-494.

- Coulson, C.J. (1994). *Molecular mechanism of Drugs Action* (2nd ed.). London: Taylor & Francis.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (1989). *Vademekum Bahan Obat Alam*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (1995). *Materi Medika Indonesia Jilid VI*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (2000). *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (2005). *Pharmaceutical Care untuk Penyakit Diabetes Melitus*. 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*, 10 (18): 3131-3135
- Dipiro, J.T., Talbert, R.L., Yees, G.C., Matzke, G.R., Wells, B.G., & Posey, L.M. (2005). *Pharmacotherapy A Pathophysiologic Approach* (6th ed.). New York: McGraw-Hill.
- Eisenthal, R., & Danson, M.J. (Ed). (2002). *Enzyme Assays* (2nd ed.) *A Practical Approach*. New York: Oxford University.
- Farnsworth, N.R. (1966). Biological and Phytochemical Screening of Plants. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 55 (3): 225-276.
- Gandjar, I.G. & Rohman, A. (2007). Kimia Farmasi Analisis. Yogyakarta: Pustaka Pelajar Yogyakarta.
- Harborne, J.B.(1987). *Metode Fitokimia. Terjemahan dari Phytochemical Methods oleh Kosasih Padmawinata & Iwang Soediro*. Bandung: Penerbit ITB.
- Heyne, K. (1987). *Tumbuhan Berguna Indonesia*. Jakarta: Yayasan Sarana Wana Jaya.
- Informasi Singkat Benih: Ceiba pentandra* (L.) Gaetn. (9 Maret 2001). 23 Januari 2011.  
[http://www.dephut.go.id/INFORMASI/RRL/IFSP/Ceiba\\_pentandra.pdf](http://www.dephut.go.id/INFORMASI/RRL/IFSP/Ceiba_pentandra.pdf)

- Joseph, B. & Raj, S.J. (2010). Pharmacognostic and Phytochemical Properties of *Aloe vera* Linn An Overview. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 4 (2): 106-110.
- Kalaskar, G.M., Shah, D.R., Raja, N.M., Surana, S.J., & Gond, N.Y. (2010). Pharmacognostic and Phytochemical Investigation of *Ficus carica* Linn. *Ethnobotanical Leaflets*, 14: 599-609.
- Kardono, L.B.S., Dewi, R.T., Lotulung, P.D., & Riswan, S. (2001). *Screening on α-Glucosidase Inhibitory Activity of Wood Extractive of Plant Collected from Mount Rinjani Forest*. Proceeding of the Fourth International Wood Science Symposium, 522-527.
- Kikkoman. (2011). *α-Glucosidase (αGLS-SE) from recombinant E. coli*. 5 Januari 2011.  
[http://202.239.155.79/bio/j/rinsyou/images/pdf/27\\_alphaGLSSE.pdf](http://202.239.155.79/bio/j/rinsyou/images/pdf/27_alphaGLSSE.pdf)
- Kim, K.Y., Nam, K.A., Kurihara, H., & Kim, S.M. (2008). Potent α-Glucosidase Inhibitors Purified from the Red Alga *Gratelouphia elliptica*. *Phytochemistry*, 69: 2820-2825.
- Kubmarwa, D., Ajoku, G.A., Enwerem, N.M., & Okorie, D.A. (2007). Preliminary Phytochemical and Antimicrobial Screening Of 50 Medicinal Plants from Norway. *African Journal of Biotechnology*, 6 (14): 1690-1696.
- Kumar, A., Sharma, U.S., & Rao, C.V. (2010). Experimental Evaluation of *Ficus racemosa* Linn. Fruits Extract on Gastric Ulceration. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 4 (3): 89-92.
- Kumar, S., Maheshwari, K.K., & Singh V. (2008). Central Nervous System of Acute Administration of ethanol extract of *Punica granatum* Seeds in Mice. *Indian Journal of Experimental Biology*, 46: 811-816.
- Linn, W.D., Wofford, M.R., O'Keefe, M.E., & Posey, L.M. (2009). *Pharmacotherapy in Primary Care*. New York: McGraw-Hill.
- McPherson, R.A. & Pincus, M.R. (2007). *Henry's Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods* (21th ed.). Philadelphia: Saunders Elsevier.
- Medicinal Herb Index in Indonesia (Indeks Tumbuhan-Tumbuhan di Indonesia)*. (1986). PT EsaI Indonesia.

- Mensah, J.K., Okoli, R.I., Turay, A.A, & Ogie-Odia, E.A. (2009). Phytochemical Analysis of Medicinal Plants Used for the Management of Hypertension by Esan people of Edo State, Nigeria. *Ethnobotanical Leaflets*, 13: 1273-1287.
- Murray, R.K., Granner, D.K., Mayes, P.A., & Rodwell, V.W. (2003). *Illustrated Biochemistry* (26th ed.). New York: Mc Graw Hill.
- Najib, Ahmad. (2010). *Isolasi dan identifikasi senyawa aktif inhibitor α-glucosidase dari fraksi n-butanol rimpang Acorus calamus L.* Tesis Departemen Farmasi UI, 24-26.
- Olusanmi, M.J. & Amadi, J.E. (2009) Studies on the Antimicrobial Properties and Phytochemical Screening of Garlic (*Allium sativum*) Extract. *Ethnobotanical Leaflets*, 13: 1186-1196.
- Polya, G.M. (2003). *Biochemical Targets of Plant Bioactive Compound: a Pharmacological Reference Guide to Sites of Action and Biological Effects*. Boca Raton: CRC.
- Poongothai, A., Sreena, K.P., Sreejith, K., Uthiralingam, M., & Annapoorani, S. (2011). Preliminary Phytochemicals Screening of *Ficus recemosa* Liin. Bark. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, 2 (2): 431-434.
- Riset dan Teknologi Indonesia. (2002). *Inventaris Tanaman Obat Jilid 1-5 Seri RISTEK* (CD-ROM Melestarikan Warisan Budaya Bangsa Seri ke-1). Jakarta: Kementerian Riset dan Teknologi.
- Samuelsson, G. (1999). *Drugs of Natural Origin: A Textbook of Pharmacognosy* (4th ed.). Swedia: Apotekarsocieteten.
- 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
- Sirait, Midian. (2007). *Penuntun Fitokimia dalam Farmasi*. Bandung: Penerbit ITB.
- Soumyanath, Amala. (2006). *Traditional Medicines for Modern Times: Antidiabetic Plant*. Boca Raton: Taylor & Francis.
- Steenis, C.G.G.J. (1975). *Flora untuk Sekolah di Indonesia*. Jakarta: Pradnya Paramita.

- Sugiwati, S., Setiasih S., & Afifah, F. (2009). *Antihyperglycemic Activity of the Mahkota Dewa [Phaleria macrocarpa (Scheff.)Boerl.] as an Alpha-Glucosidase Inhibitor*. Makara Kesehatan 13(2), 74-78.
- Ulbricht, C., & Seamon, E. (Ed.). (2010). *Natural Standard Herbal Pharmacotherapy: an Evidence-Based Approach*. Kanada: Mosby.
- World Health Organization. (2006). *Definition and Diagnosis of Diabetes Mellitus and Intermediate Hyperglycemia: Report of a WHO/IDF Consultation*. Switzerland: WHO Document Production Services.







