



UNIVERSITAS INDONESIA

**SKRINING AKTIVITAS PENGHAMBATAN ENZIM
 α -GLUKOSIDASE DAN PENAPISAN FITOKIMIA
DARI BEBERAPA TANAMAN OBAT YANG DIGUNAKAN
SEBAGAI ANTIDIABETES DI INDONESIA**

SKRIPSI

**MAYA MASITHA
0706264854**

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



UNIVERSITAS INDONESIA

**SKRINING AKTIVITAS PENGHAMBATAN ENZIM
 α -GLUKOSIDASE DAN PENAPISAN FITOKIMIA
DARI BEBERAPA TANAMAN OBAT YANG DIGUNAKAN
SEBAGAI ANTIDIABETES DI INDONESIA**

SKRIPSI


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

**MAYA MASITHA
0706264854**

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

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

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




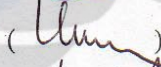

Nama : Maya Masitha
NPM : 0706264854
Tanda Tangan : 
Tanggal : 28 Juni 2011

HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh :
Nama : Maya Masitha
NPM : 0706264854
Program Studi : Sarjana Farmasi
Judul Skripsi : Skrining Aktivitas Penghambatan Enzim
 α -Glukosidase dan Penapisan Fitokimia dari
Beberapa Tanaman Obat yang Digunakan sebagai
Antidiabetes di Indonesia

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

DEWAN PENGUJI

Pembimbing I	: Dr. Katrin, M.S., Apt	()
Pembimbing II	: Dr. Abdul Mun'im, M.Si., Apt	()
Penguji I	: Dr. Amarila Malik, M.Si., Apt	()
Penguji II	: Drs. Umar Mansur, M.Sc	()
Penguji III	: Dra. Maryati Kurniadi, M.Si., Apt	()

Ditetapkan di : Depok
Tanggal : 28 Juni 2011

KATA PENGANTAR

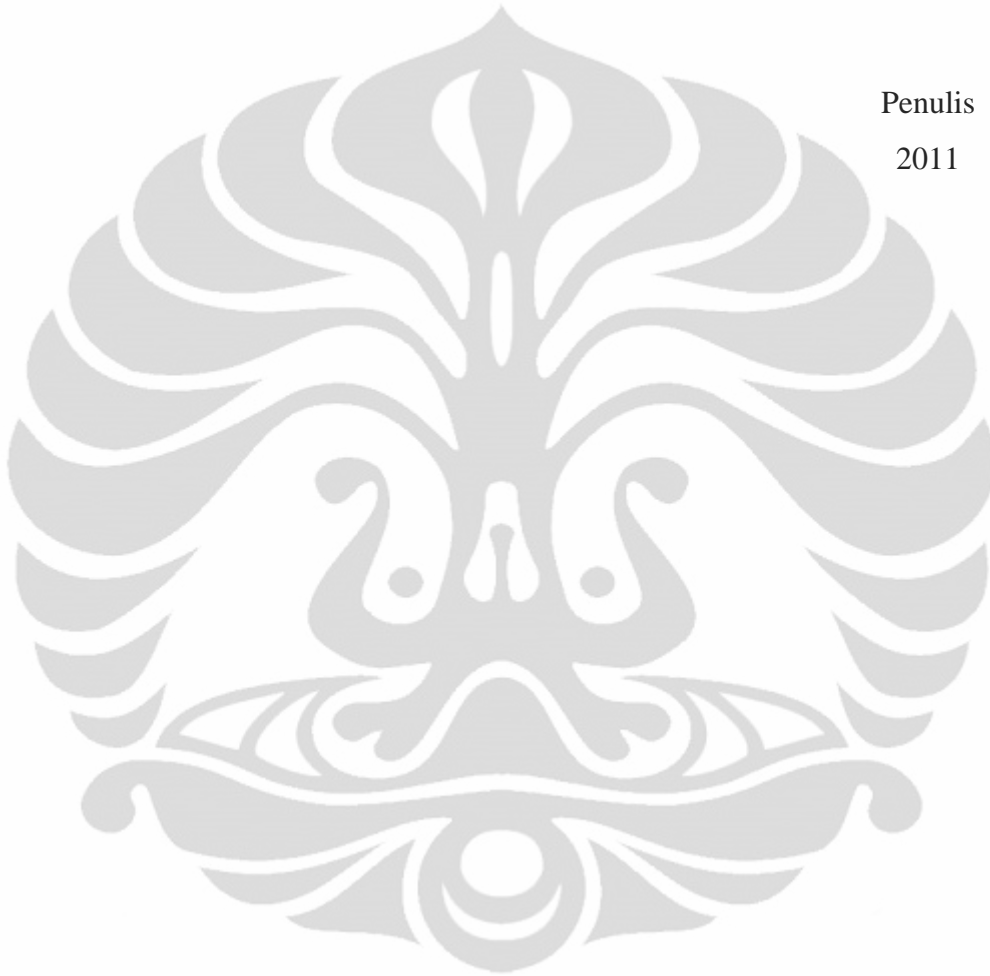
Segala puji dan syukur hanya kepada Allah SWT atas segala limpahan rahmat dan kasih sayang-Nya sehingga penulis mampu menyelesaikan penelitian dan penyusunan skripsi ini. Penulisan skripsi ini dilakukan dalam rangka memenuhi salah satu syarat untuk mencapai gelar Sarjana Farmasi di Departemen Farmasi,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