Gambar 4.3. Jali  
(*Coix lachryma-jobi*)



Gambar 4.4. Tebu  
(*Saccharum officinarum*)



Gambar 4.5. Kumis kucing  
(*Orthosiphon aristatus*)



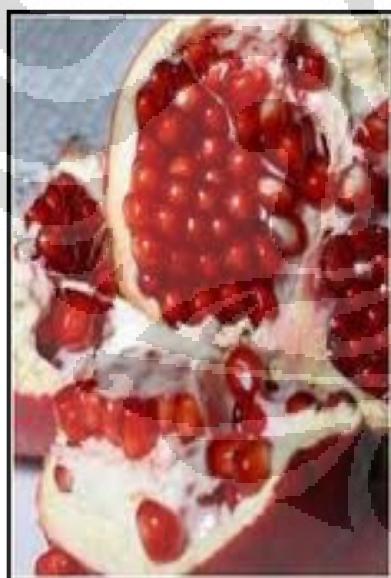
Gambar 4.6. Alpukat  
(*Persea americana*)



Gambar 4.7. Bawang putih  
(*Allium sativum*)



Gambar 4.8. Lidah buaya  
(*Aloe barbadensis*)



Gambar 4.9. Delima  
(*Punica granatum*)



Gambar 4.10. Randu  
(*Ceiba pentandra*)



Gambar 4.11. Mimba  
(*Azadirachta indica*)



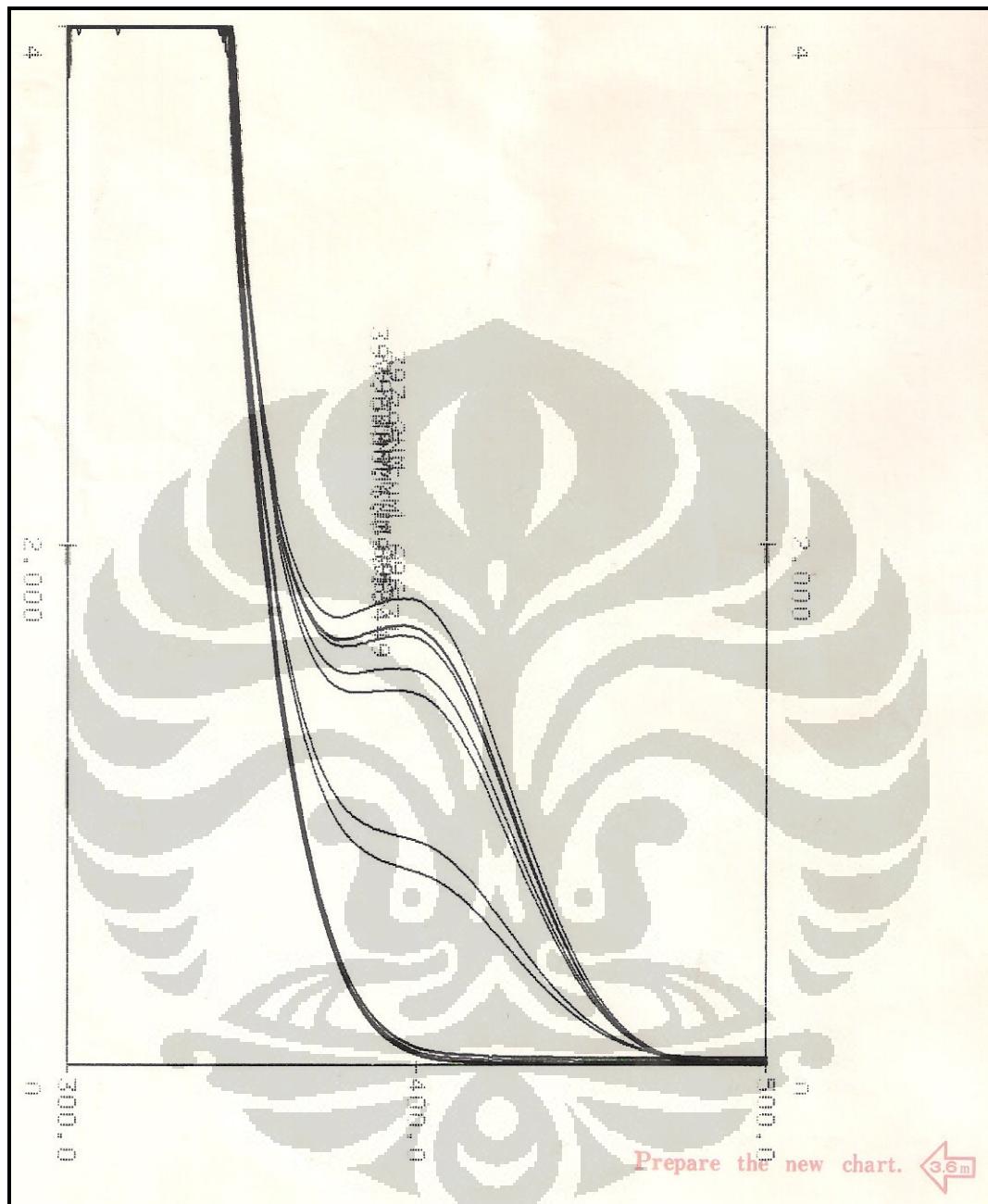
Gambar 4.12. Brotowali  
(*Tinospora crispa*)



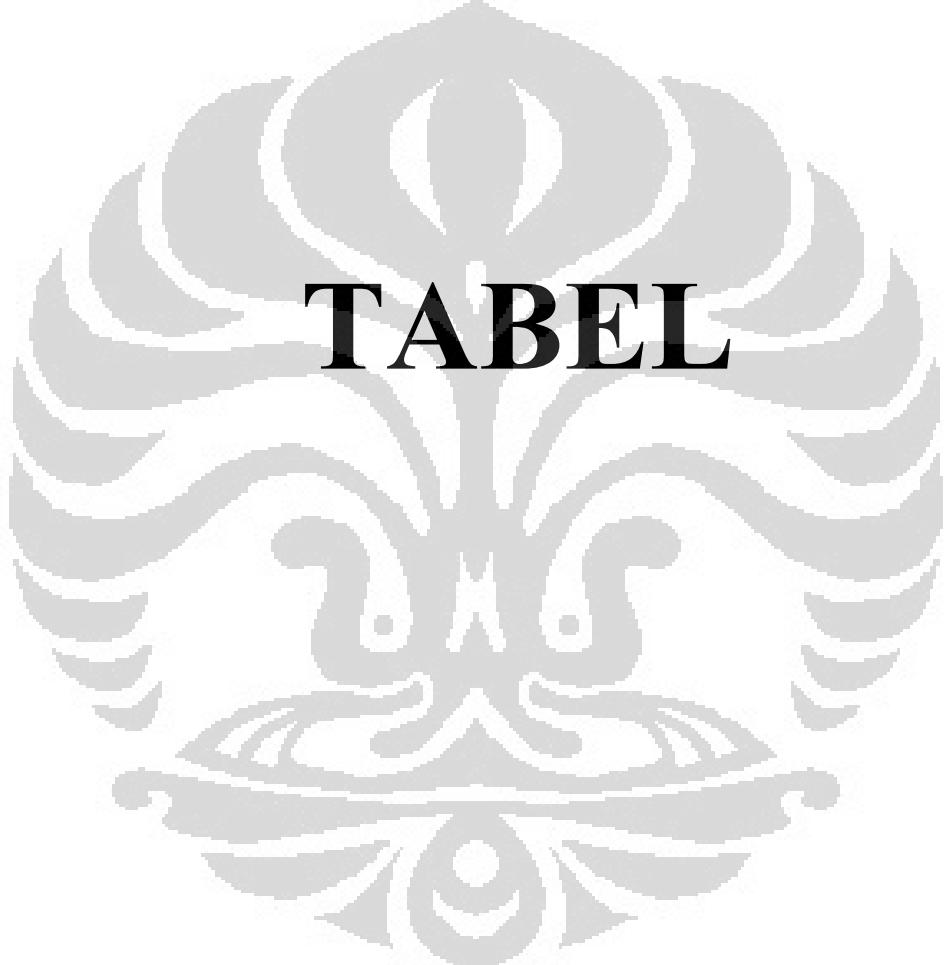
Gambar 4.13 Tiin (*Ficus carica*)



Gambar 4.14. Lowa  
(*Ficus glomerata*)



Gambar 4.15. Spektrum serapan uji penghambatan aktivitas  $\alpha$ -glukosidase ekstrak kulit batang randu



**TABEL**

Tabel 4.3. Susut pengeringan

Nama Tanaman	Bagian Tanaman	Bobot Basah (g)	Bobot Kering (g)	Susut Pengeringan (%)
Jali	Daun	333	62	81,38
Jali	Biji	235	153	34,89
Tebu	Akar	322	68	78,88
Kumis kucing	Daun	93	27	70,97
Alpukat	Kulit batang	327	87	73,39
Bawang putih	Umbi	261	83	68,20
Lidah buaya	Daun	1877	50	97,34
Delima	Daging buah-biji	283	55	80,57
Batang randu	Kulit batang	795	278	65,03
Mimba	Daun	551	183	66,79
Brotowali	Daun	265	52	80,38
Brotowali	Batang	613	134	78,14
Tiin	Daun	401	81	79,80
Tiin	Kulit batang	188	42	77,66
Lowa	Buah	164	41	75,00
Lowa	Kulit batang	476	147	69,12

Tabel 4.4. Rendemen ekstrak

Nama Simplisia	Bobot Simplisia (g)	Bobot Ekstrak (g)	Rendemen Ekstrak (%)
Daun jali	20,1396	3,7209	18,48
Biji jali	20,0349	1,4231	7,10
Akar tebu	20,1848	2,5727	12,75
Daun kumis kucing	20,0007	5,0598	25,30
Kulit batang alpukat	20,0081	3,7970	18,98
Umbi bawang putih	20,0088	12,5178	62,56
Daun lidah buaya	20,0095	3,5184	17,58
Daging buah-biji delima	20,0106	6,4262	32,11
Kulit batang randu	20,0608	3,1782	15,84
Daun mimba	20,0091	4,4655	22,32
Daun brotowali	20,0036	4,1241	20,62
Batang brotowali	20,0024	2,4266	12,13
Daun tiin	20,0023	2,6383	13,19
Kulit batang tiin	20,0032	2,4612	12,30
Buah lowa	20,007	4,1500	20,74
Kulit batang lowa	20,0018	1,5289	7,64

Tabel 4.5. Hasil identifikasi kandungan kimia tiap ekstrak

		Ekstrak							
Kandungan Kimia	Pereaksi Kimia	Daun jali	Biji jali	Akar tebu	Daun kumis kucing	Kulit batang alpukat	Umbi bawang putih	Daun lidah buaya	Daging buah-biji delima
Alkoloid	Mayer LP	+	-	-	-	+	+	-	+
	Bouchardat LP	+	-	-	-	+	+	-	+
	Dragendorf LP	+	-	-	-	+	+	-	+
Glikosida	Reaksi Mollisch	+	+	+	+	+	+	+	+
Flavonoid	Serbuk Zn + HCl 2N + HCl (p)	-	-	+	-	+	-	-	-
	Serbuk Mg + HCl (p)	-	-	-	-	-	-	-	-
	Aseton + serbuk asam borat + serbuk asam oksalat + eter	-	-	-	-	-	-	-	-
	Kromatografi kertas	+	+	-	+	-	-	+	-
Terpen	Reaksi Lieberman-Bouchard	+	-	+	+	-	-	-	+
Tanin	FeCl3 1%	+	-	+	+	+	-	+	+
	Gelatin 10%	-	-	+	+	+	-	-	-
	NaCl-Gelatin	-	-	+	+	+	-	-	-
Saponin	Air panas	+	-	+	+	+	-	+	-
Antrakuinon	Wash benzen + NaOH 2N	+	+	-	-	-	-	-	-

Keterangan : + = terdeteksi dalam ekstrak; - = tidak terdeteksi dalam ekstrak

Tabel 4.5. Hasil identifikasi kandungan kimia tiap ekstrak (lanjutan)

Kandungan Kimia	Pereaksi Kimia	Ekstrak							
		Kulit Batang Randu	Daun Mimba	Daun Brotowali	Batang Brotowali	Daun Tiin	Kulit Batang Tiin	Buah Lowa	Kulit Batang Lowa
Alkoloid	Mayer LP	+	+	+	+	-	-	-	+
	Bouchardat LP	+	+	+	+	-	+	-	+
	Dragendorf LP	+	+	+	+	-	+	-	+
Glikosida	Reaksi Mollisch	+	+	+	+	+	+	+	+
Flavonoid	Serbuk Zn + HCl 2N + HCl (p)	+	-	-	-	-	-	-	-
	Serbuk Mg + HCl (p)	-	-	-	-	-	-	+	-
	Aseton + serbuk asam borat + serbuk asam oksalat + eter	-	+	+	+	-	-	+	-
	Kromatografi kertas	-	+	-	-	+	-	-	-
Terpen	Reaksi Lieberman-Bouchard	-	+	+	+	+	+	-	-
Tanin	FeCl3 1%	+	+	-	-	+	+	+	+
	Gelatin 10%	+	+	-	-	-	+	+	-
	NaCl-Gelatin	+	+	-	-	-	+	+	-
Saponin	Air panas	+	+	+	+	+	+	+	+
Antrakuinon	Wash benzen + NaOH 2N	-	-	-	-	-	-	-	-

Keterangan : + = terdeteksi dalam ekstrak; - = tidak terdeteksi dalam ekstrak

Tabel 4.6. Hasil uji pendahuluan

Unit Enzim	Konsentrasi Substrat		Serapan		Rata-rata	U-K	Aktivitas Enzim
			A <sub>1</sub>	A <sub>2</sub>			
0,055 U/ml	20 mM	Uji	1,846	1,858	1,852	1,796	1,89 U/ml
		Kontrol	0,053	0,059	0,056		45,00 U/mg
	10 mM	Uji	2,012	1,965	1,989	1,963	2,07 U/ml
		Kontrol	0,024	0,028	0,026		49,17 U/mg
	5 mM	Uji	1,883	1,957	1,920	1,910	2,01 U/ml
		Kontrol	0,007	0,013	0,010		47,86 U/mg
	2,5 mM	Uji	1,145	1,356	1,251	1,242	1,31 U/ml
		Kontrol	0,012	0,005	0,009		31,12 U/mg
	1,25 mM	Uji	1,218	1,243	1,231	1,228	1,29 U/ml
		Kontrol	0,004	0,001	0,003		30,77 U/mg

Keterangan : A<sub>1</sub> = serapan 1; A<sub>2</sub> = serapan 2; U-K = uji - kontrol

Tabel 4.7. Penghambatan aktivitas enzim oleh akarbose (sebagai pembanding)

Konsentrasi		Serapan		Rata-rata Rerata	S <sub>1</sub> -S <sub>0</sub>	% Inhibisi	IC <sub>50</sub> (ppm)		
		A <sub>1</sub>	A <sub>2</sub>						
0,125% ( 6,25 ppm)	S <sub>1</sub>	1,905	1,868	1,887	1,829	4,27	503,91		
	S <sub>0</sub>	0,054	0,062	0,058					
0,25% ( 12,5 ppm)	S <sub>1</sub>	1,827	1,894	1,861	1,801	5,71			
	S <sub>0</sub>	0,059	0,060	0,060					
0,50% ( 25 ppm)	S <sub>1</sub>	1,872	1,806	1,839	1,781	6,76			
	S <sub>0</sub>	0,056	0,060	0,058					
1% ( 50 ppm)	S <sub>1</sub>	1,840	1,776	1,808	1,747	8,56			
	S <sub>0</sub>	0,064	0,059	0,062					
B (Blanko)					1,910				
Persamaan regresi					$\hat{y} = 0,09 + 4,19 x$				

Keterangan : A<sub>1</sub> = serapan 1; A<sub>2</sub> = serapan 2; S<sub>1</sub> = sampel; S<sub>0</sub> = kontrol sampel;

IC<sub>50</sub> = konsentrasi yang dibutuhkan untuk menghambat 50% aktivitas enzim dalam kondisi pengujian

Tabel 4.8. Penghambatan aktivitas enzim oleh daun jali

Konsentrasi		Serapan		Rata-rata	$S_1 - S_0$	% Inhibisi	$IC_{50}$ (ppm)		
		A <sub>1</sub>	A <sub>2</sub>						
0,125% (6,30 ppm)	S <sub>1</sub>	1,877	1,894	1,886	1,813	3,07	203,00		
	S <sub>0</sub>	0,076	0,070	0,073					
0,25% (12,60 ppm)	S <sub>1</sub>	1,860	1,805	1,833	1,751	6,36	203,00		
	S <sub>0</sub>	0,080	0,083	0,082					
0,50% (25,20 ppm)	S <sub>1</sub>	1,795	1,709	1,752	1,650	11,76	203,00		
	S <sub>0</sub>	0,103	0,101	0,102					
1% (50,40 ppm)	S <sub>1</sub>	1,773	1,721	1,747	1,615	13,66	203,00		
	S <sub>0</sub>	0,128	0,137	0,133					
B (Blanko)					1,870				
Persamaan regresi					$y = 3,31 + 0,23 x$				