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

1. Ibu Prof. Dr. Yahdiana Harahap, MS, selaku ketua Departemen Farmasi FMIPA UI;
2. Ibu Dr. Katrin, MS, selaku dosen pembimbing skripsi yang telah menyediakan waktu, bantuan, tenaga, dan pikiran untuk mengarahkan penulis dalam penyusunan skripsi ini;
3. Bapak Dr. Abdul Mun'im, MS, selaku dosen pembimbing skripsi yang telah menyediakan waktu, bantuan, tenaga, dan pikiran untuk mengarahkan penulis dalam penyusunan skripsi;
4. Bapak Dr. Iskandarsyah, M.S.,Apt., selaku pembimbing akademik yang telah memberikan bimbingan dan bantuan selama penulis menempuh pendidikan di Departemen Farmasi FMIPA UI;
5. Bapak dan Ibu staf pengajar Departemen Farmasi FMIPA UI atas ilmu pengetahuan dan bantuan yang telah diberikan selama menempuh pendidikan di Departemen Farmasi FMIPA UI;
6. Ayah, ibu, adik, dan kakak yang senantiasa memberikan kasih sayang, semangat, dan doa demi kelancaran studi penulis;
7. 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. Mudah-mudahan skripsi yang masih membutuhkan banyak masukan dan saran yang bersifat membangun ini, dapat berguna bagi para pembaca. Akhir kata, semoga pencarian ilmu tak pernah berhenti selama hayat dikandung badan.

Penulis
2011



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

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

Nama : Maya Masitha
NPM : 0706264854
Program Studi : Sarjana Farmasi
Departemen : Farmasi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Jenis karya : Skripsi

demikian 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 Aktivitas Penghambatan Enzim α -Glukosidase dan Penapisan Fitokimia dari Beberapa Tanaman Obat yang Digunakan Sebagai Antidiabetes di Indonesia

berserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Indonesia berhak menyimpan, mengalihmedia/format-kan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (database), merawat, dan memublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Depok

Pada tanggal : 20 Juni 2011

Yang menyatakan



(Maya Masitha)

ABSTRAK

Nama : Maya Masitha
Program Studi: Farmasi
Judul : Skrining Aktivitas Penghambatan Enzim α -Glukosidase dan Penapisan Fitokimia dari Beberapa Tanaman Obat yang Digunakan sebagai Antidiabetes di Indonesia

Diabetes melitus ditandai dengan kadar gula darah yang melebihi normal (hiperglikemia) sebagai akibat dari tubuh yang kekurangan insulin relatif maupun absolut. Enzim α -glukosidase menghidrolisis karbohidrat menjadi glukosa. Pada pasien diabetes, penghambatan terhadap enzim α -glukosidase menyebabkan penghambatan terhadap absorpsi glukosa dan menurunkan hiperglikemia. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui aktivitas penghambatan enzim α -glukosidase dari beberapa tanaman obat yang digunakan di Indonesia. Serbuk simplisia diekstrak dengan cara refluks menggunakan pelarut etanol 80%. Aktivitas penghambatan enzim α -glukosidase dilakukan dengan mengukur serapannya secara spektrofotometri. Akarbose digunakan sebagai standar. Penghambatan enzim α -glukosidase paling besar ditunjukkan pada ekstrak biji *Swietenia mahagoni* dengan nilai IC_{50} 7,03 ppm diikuti oleh ekstrak daun *Anacardium occidentale*, biji *Luffa cylindrical*, umbi *Dioscorea hispida*, daun *Blumea balsamifera*, daun *Catharanthus roseus*, *Allium cepa*, daun *Physalis angulata*, herba *Ocinum americanum* dan daun *Tectona grandis* dengan nilai IC_{50} 9,11 ppm; 17,46 ppm; 26,05 ppm; 28,01 ppm; 36,08 ppm; 50,58 ppm; 55,89 ppm; 80,78 ppm; dan 87,38 ppm. Ekstrak biji *Swietenia mahagoni* menunjukkan aktivitas penghambatan kompetitif. Hasil penapisan fitokimia menunjukkan semua ekstrak mengandung saponin dan glikosida.

Kata kunci : α -glukosidase, aktivitas penghambatan, diabetes melitus, glikosida saponin, *Swietenia mahagoni*.

xiv + 68 halaman: 25 gambar; 35 tabel; 2 lampiran

Daftar acuan : 44 (1961-2010)

ABSTRACT

Name : Maya Masitha
Program Study : Pharmacy
Title : Inhibitory Activity of α -Glucosidase and Phytochemical Screening in Some Medicinal Plants Used as an Antidiabetic in Indonesia.

Diabetes mellitus is characterized by exceed blood sugar level to normal (hyperglycemia) caused by a relative or absolute deficiency in insulin. α -Glucosidase hydrolyzes carbohydrates into glucose. In diabetic patients, inhibition of this enzymes causes the restraint of glucose absorption and decreases the postprandial hyperglycemia. The purpose of this research was to evaluate the inhibitory activity of α -glucosidase in some medicinal plants used as antidiabetic in Indonesia. Crude drug powder was extracted by reflux using 80% ethanol. Inhibitory activity of α -glucosidase was evaluated by measuring the absorbance with spectrophotometry. Acarbose used as a standard. The biggest inhibitory activity of α -glucosidase demonstrated in *Swietenia mahagoni* seed extract with IC₅₀ value of 7.03 ppm followed by *Anacardium occidentale* leaf, *Luffa cylindrical* seed, *Dioscorea hispida* root, *Blumea balsamifera* leaf, *Catharanthus roseus* leaf, *Allium cepa*, *Physalis angulata* leaf, *Ocinum americanum* leaf, and *Tectona grandis* leaf extracts with IC₅₀ value of 9.11 ppm, 17.46 ppm, 26.05 ppm, 28.01 ppm, 36.08 ppm, 50.58 ppm, 55.89 ppm, 80.78 ppm, and 87.38 ppm. *Swietenia mahagoni* seed extract shown to be a competitive inhibitor. The result of phytochemical screening showed that all of the extracts contain saponin and glycoside.

Keyword : α -glucosidase, inhibitory activity, diabetes mellitus, glycoside, saponin, *Swietenia mahagoni*.
xiv + 68 pages: 25 figures; 35 tables; 2 appendices
Bibliography : 44 (1961-2010)

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS	iii
HALAMAN PENGESAHAN	iv
KATA PENGANTAR	v
HALAMAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH	vii
ABSTRAK	viii
ABSTRACT	ix
DAFTAR ISI	x
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Tujuan Penelitian	2
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	3
2.1. Tanaman Obat	3
2.2. Deskripsi Tanaman	3
2.3. Simplisia	9
2.4. Ekstraksi	9
2.5. Penapisan Fitokimia	11
2.6. Diabetes Melitus	14
2.7. Uji Inhibisi α -Glukosidase	16
2.8. Mekanisme Kerja Obat Sebagai Inhibitor Reaksi Enzim	17
2.9. Spektrofotometer UV-Vis	19
BAB 3. METODE PENELITIAN	21
3.1. Waktu dan Tempat	21
3.2. Bahan	21
3.3. Alat	22
3.4. Cara Kerja	22
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	31
4.1. Penyiapan Bahan	31
4.2. Ekstraksi Simplisia	32
4.3. Identifikasi Golongan Senyawa Kimia	33
4.4. Optimasi Konsentrasi Enzim dan Substrat	35
4.5. Uji Aktivitas Penghambatan α -Glukosidase	37
4.6. Kinetika Enzim	40

BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN.....	42
5.1. Kesimpulan	42
5.2. Saran	42
DAFTAR ACUAN	43



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1. Jambu mete (<i>Anacardium occidentale</i> L.).....	47
2.2. Pulai (<i>Alstonia scholaris</i> (L.) R.Br.).....	47
2.3. Tapak dara (<i>Catharanthus roseus</i> L. G. Don)	47
2.4. Kaca piring (<i>Ervatamia divaricata</i> (L.) Burkill).....	47
2.5. Daun sembung (<i>Blumea balsamifera</i> (L.) DC)	47
2.6. Oyong/Blustru (<i>Luffa cylindrical</i> (L.) M.J. Roemer)	47
2.7. Gadung (<i>Dioscorea hispida</i> Dennst.)	48
2.8. Kemangi (<i>Ocinum americanum</i> L.).....	48
2.9. Bawang merah (<i>Allium cepa</i> L.).....	48
2.10. Kedelai (<i>Glycine max</i> Merr.)	48
2.11. Mahoni (<i>Swietenia mahagoni</i> (L.) Jacq.)	48
2.12. Daun sendok (<i>Plantago major</i> L.).....	48
2.13. Jinten hitam (<i>Nigella sativa</i> L.).....	49
2.14. Ciplukan (<i>Physalis angulata</i> L.).....	49
2.15. Jati (<i>Tectona grandis</i> L.)	49
2.16. Struktur Kimia Akarbose.....	16
2.17. Persamaan Reaksi Enzimatik α -glukosidase dan <i>p</i> -nitrofenil- α -D glukopiranosida	16
2.18. Plot <i>Lineweaver-Burk</i>	17
2.19. Plot <i>Lineweaver-Burk</i> Inhibisi Kompetitif	18
2.20. Plot <i>Lineweaver-Burk</i> Inhibisi Nonkompetitif	19
3.1. Spektrofotometer Shimadzu UV -265	50
4.1. Grafik Optimasi Konsentrasi Substrat.....	36
4.2. Plot <i>Lineweaver-Burk</i> Ekstrak Biji Mahoni	41
4.3. Spektrum Serapan Standar Akarbose	50
4.4. Spektrum Serapan Ekstrak Biji Mahoni (<i>Swietenia mahagoni</i>).....	51

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
3.1. Daftar Tanaman Uji	21
3.2. Prosedur Uji Aktivitas Penghambat α -Glukosidase	29
4.1. Susut Pengeringan	32
4.2. Rendemen Ekstrak	33
4.3. Identifikasi Senyawa Kimia.....	35
4.4. Penentuan Konsentrasi Optimum Enzim.....	36
4.5. Penentuan Konsentrasi Optimum Substrat	37
4.6. Aktivitas Penghambatan Enzim α -glukosidase Ekstrak dan Akarbose....	39
4.7. Data Kinetika Inhibisi Enzim	40
4.8. Hasil Perhitungan Tetapan Michaelis-Menten	40
4.9. Identifikasi Alkaloid	52
4.10. Identifikasi Flavonoid.....	52
4.11. Identifikasi Tanin.....	53
4.12. Identifikasi Saponin	53
4.13. Identifikasi Antrakuinon.....	54
4.14. Identifikasi Glikosida	54
4.15. Identifikasi Terpen.....	55
4.16. Aktivitas Penghambatan α -Glukosidase Akarbose (Standar).....	56
4.17. Aktivitas Penghambatan α -Glukosidase Ekstrak Daun Jambu Mete	56
4.18. Aktivitas Penghambatan α -Glukosidase Ekstrak Pulai	57
4.19. Aktivitas Penghambatan α -Glukosidase Ekstrak Daun Tapak Dara	57
4.20. Aktivitas Penghambatan α -Glukosidase Ekstrak Daun Kaca Piring.....	58
4.21. Aktivitas Penghambatan α -Glukosidase Ekstrak Daun Sembung.....	58
4.22. Aktivitas Penghambatan α -Glukosidase Ekstrak Biji Oyong.....	59
4.23. Aktivitas Penghambatan α -Glukosidase Ekstrak Umbi Gadung.....	59
4.24. Aktivitas Penghambatan α -Glukosidase Ekstrak Herba Kemangi	60
4.25. Aktivitas Penghambatan α -Glukosidase Ekstrak Bawang Merah	60
4.26. Aktivitas Penghambatan α -Glukosidase Ekstrak Kedelai	61
4.27. Aktivitas Penghambatan α -Glukosidase Ekstrak Biji Mahoni	61
4.28. Aktivitas Penghambatan α -Glukosidase Ekstrak Daun Sendok	62
4.29. Aktivitas Penghambatan α -Glukosidase Ekstrak Jinten Hitam	62
4.30. Aktivitas Penghambatan α -Glukosidase Ekstrak Daun Ciplukan	63
4.31. Aktivitas Penghambatan α -Glukosidase Ekstrak Daun Jati	63
4.32. Data Kinetika Inhibisi Enzim Sampel	64
4.33. Data Kinetika Inhibisi Enzim Blanko.....	65