Keterangan : A<sub>1</sub> = serapan 1; A<sub>2</sub> = serapan 2; S<sub>1</sub> = sampel; S<sub>0</sub> = kontrol sampel;  
 $IC_{50}$  = konsentrasi yang dibutuhkan untuk menghambat 50% aktivitas enzim dalam kondisi pengujian

Tabel 4.9. Penghambatan aktivitas enzim oleh biji jali

Konsentrasi		Serapan		Rata-rata	$S_1 - S_0$	% Inhibisi	$IC_{50}$ (ppm)		
		A <sub>1</sub>	A <sub>2</sub>						
0,125% (6,29 ppm)	S <sub>1</sub>	1,824	1,801	1,813	1,754	2,15	371,08		
	S <sub>0</sub>	0,060	0,057	0,059					
0,25% (12,58 ppm)	S <sub>1</sub>	1,826	1,767	1,797	1,732	3,40	371,08		
	S <sub>0</sub>	0,065	0,065	0,065					
0,5%* (25,20 ppm)	S <sub>1</sub>	1,822	1,850	1,836	1,765	5,61	371,08		
	S <sub>0</sub>	0,072	0,070	0,071					
1% (50,30 ppm)	S <sub>1</sub>	1,770	1,758	1,764	1,652	7,84	371,08		
	S <sub>0</sub>	0,113	0,111	0,112					
B (Blanko)					1,7925				
B (Blanko)*					1,870				
Persamaan regresi					$y = 1,77 + 0,13 x$				

Keterangan : A<sub>1</sub> = serapan 1; A<sub>2</sub> = serapan 2; S<sub>1</sub> = sampel; S<sub>0</sub> = kontrol sampel;  
 $IC_{50}$  = konsentrasi yang dibutuhkan untuk menghambat 50% aktivitas enzim dalam kondisi pengujian; \* = pengujian kedua

Tabel 4.10. Penghambatan aktivitas enzim oleh akar tebu

Konsentrasi		Serapan		Rata-rata	S <sub>1</sub> -S <sub>0</sub>	% Inhibisi	IC <sub>50</sub> (ppm)		
		A <sub>1</sub>	A <sub>2</sub>						
0,015% (0,78 ppm)	S <sub>1</sub>	1,650	1,602	1,626	1,519	4,32	10,35		
	S <sub>0</sub>	0,111	0,104	0,108					
0,03% (1,57 ppm)	S <sub>1</sub>	1,544	1,552	1,548	1,438	9,39	10,35		
	S <sub>0</sub>	0,113	0,107	0,110					
0,06% (3,14 ppm)	S <sub>1</sub>	1,547	1,505	1,526	1,412	11,03	10,35		
	S <sub>0</sub>	0,114	0,114	0,114					
0,125% (6,29 ppm)	S <sub>1</sub>	1,177	1,183	1,180	1,080	31,98	10,35		
	S <sub>0</sub>	0,099	0,102	0,101					
B (Blanko)					1,587				
Persamaan regresi					$y = 4,85x - 0,19$				

Keterangan : A<sub>1</sub> = serapan 1; A<sub>2</sub> = serapan 2; S<sub>1</sub> = sampel; S<sub>0</sub> = kontrol sampel;  
 IC<sub>50</sub> = konsentrasi yang dibutuhkan untuk menghambat 50% aktivitas enzim dalam kondisi pengujian

Tabel 4.11. Penghambatan aktivitas enzim oleh daun kumis kucing

Konsentrasi		Serapan		Rata-rata	S <sub>1</sub> -S <sub>0</sub>	% Inhibisi	IC <sub>50</sub> (ppm)		
		A <sub>1</sub>	A <sub>2</sub>						
0,125% (6,29 ppm)	S <sub>1</sub>	1,819	1,822	1,821	1,739	5,62	373,91		
	S <sub>0</sub>	0,080	0,084	0,082					
0,25% (12,58 ppm)	S <sub>1</sub>	1,792	1,825	1,809	1,709	7,25	373,91		
	S <sub>0</sub>	0,099	0,101	0,100					
0,50% (25,15 ppm)	S <sub>1</sub>	1,847	1,838	1,843	1,699	7,76	373,91		
	S <sub>0</sub>	0,142	0,145	0,144					
1% (50,30 ppm)	S <sub>1</sub>	1,836	1,865	1,851	1,634	11,32	373,91		
	S <sub>0</sub>	0,222	0,212	0,217					
B (Blanko)					1,842				
Persamaan regresi					$y = 5,13 + 0,12x$				

Keterangan : A<sub>1</sub> = serapan 1; A<sub>2</sub> = serapan 2; S<sub>1</sub> = sampel; S<sub>0</sub> = kontrol sampel;  
 IC<sub>50</sub> = konsentrasi yang dibutuhkan untuk menghambat 50% aktivitas enzim dalam kondisi pengujian

Tabel 4.12. Penghambatan aktivitas enzim oleh kulit batang alpukat

Konsentrasi	Serapan		Rata-rata	$S_1 - S_0$	% Inhibisi	$IC_{50}$ (ppm)		
	$A_1$	$A_2$						
0,015% (0,79 ppm)	$S_1$	1,834	1,910	1,872	1,818	2,81		
	$S_0$	0,054	0,055	0,055				
0,03% (1,58 ppm)	$S_1$	1,819	1,918	1,869	1,809	3,29		
	$S_0$	0,056	0,064	0,060				
0,06% (3,16 ppm)	$S_1$	1,771	1,737	1,754	1,700	9,12		
	$S_0$	0,055	0,054	0,055				
0,125% (6,31 ppm)	$S_1$	1,304	1,469	1,387	1,327	29,06		
	$S_0$	0,058	0,062	0,060				
B (Blanko)				1,870				
Persamaan regresi				$y = -3,59 + 4,95$				

Keterangan :  $A_1$  = serapan 1;  $A_2$  = serapan 2;  $S_1$  = sampel;  $S_0$  = kontrol sampel;  
 $IC_{50}$  = konsentrasi yang dibutuhkan untuk menghambat 50% aktivitas enzim dalam kondisi pengujian

Tabel 4.13. Penghambatan aktivitas enzim oleh umbi bawang putih

Konsentrasi	Serapan		Rata-rata	$S_1 - S_0$	% Inhibisi	$IC_{50}$ (ppm)		
	$A_1$	$A_2$						
0,125% (6,41 ppm)	$S_1$	1,915	1,998	1,957	1,884	5,35		
	$S_0$	0,073	0,073	0,073				
0,25% (12,82 ppm)	$S_1$	1,838	1,875	1,857	1,784	10,35		
	$S_0$	0,072	0,073	0,073				
0,50% (25,64 ppm)	$S_1$	1,809	1,806	1,808	1,746	12,26		
	$S_0$	0,062	0,061	0,062				
1% (51,3 ppm)	$S_1$	1,751	1,708	1,730	1,651	17,04		
	$S_0$	0,084	0,073	0,079				
B (Blanko)				1,990				
Persamaan regresi				$y = 5,69 + 0,23 x$				

Keterangan :  $A_1$  = serapan 1;  $A_2$  = serapan 2;  $S_1$  = sampel;  $S_0$  = kontrol sampel;  
 $IC_{50}$  = konsentrasi yang dibutuhkan untuk menghambat 50% aktivitas enzim dalam kondisi pengujian