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Skema Kerja	66
2. Hasil Identifikasi Tanaman	67



BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Diabetes Melitus merupakan salah satu penyakit di dalam sepuluh besar penyakit di Indonesia. Pada tahun 2000, 171 juta jiwa menderita Diabetes melitus di seluruh dunia dan pada tahun 2030 diduga angka ini akan menjadi dua kali lipat dan mencapai 366 juta jiwa (World Health Organization, 2004). Diabetes melitus ditandai dengan kadar gula darah yang melebihi normal (hiperglikemia) sebagai akibat dari tubuh yang kekurangan insulin relatif maupun absolut. Diabetes melitus ditandai dengan poliuria, polidipsi, polifagia, penurunan berat badan, dan lemas (Handoko dan Suharto, 1995). Defisiensi insulin atau resistensi terhadap kerja insulin mengakibatkan penyakit diabetes melitus. Sekitar 90% penderita diabetes menderita penyakit diabetes melitus tipe 2 yang tidak bergantung pada insulin. Pasien tersebut biasanya menderita obesitas, dengan kadar insulin plasma yang tinggi, dan mempunyai reseptor insulin dengan regulasi ke bawah. Sepuluh persen sisanya menderita diabetes melitus tipe 1 yang bergantung insulin (Granner, 2003).

Pengobatan diabetes dapat dilakukan dengan pemberian injeksi insulin atau dengan obat modern, seperti antidiabetik oral, yang terdiri dari sulfonilurea, biguanid, thiazolidindion, dan penghambatan α -glukosidase. Penghambatan α -glukosidase digunakan untuk pengobatan diabetes tipe 2. Tipe obat ini tidak meningkatkan sekresi dari insulin. Penggunaan antihiperlipemik penghambat α -glukosidase menghambat secara *reversible*, berkompetisi dengan enzim pencernaan karbohidrat di usus seperti alfa-amilase, α -glukosidase, sukrase dan maltase. Enzim ini menghidrolisis karbohidrat menjadi glukosa. Pada pasien diabetes, penghambatan terhadap enzim ini menyebabkan penghambatan terhadap absorpsi glukosa dan menurunkan hiperglikemia (Sugiwati, Setiasih, dan Afifah, 2009).

Berbagai jenis obat antidiabetik oral banyak ditemukan di apotek dan biasanya tergolong obat yang mahal dan harus terus menerus digunakan. Untuk

itu perlu dicarikan cara alternatif. Salah satunya adalah menggunakan obat yang ada di sekitarnya yaitu tanaman obat. Berbagai jamu-jamuan telah digunakan sebagai antidiabetes, dan khasiatnya tersebar secara turun menurun dengan bukti manfaatnya. Untuk lebih memberikan dasar bagi bukti manfaatnya, perlu dilakukan penelitian agar dapat dipertanggung jawabkan secara ilmiah (Widowati, Dzulkarnain, dan Sa'roni, 1997).

Di Indonesia, telah dilakukan penelitian terhadap tanaman obat untuk mengetahui aktivitas penghambatan enzim α -glukosidase diantaranya lima jenis benalu dari jenis yang berbeda (*Dendrophthoe pentandra* L. Miq., *Scurulla* sp., *Macrosolen cochinchinensis*, *Helixanthera setigera* dan *Dendrothophe of Umbullata*). Hasil penelitian terhadap tanaman tersebut diketahui kelima ekstrak metanol *Dendrophthoe pentandra* L. Miq., *Scurulla* sp., *Macrosolen cochinchinensis*, *Helixanthera setigera* dan *Dendrothophe of Umbullata* mempunyai efek menghambat enzim α -glukosidase dan aktivitas tertinggi terdapat pada ekstrak *Scurulla* sp (Sundowo, Darmawan, Fajriah, dan Artanti, 2010).

Kulit pulai, daun tapak dara, umbi gadung, bawang merah, biji mahoni, daun sembung, dan daun sendok telah digunakan sebagai ramuan tradisional sebagai antidiabetes (Mandisiswoyo, R., 1975). Selain itu, beberapa tanaman lain telah diteliti secara *invivo* mempunyai khasiat sebagai antidiabetes diantaranya adalah daun ciplukan, daun jambu mete, biji jintan hitam, daun jati, herba kemangi, daun kaca piring, biji oyong dan kedelai. Berdasarkan uraian diatas, pada penelitian ini dilakukan uji aktivitas penghambatan enzim α -glukosidase terhadap tanaman tersebut.

Pengukuran aktivitas penghambatan enzim α -glukosidase dilakukan dengan mengukur serapannya secara spektrofotometri. Percobaan dilakukan pada beberapa tanaman obat dengan variasi konsentrasi sediaan uji untuk mengetahui konsentrasi paling optimal yang dapat menghambat aktivitas enzim α -glukosidase.

1.2 Tujuan penelitian

- a. Mengetahui aktivitas penghambatan enzim α -glukosidase dari beberapa tanaman obat yang digunakan sebagai antidiabetes di Indonesia.
- b. Mengetahui golongan senyawa kimia ekstrak yang diuji.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman obat

Tanaman obat sudah sejak lama dimanfaatkan oleh masyarakat Indonesia untuk meningkatkan kesehatan (promotif), memulihkan kesehatan (rehabilitatif), pencegahan penyakit (preventif), dan penyembuhan (kuratif). Ramuan obat bahan alam dimiliki oleh setiap suku bangsa di Indonesia, dan secara turun-menurun dimanfaatkan dalam upaya penanggulangan masalah kesehatan. Di Indonesia terdapat 30.000 jenis tumbuhan dan lebih dari 1000 jenis telah diketahui dapat dimanfaatkan untuk pengobatan (Badan Pengawas Obat dan Makanan, 2004).

2.2 Deskripsi tanaman

2.2.1 Jambu mete (*Anacardium occidentale* L.)

Tumbuhan berupa pohon tinggi 8-12 m dan diameter 30-40 cm. Daun spiral bentuk bulat lonjong. Bunga putih sampai merah muda. Buah bengkok dengan lebar 6-7 cm. Gambar tanaman dan simplisia jambu mete dapat dilihat pada Gambar 2.1. Daun jambu mete digunakan sebagai lauk dan pengobatan penyakit kulit (Heyne, 1987). Jambu mete mengandung flavonoid, tanin, dan steroid/triterpenoid (Martihandini, N., 2008). Daun jambu mete dapat menurunkan kadar glukosa darah pada kelinci yang dibebani glukosa (Windono, T., 1987).

2.2.2 Pulai (*Alstonia scholaris* (L.) R.Br.)

Tumbuhan berupa pohon tinggi 20-45 m, diameter 40-60 cm, dan getah putih. Daun 4-8 dalam lingkaran, kuning bila kering. Bunga putih. Batang lunak dan ringan. Gambar tanaman dan simplisia pulai dapat dilihat pada Gambar 2.2. Kulit batang pulai digunakan dalam pengobatan demam, kencing manis, wasir, penyakit lambung, dan antelmintik (Heyne, 1987). Pulai mengandung alkaloid (Sastroamidjojo, S., 1997). Kulit pulai digunakan sebagai ramuan tradisional antidiabetes (Mandisiswoyo, R., 1975).