Tabel 4.14. Penghambatan aktivitas enzim oleh daun lidah buaya

Konsentrasi	Serapan		Rata-rata	$S_1 - S_0$	% Inhibisi	$IC_{50}$ (ppm)		
	A <sub>1</sub>	A <sub>2</sub>						
0,125% (6,28 ppm)	S <sub>1</sub>	2,140	2,217	2,178	2,032	5,10		
	S <sub>0</sub>	0,148	0,144	0,146				
0,25% (12,56 ppm)	S <sub>1</sub>	1,990	2,061	2,025	1,864	12,95		
	S <sub>0</sub>	0,160	0,163	0,161				
0,50% (25,12 ppm)	S <sub>1</sub>	1,843	2,093	1,968	1,785	16,65		
	S <sub>0</sub>	0,181	0,185	0,183				
1% (50,24 ppm)	S <sub>1</sub>	1,912	1,678	1,795	1,561	27,12		
	S <sub>0</sub>	0,236	0,233	0,234				
B (Blanko)				2,141				
Persamaan regresi				$y = 4,66 + 0,46 x$				

Keterangan : A<sub>1</sub> = serapan 1; A<sub>2</sub> = serapan 2; S<sub>1</sub> = sampel; S<sub>0</sub> = kontrol sampel;  
 $IC_{50}$  = konsentrasi yang dibutuhkan untuk menghambat 50% aktivitas enzim dalam kondisi pengujian

Tabel 4.15. Penghambatan aktivitas enzim oleh daging buah-biji delima

Konsentrasi	Serapan		Rata-rata	$S_1 - S_0$	% Inhibisi	$IC_{50}$ (ppm)		
	A <sub>1</sub>	A <sub>2</sub>						
0,125%* (6,35 ppm)	S <sub>1</sub>	1,845	1,840	1,843	1,789	4,36		
	S <sub>0</sub>	0,054	0,054	0,054				
0,25% (12,70 ppm)	S <sub>1</sub>	1,759	1,773	1,766	1,698	7,82		
	S <sub>0</sub>	0,070	0,066	0,068				
0,50% (25,40 ppm)	S <sub>1</sub>	1,751	1,726	1,739	1,669	9,39		
	S <sub>0</sub>	0,072	0,067	0,070				
1% (50,80 ppm)	S <sub>1</sub>	1,640	1,613	1,627	1,564	15,12		
	S <sub>0</sub>	0,076	0,050	0,063				
B (Blanko)				1,842				
B (Blanko)*				1,870				
Persamaan regresi				$y = 3,84 + 0,22 x$				

Keterangan : A<sub>1</sub> = serapan 1; A<sub>2</sub> = serapan 2; S<sub>1</sub> = sampel; S<sub>0</sub> = kontrol sampel;  
 $IC_{50}$  = konsentrasi yang dibutuhkan untuk menghambat 50% aktivitas enzim dalam kondisi pengujian; \* = pengujian kedua

Tabel 4.16. Penghambatan aktivitas enzim oleh kulit batang randu

Konsentrasi	Serapan		Rata-rata	$S_1-S_0$	% Inhibisi	$IC_{50}$ (ppm)
	$A_1$	$A_2$				
0,015% (0,78 ppm)	$S_1$	1,826	1,902	1,864	1,814	2,99
	$S_0$	0,045	0,055	0,050		
0,03% (1,57 ppm)	$S_1$	1,818	1,789	1,804	1,754	6,23
	$S_0$	0,055	0,045	0,050		
0,06% (3,14 ppm)	$S_1$	1,497	1,347	1,422	1,373	26,60
	$S_0$	0,050	0,049	0,050		
0,125% (6,28 ppm)	$S_1$	0,750	0,731	0,741	0,688	63,24
	$S_0$	0,055	0,051	0,053		
B (Blanko)						1,870
Persamaan regresi						$y = -8,63 + 11,35 x$

Keterangan :  $A_1$  = serapan 1;  $A_2$  = serapan 2;  $S_1$  = sampel;  $S_0$  = kontrol sampel;  
 $IC_{50}$  = konsentrasi yang dibutuhkan untuk menghambat 50% aktivitas enzim dalam kondisi pengujian

Tabel 4.17. Penghambatan aktivitas enzim oleh daun mimba

Konsentrasi	Serapan		Rata-rata	$S_1-S_0$	% Inhibisi	$IC_{50}$ (ppm)
	$A_1$	$A_2$				
0,125% (6,45 ppm)	$S_1$	1,747	1,825	1,786	1,703	13,36
	$S_0$	0,084	0,082	0,083		
0,25% (12,90 ppm)	$S_1$	1,384	1,443	1,414	1,319	32,92
	$S_0$	0,094	0,096	0,095		
0,50% (25,80 ppm)	$S_1$	0,667	0,609	0,638	0,519	73,59
	$S_0$	0,118	0,120	0,119		
1% (51,60 ppm)	$S_1$	0,263	0,263	0,263	0,083	95,80
	$S_0$	0,191	0,170	0,181		
B (Blanko)						1,9655
Persamaan regresi						$y = 10,72 + 1,79 x$

Keterangan :  $A_1$  = serapan 1;  $A_2$  = serapan 2;  $S_1$  = sampel;  $S_0$  = kontrol sampel;  
 $IC_{50}$  = konsentrasi yang dibutuhkan untuk menghambat 50% aktivitas enzim dalam kondisi pengujian

Tabel 4.18. Penghambatan aktivitas enzim oleh daun brotowali

Konsentrasi		Serapan		Rata-rata	$S_1 - S_0$	% Inhibisi	$IC_{50}$ (ppm)		
		A <sub>1</sub>	A <sub>2</sub>						
0,125% (6,28 ppm)	$S_1$	1,694	1,661	1,678	1,609	10,09	68,06		
	$S_0$	0,072	0,066	0,069					
0,25% (12,55 ppm)	$S_1$	1,608	1,631	1,620	1,525	14,76	68,06		
	$S_0$	0,098	0,091	0,095					
0,50% (25,10 ppm)	$S_1$	1,510	1,462	1,486	1,342	24,99	68,06		
	$S_0$	0,143	0,145	0,144					
1% (50,20 ppm)	$S_1$	1,343	1,374	1,359	1,113	37,81	68,06		
	$S_0$	0,245	0,247	0,246					
B (Blanko)					1,789				
Persamaan regresi					$y = 7,12 + 0,63 x$				

Keterangan : A<sub>1</sub> = serapan 1; A<sub>2</sub> = serapan 2; S<sub>1</sub> = sampel; S<sub>0</sub> = kontrol sampel;  
 $IC_{50}$  = konsentrasi yang dibutuhkan untuk menghambat 50% aktivitas enzim dalam kondisi pengujian

Tabel 4.19. Penghambatan aktivitas enzim oleh batang brotowali

Konsentrasi		Serapan		Rata-rata	$S_1 - S_0$	% Inhibisi	$IC_{50}$ (ppm)		
		A <sub>1</sub>	A <sub>2</sub>						
0,125% (6,31 ppm)	$S_1$	1,394	1,289	1,342	1,238	30,19	22,99		
	$S_0$	0,103	0,104	0,104					
0,25% (12,62 ppm)	$S_1$	1,185	1,123	1,154	1,038	41,50	22,99		
	$S_0$	0,116	0,117	0,117					
0,50% (25,24 ppm)	$S_1$	0,882	0,889	0,886	0,746	57,96	22,99		
	$S_0$	0,133	0,147	0,140					
1% (50,48 ppm)	$S_1$	0,664	0,674	0,669	0,480	72,96	22,99		
	$S_0$	0,191	0,188	0,190					
B (Blanko)					1,774				
Persamaan regresi					$y = 28,62 + 0,93 x$				

Keterangan : A<sub>1</sub> = serapan 1; A<sub>2</sub> = serapan 2; S<sub>1</sub> = sampel; S<sub>0</sub> = kontrol sampel;  
 $IC_{50}$  = konsentrasi yang dibutuhkan untuk menghambat 50% aktivitas enzim dalam kondisi pengujian