2.2.3 Tapak dara (*Catharanthus roseus* L. G. Don)

Tumbuhan berupa semak dengan tinggi 0,25-1 m. Getah putih, bunga merah muda atau putih, lebar 3-4 cm, panjang polong 2-2,5 cm, biji banyak, hitam. Daun bulat telur. Bunga berbentuk terompet. Gambar tanaman dan simplisia tapak dara dapat dilihat pada Gambar 2.3. Semua bagian tanaman digunakan dalam pengobatan tekanan darah tinggi, abortif, gangguan haid, malaria, diabetes, sembelit, dan kanker (Medicinal Herb, 1995). Tapak dara mengandung alkaloid, saponin dan flavonoid (Riset dan Teknologi Indonesia, 2002). Daun tapak dara digunakan sebagai ramuan tradisional antidiabetes (Mandisiswoyo, R., 1975).

2.2.4 Kaca piring (*Ervatamia divaricata* (L.) Burkill)

Tumbuhan berupa perdu tegak dengan banyak cabang, tinggi 0,5-3 m, batang bulat berkayu, mengandung getah seperti susu. Daun tunggal, tebal seperti kulit, letak berhadapan, 9 bertangkai pendek. Helaian daun bentuknya bulat telur memanjang atau jorong, ujung dan pangkal runcing, tepi rata, permukaan atas licin mengkilap, tulang daun menyirip, panjang 6-15 cm, lebar 2-4 cm, warnanya hijau. Tangkai bunga keluar dari ketiak daun, 1 atau sepasang, pendek dengan beberapa bunga. Bunga berwarna putih dengan bagian tengah berwarna kuning, diameter 5 cm, wangi. Buahnya buah kotak, bulat panjang, berbulu. Biji berdaging, berselaput, warnanya merah. Gambar tanaman dan simplisia kaca piring dapat dilihat pada Gambar 2.4. Daun kaca piring mengandung alkaloid dan saponin (Riset dan Teknologi Indonesia, 2002). Daun kaca piring dapat menurunkan kadar glukosa darah pada tikus yang diinduksi glukosa (Metrika, D., 2009).

2.2.5 Daun sembung (*Blumea balsamifera* (L.) DC)

Tumbuhan ini merupakan perdu yang bentuknya mudah berubah, tumbuh tegak, berbatang satu atau lebih, tinggi 2 sampai 4 m, berbau keras, bagian bawah batang sering tidak bercabang, bagian atas selalu memiliki cabang-cabang samping yang tumbuh ke luar, batang berbulu lebat, bulu batang halus, lunak, dan berwarna kelabu. Gambar tanaman dan simplisia dapat dilihat pada Gambar 2.5. Daun sembung digunakan dalam pengobatan penyakit beri-beri, kejang, masuk

angin, dan penguat lambung (Heyne, 1987). Daun sembung mengandung alkaloid, tanin, dan minyak atsiri (Riset dan Teknologi Indonesia, 2002). Daun sembung digunakan sebagai ramuan tradisional antidiabetes (Mandisiswoyo, R., 1975).

2.2.6 Oyong/Blustru (*Luffa cylindrical* (L.) M.J. Roemer)

Tumbuhan berupa semak merambat dengan panjang 5-15 m. Batang bulat, beruas-ruas, hijau. Daun tunggal, tersebar, bentuk jantung, ujung runcing, pangkal bertoreh, tepi bergerigi, panjang 7-25 cm, lebar 7,5-22,5 cm, pertulangan menyirip, permukaan berbulu, hijau. Bunga majemuk, tangkai silindris, panjang 5-10 cm, hijau muda, tangkai bunga jantan 10-15 cm, terdiri dari 4-20 kuntum, garis tengah 3-5 cm, kelopak berbagi 5, benang sari 5, kuning, bunga betina duduk di atas bakal buah, dasar mahkota berlekatan membentuk terompet, kuning. Buah bulat silindris, lunak, berwarna hijau. Bij bulat pipih, hitam. Gambar tanaman dan simplisia oyong dapat dilihat pada Gambar 2.6. Oyong digunakan sebagai obat sesak nafas dan untuk peluruh air susu ibu, peluruh dahak sedang daunnya untuk peluruh haid. Oyong mengandung saponin dan polifenol (Riset dan Teknologi Indonesia, 2002). Ekstrak biji oyong dapat menurunkan kadar glukosa darah pada mencit yang diinduksi aloksan (Adnyana, I., 2009).