Tabel 4.20. Penghambatan aktivitas enzim oleh daun tiin

Konsentrasi		Serapan		Rata-rata	S <sub>1</sub> -S <sub>0</sub>	% Inhibisi	IC <sub>50</sub> (ppm)
		A <sub>1</sub>	A <sub>2</sub>				
0,125% (6,31 ppm)	S <sub>1</sub>	1,957	1,954	1,956	1,897	3,51	177,92
	S <sub>0</sub>	0,058	0,060	0,059			
0,25% (12,62 ppm)	S <sub>1</sub>	1,950	1,883	1,917	1,854	5,67	177,92
	S <sub>0</sub>	0,060	0,065	0,063			
0,50% (25,25 ppm)	S <sub>1</sub>	1,848	1,917	1,883	1,797	8,57	177,92
	S <sub>0</sub>	0,086	0,085	0,086			
1% (50,50 ppm)	S <sub>1</sub>	1,768	1,779	1,774	1,659	15,62	177,92
	S <sub>0</sub>	0,109	0,121	0,115			
B (Blanko)					1,9655		

Keterangan : A<sub>1</sub> = serapan 1; A<sub>2</sub> = serapan 2; S<sub>1</sub> = sampel; S<sub>0</sub> = kontrol sampel;  
 IC<sub>50</sub> = konsentrasi yang dibutuhkan untuk menghambat 50% aktivitas enzim dalam kondisi pengujian

Tabel 4.21. Penghambatan aktivitas enzim oleh kulit batang tiin

Konsentrasi		Serapan		Rata-rata	S <sub>1</sub> -S <sub>0</sub>	% Inhibisi	IC <sub>50</sub> (ppm)		
		A <sub>1</sub>	A <sub>2</sub>						
0,125% (6,33 ppm)	S <sub>1</sub>	1,774	1,774	1,774	1,695	4,56	112,84		
	S <sub>0</sub>	0,080	0,079	0,080					
0,25% (12,65 ppm)	S <sub>1</sub>	1,553	1,599	1,576	1,495	15,83	112,84		
	S <sub>0</sub>	0,082	0,081	0,082					
0,50% (25,30 ppm)	S <sub>1</sub>	1,579	1,435	1,507	1,423	19,85	112,84		
	S <sub>0</sub>	0,085	0,083	0,084					
1% (50,60 ppm)	S <sub>1</sub>	1,474	1,399	1,437	1,336	24,78	112,84		
	S <sub>0</sub>	0,098	0,104	0,101					
B (Blanko)					1,776				
Persamaan regresi					$y = 7,12 + 0,38 x$				

Keterangan : A<sub>1</sub> = serapan 1; A<sub>2</sub> = serapan 2; S<sub>1</sub> = sampel; S<sub>0</sub> = kontrol sampel;  
 IC<sub>50</sub> = konsentrasi yang dibutuhkan untuk menghambat 50% aktivitas enzim dalam kondisi pengujian

Tabel 4.22. Penghambatan aktivitas enzim oleh buah lowa

Konsentrasi		Serapan		Rata-rata	$S_1 - S_0$	% Inhibisi	$IC_{50}$ (ppm)		
		A <sub>1</sub>	A <sub>2</sub>						
0,125% (6,28 ppm)	S <sub>1</sub>	1,729	1,748	1,739	1,696	5,41	40,62		
	S <sub>0</sub>	0,046	0,040	0,043					
0,25% (12,55 ppm)	S <sub>1</sub>	1,699	1,703	1,701	1,664	7,17	40,62		
	S <sub>0</sub>	0,036	0,038	0,037					
0,50% (25,10 ppm)	S <sub>1</sub>	1,389	1,469	1,429	1,383	22,85	40,62		
	S <sub>0</sub>	0,046	0,046	0,046					
1% (50,20 ppm)	S <sub>1</sub>	0,650	0,658	0,654	0,604	66,30	40,62		
	S <sub>0</sub>	0,045	0,055	0,050					
B (Blanko)					1,7925				
Persamaan regresi					$y = -8,49 + 1,44 x$				

Keterangan : A<sub>1</sub> = serapan 1; A<sub>2</sub> = serapan 2; S<sub>1</sub> = sampel; S<sub>0</sub> = kontrol sampel;  
 $IC_{50}$  = konsentrasi yang dibutuhkan untuk menghambat 50% aktivitas enzim dalam kondisi pengujian

Tabel 4.23. Penghambatan aktivitas enzim oleh kulit batang lowa

Konsentrasi		Serapan		Rata-rata	$S_1 - S_0$	% Inhibisi	$IC_{50}$ (ppm)		
		A <sub>1</sub>	A <sub>2</sub>						
0,125% (6,40 ppm)	S <sub>1</sub>	1,752	1,796	1,774	1,702	13,45	183,30		
	S <sub>0</sub>	0,072	0,073	0,073					
0,25% (12,80 ppm)	S <sub>1</sub>	1,764	1,736	1,750	1,665	15,31	183,30		
	S <sub>0</sub>	0,084	0,086	0,085					
0,50% (25,60 ppm)	S <sub>1</sub>	1,686	1,619	1,653	1,543	21,54	183,30		
	S <sub>0</sub>	0,109	0,111	0,110					
1% (51,20 ppm)	S <sub>1</sub>	1,701	1,647	1,674	1,524	22,51	183,30		
	S <sub>0</sub>	0,151	0,150	0,151					
B (Blanko)					1,966				
Persamaan regresi					$y = 13,32 + 0,20 x$				

Keterangan : A<sub>1</sub> = serapan 1; A<sub>2</sub> = serapan 2; S<sub>1</sub> = sampel; S<sub>0</sub> = kontrol sampel;  
 $IC_{50}$  = konsentrasi yang dibutuhkan untuk menghambat 50% aktivitas enzim dalam kondisi pengujian

Tabel 4.24. Hasil uji kinetika penghambatan enzim

Konsentrasi Substrat [S]	Serapan			1/[S]	1/V <sub>0</sub>	1/V <sub>1</sub>	1/V <sub>2</sub>				
	V										
	V <sub>0</sub>	V <sub>1</sub>	V <sub>2</sub>								
2,5	1,434	1,544	0,606	0,40	0,698	0,648	1,652				
5	1,846	1,995	0,736	0,20	0,542	0,501	1,359				
10	1,781	1,341	0,896	0,10	0,562	0,746	1,116				
20	1,693	1,391	0,415	0,05	0,591	0,719	2,410				

Keterangan : V<sub>0</sub> = Tanpa inhibitor; V<sub>1</sub> = inhibitor 1,58 ppm; V<sub>2</sub> = inhibitor 3,16 ppm

Tabel 4.24. Hasil uji kinetika penghambatan enzim (lanjutan)

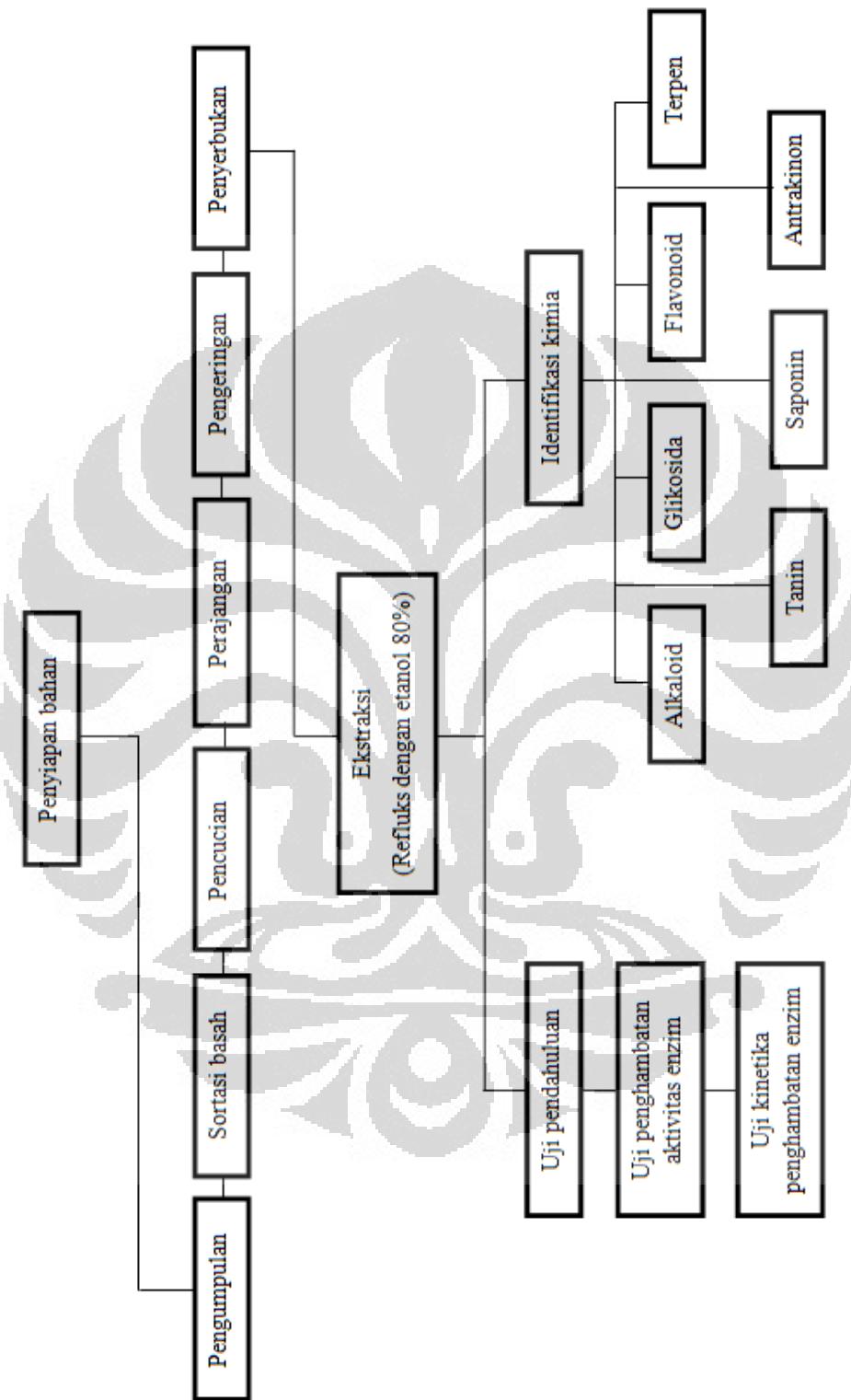
1 Konsentrasi Substrat [S]	Serapan			1/[S]	1/V <sub>0</sub>	1/V <sub>3</sub>	1/V <sub>4</sub>				
	V										
	V <sub>0</sub>	V <sub>3</sub>	V <sub>4</sub>								
2,5	1,434	0,174	0,023	0,40	0,698	5,747	43,478				
5	1,846	0,353	0,046	0,20	0,542	2,833	21,739				
10	1,781	0,642	0,122	0,10	0,562	1,559	8,231				
20	1,693	0,600	0,104	0,05	0,591	1,667	9,662				

Keterangan : V<sub>0</sub> = Tanpa inhibitor; V<sub>3</sub> = inhibitor 6,32 ppm; V<sub>4</sub> = inhibitor 12,64 ppm

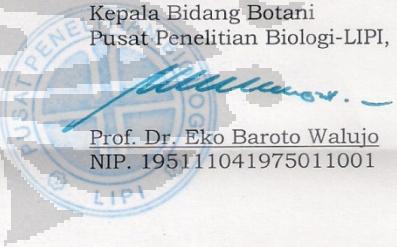


# LAMPIRAN

Lampiran 1. Skema kerja



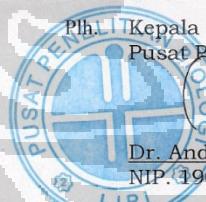
Lampiran 2. Hasil identifikasi tanaman

 <p style="text-align: center;"><b>LEMBAGA ILMU PENGETAHUAN INDONESIA</b>  <b>( Indonesian Institute of Sciences )</b>  <b>PUSAT PENELITIAN BIOLOGI</b>  <b>( Research Center for Biology )</b>  Jl. Raya Jakarta - Bogor Km. 46 Cibinong 16911, Indonesia P.O Box 25 Cibinong  Telp. (021) 87907636 - 87907604 Fax. 87907612</p>				
Cibinong, 28 Februari 2011				
Nomor	: 179/IPH.1.02/IIf.8/II/2011			
Lampiran	: -			
Perihal	: <u>Hasil identifikasi/determinasi Tumbuhan</u>			
<p>Kepada Yth.  Bpk./Ibu/Sdr(i). Ary Andriani  NPM : 0706264495  Mhs. Univ. Indonesia  Kampus UI Depok - 16424</p>				
<p>Dengan hormat,</p> <p>Bersama ini kami sampaikan hasil identifikasi/determinasi tumbuhan yang Saudara kirimkan ke "Herbarium Bogoriense", Bidang Botani Pusat Penelitian Biologi-LIPPI Bogor, adalah sebagai berikut :</p>				
No.	No. Kol.	Jenis	Suku	
1	Delima Merah	<i>Punica granatum</i> L.	Punicaceae	
2	Kumis Kucing	<i>Orthosiphon aristatus</i> (Blume) Miq.	Lamiaceae	
3	Daun Alpukat	<i>Persea Americana</i> Mill.	Lauraceae	
4	Bawang Putih	<i>Allium sativum</i> L.	Liliaceae	
5	Lidah Buaya	<i>Aloe barbadensis</i> Mill.	Liliaceae	
<p>Demikian, semoga berguna bagi Saudara.</p> <p style="text-align: right;">Kepala Bidang Botani  Pusat Penelitian Biologi-LIPPI,    Prof. Dr. Eko Baroto Walujo  NIP. 195111041975011001</p>				
<i>D:\Ident 2011\Ary Andriani.doc\JJA-DG</i> Page 1 of 1				

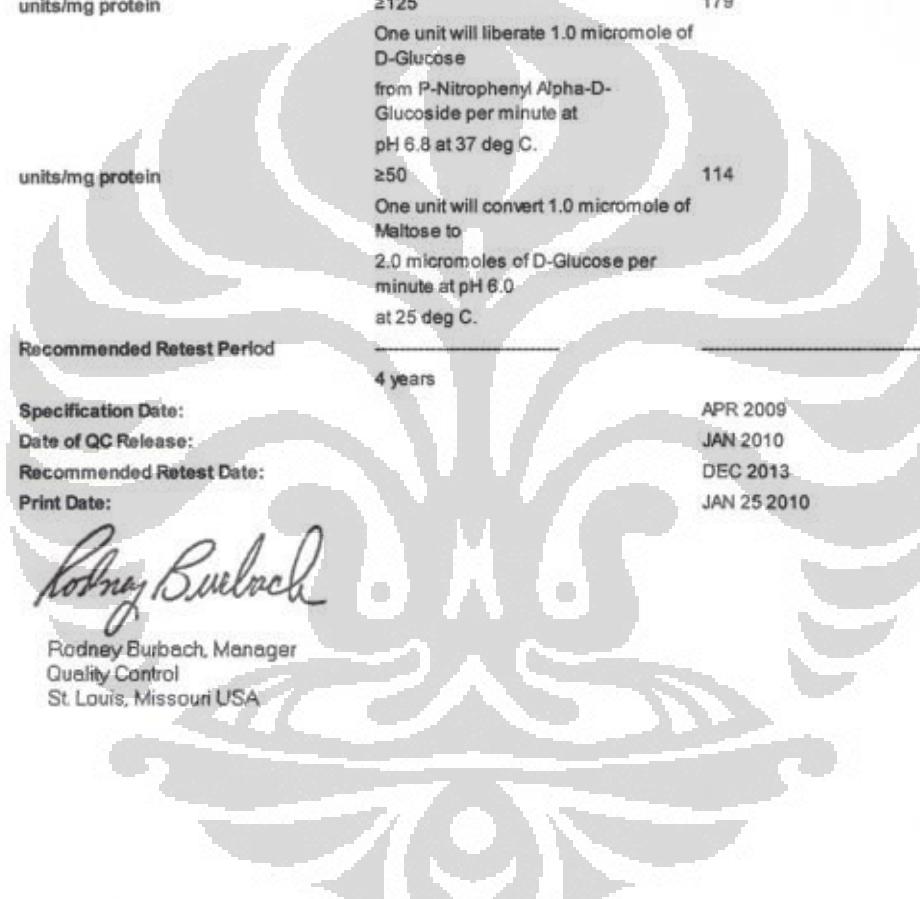
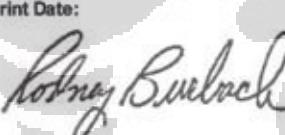
Lampiran 2. Hasil identifikasi tanaman (lanjutan)

	<p><b>LEMBAGA ILMU PENGETAHUAN INDONESIA</b>  <b>( Indonesian Institute of Sciences )</b>  <b>PUSAT PENELITIAN BIOLOGI</b>  <b>( Research Center for Biology )</b></p> <p>Jl. Raya Jakarta - Bogor Km. 46 Cibinong 16911, Indonesia P.O Box 25 Cibinong  Telp. (021) 87907636 - 87907604 Fax. 87907612</p>																												
Cibinong, 28 Maret 2011																													
Nomor	: 398/IPH.1.02/If.8/III/2011																												
Lampiran	: -																												
Perihal	: <u>Hasil identifikasi/determinasi Tumbuhan</u>																												
Kepada Yth. Bpk./Ibu/Sdr(i). Ary Andriani																													
Dengan hormat,																													
Bersama ini kami sampaikan hasil identifikasi/determinasi tumbuhan yang Saudara kirimkan ke "Herbarium Bogoriense", Bidang Botani Pusat Penelitian Biologi-LIPPI Bogor, adalah sebagai berikut :																													
<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="text-align: center;">No.</th> <th style="text-align: center;">No. Kol.</th> <th style="text-align: center;">Jenis</th> <th style="text-align: center;">Suku</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td style="text-align: center;">1</td> <td style="text-align: center;">Daun Jali/Hanjeli</td> <td style="text-align: center;"><i>Coix lacryma-jobi</i> L.</td> <td style="text-align: center;">Poaceae</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">2</td> <td style="text-align: center;">Daun Tebu</td> <td style="text-align: center;"><i>Saccharum officinarum</i> L.</td> <td style="text-align: center;">Poaceae</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">3</td> <td style="text-align: center;">Kulit Randu</td> <td style="text-align: center;"><i>Ceiba pentandra</i> (L.) Gaertn.</td> <td style="text-align: center;">Bombacaceae</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">4</td> <td style="text-align: center;">Daun Mimba</td> <td style="text-align: center;"><i>Azadirachta indica</i> A.Juss.</td> <td style="text-align: center;">Meliaceae</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">5</td> <td style="text-align: center;">Batang Brotowali</td> <td style="text-align: center;"><i>Tinospora crispa</i> Miers</td> <td style="text-align: center;">Menispermaceae</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">6</td> <td style="text-align: center;">Buah Batang Lowa</td> <td style="text-align: center;"><i>Ficus</i> sp.</td> <td style="text-align: center;">Moraceae</td> </tr> </tbody> </table>		No.	No. Kol.	Jenis	Suku	1	Daun Jali/Hanjeli	<i>Coix lacryma-jobi</i> L.	Poaceae	2	Daun Tebu	<i>Saccharum officinarum</i> L.	Poaceae	3	Kulit Randu	<i>Ceiba pentandra</i> (L.) Gaertn.	Bombacaceae	4	Daun Mimba	<i>Azadirachta indica</i> A.Juss.	Meliaceae	5	Batang Brotowali	<i>Tinospora crispa</i> Miers	Menispermaceae	6	Buah Batang Lowa	<i>Ficus</i> sp.	Moraceae
No.	No. Kol.	Jenis	Suku																										
1	Daun Jali/Hanjeli	<i>Coix lacryma-jobi</i> L.	Poaceae																										
2	Daun Tebu	<i>Saccharum officinarum</i> L.	Poaceae																										
3	Kulit Randu	<i>Ceiba pentandra</i> (L.) Gaertn.	Bombacaceae																										
4	Daun Mimba	<i>Azadirachta indica</i> A.Juss.	Meliaceae																										
5	Batang Brotowali	<i>Tinospora crispa</i> Miers	Menispermaceae																										
6	Buah Batang Lowa	<i>Ficus</i> sp.	Moraceae																										
Demikian, semoga berguna bagi Saudara.																													
Kepala Bidang Botani Pusat Penelitian Biologi-LIPPI,  Prof. Dr. Eko Baroto Waluyo NIP. 195111041975011001																													
<i>J:\Ident 2011\Ary Andriani....doc\JJA-SP</i>																													
Page 1 of 1																													

Lampiran 2. Hasil identifikasi tanaman (lanjutan)

	<b>LEMBAGA ILMU PENGETAHUAN INDONESIA</b> ( Indonesian Institute of Sciences ) <b>PUSAT PENELITIAN BIOLOGI</b> ( Research Center for Biology )								
Jl. Raya Jakarta - Bogor Km. 46 Cibinong 16911, Indonesia P.O Box 25 Cibinong Telp. (021) 87907636 - 87907604 Fax. 87907612									
Cibinong, 18 Mei 2011									
Nomor : 014/IPH.1.02/IIf.8/V/2011 Lampiran : - Perihal : <u>Hasil identifikasi/determinasi Tumbuhan</u>									
Kepada Yth. Bpk./Ibu/Sdr(i). Ary Andriani NPM : 0706264495 Mhs. Univ. Indonesia Fak. MIPA Kampus UI Depok, 16424									
Dengan hormat,									
Bersama ini kami sampaikan hasil identifikasi/determinasi tumbuhan yang Saudara kirimkan ke "Herbarium Bogoriense", Bidang Botani Pusat Penelitian Biologi-LIPPI Bogor, adalah sebagai berikut :									
<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="text-align: center;">No.</th> <th style="text-align: center;">No. Kol.</th> <th style="text-align: center;">Jenis</th> <th style="text-align: center;">Suku</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td style="text-align: center;">1</td> <td style="text-align: center;">-</td> <td style="text-align: center;"><i>Ficus carica L.</i></td> <td style="text-align: center;">Moraceae</td> </tr> </tbody> </table>		No.	No. Kol.	Jenis	Suku	1	-	<i>Ficus carica L.</i>	Moraceae
No.	No. Kol.	Jenis	Suku						
1	-	<i>Ficus carica L.</i>	Moraceae						
Demikian, semoga berguna bagi Saudara.									
 Kepala Bidang Botani Pusat Penelitian Biologi-LIPPI, Dr. Andria Agusta, S.Si. NIP. 196908161994031003									
<i>Muz -</i> <i>D:\Ident 2011\Ary Andriani.....doc\JJA-DG</i> <i>Page 1 of 1</i>									

Lampiran 3. Sertifikat analisis  $\alpha$ -glukosidase

<b>Certificate of Analysis</b>		
<b>SIGMA-ALDRICH®</b>		
<b>Product Name</b>	$\alpha$ -Glucosidase from <i>Saccharomyces cerevisiae</i> , recombinant, expressed in unspecified host, lyophilized powder, $\geq 125$ units/mg protein	
<b>Product Number</b>	G0660	
<b>Product Brand</b>	SIGMA	
<b>CAS Number</b>	9001-42-7	
<b>TEST</b>	<b>SPECIFICATION</b>	<b>LOT 129K1426 RESULTS</b>
% Protein (Biuret) units/mg protein	$\geq 10$ $\geq 125$	26 179
	One unit will liberate 1.0 micromole of D-Glucose from P-Nitrophenyl Alpha-D-Glucoside per minute at pH 6.8 at 37 deg C.	
units/mg protein	$\geq 50$	114
	One unit will convert 1.0 micromole of Maltose to 2.0 micromoles of D-Glucose per minute at pH 6.0 at 25 deg C.	
<b>Recommended Retest Period</b>	<hr/> 4 years	
<b>Specification Date:</b>	APR 2009	
<b>Date of QC Release:</b>	JAN 2010	
<b>Recommended Retest Date:</b>	DEC 2013	
<b>Print Date:</b>	JAN 25 2010	
  Rodney Burbach, Manager Quality Control St. Louis, Missouri USA		

1/2

Lampiran 4. *Shaking bath incubator*



Lampiran 5. Spektrofotometer Shimadzu UV-265