2.2.7 Gadung (*Dioscorea hispida* Dennst.)

Tumbuhan berupa herba merambat dengan panjang \pm 10 m. Batang bulat, berkayu, permukaan licin, berduri, penampang 5-7 mm, membentuk umbi, hijau. Daun majemuk, menjari, anak daun tiga, tepi rata, ujung meruncing, pangkal tumpul, permukaan kasar, panjang 20-25 cm, lebar 7-11,5 cm, pertulangan melengkung, tangkai bulat, hijau. Bunga majemuk, bulir, tumbuh di ketiak daun, kelopak bentuk corong, daun kelopak lonjong, mahkota kuning, benang sari enam, kuning. Buah berdaging, diameter \pm 1 cm, coklat. Gambar umbi gadung dan simplisia dapat dilihat pada Gambar 2.7. Akar serabut, coklat muda. Umbi gadung digunakan sebagai obat nyeri haid dan obat rematik. Umbi gadung mengandung alkaloid, saponin, flavonoid dan tanin (Riset dan Teknologi Indonesia, 2002). Umbi gadung digunakan sebagai ramuan tradisional antidiabetes (Mandisiswoyo, R., 1975).

2.2.8 Kemangi (*Ocimum americanum* L.)

Tumbuhan berupa semak dengan panjang 0.5–1.5 m. Daun berwarna hijau, menyirip, dan berasa dingin. Bunga berwarna putih. Biji bulat kecil dan berwarna hitam. Akar tunggang berwarna coklat. Tanaman tumbuh tegak dengan batang berwarna hijau atau ungu. Daun berwarna hijau tua dengan panjang 1.7-6.4 cm dan lebar 1-3 cm. Bunga tersusun pada ujung batang utama dan cabang samping berwarna putih atau merah muda. Biji lonjong berwarna coklat gelap-hitam yang terdapat dalam kapsul. Bagian yang dapat dimakan dari tanaman ini adalah daun dan biji. Gambar tanaman dan simplisia kemangi dapat dilihat pada Gambar 2.8. Herba kemangi digunakan untuk mengatasi bau badan, bau keringat, bau mulut, badan lesu, menyembuhkan panas dalam dan sariawan. Daun kemangi mengandung saponin, flavonoid, tanin (Riset dan Teknologi Indonesia, 2002). Herba kemangi dapat menurunkan kadar glukosa darah pada mencit yang diinduksi aloksan (Anfaliah, Andreanus, dan Fidriany, 2007).

2.2.9 Bawang merah (*Allium cepa* L.)

Tumbuhan berupa herba semusim dengan tinggi 40-60 cm. Tidak berbatang, berumbi lapis, merah, berlubang, bentuk lurus, ujung runcing, panjang \pm 50 cm, lebar \pm 0,5 cm. Daun tunggal, memeluk umbi lapis. Bunga majemuk. Tangkai sari putih, kepala sari hijau, putik menancap pada dasar bunga, mahkota bentuk bulat telur, ujung runcing, tengahnya bergaris putih. Buah bulat berwarna hijau. Biji segi tiga. Akar serabut putih. Gambar umbi bawang merah dan simplisia dapat dilihat pada Gambar 2.9. Bawang merah digunakan sebagai obat penurun panas dan bumbu (Riset dan Teknologi Indonesia, 2002). Bawang merah mengandung flavanoid, glikosida, vitamin B1 dan vitamin C (*The European Agency for The Evaluation of Medicinal Products Veterinary Medicines Evaluation Unit*, 1999). Bawang merah digunakan secara empirik untuk diabetes (Widowati, Dzulkarnain, dan Sa'roni, 1997).

2.2.10 Kedelai (*Glycine max* Merr)

Tumbuhan berupa semak semusim dengan tinggi 20-60 cm. Batang bersegi, berkayu, berambut, bercabang, hijau keputih-putihan. Daun majemuk, menyirip

ganjil, bulat telur, ujung tumpul, tepi rata, pangkal membulat, panjang 2-5 cm, lebar 2-4 cm, pertulangan menyirip, hijau. Bunga majemuk, kelopak 5-7 mm, berambut, runcing, hijau, mahkota panjang 6-7 mm, berwarna ungu. Buah polong, bertangkai pendek, pipih, masih muda hijau setelah tua kuning kecoklatan. Biji bulat telur. Akar tunggang. Gambar tanaman dan simplisia dapat dilihat pada Gambar 2.10. Kedelai digunakan sebagai obat penurun tekanan darah tinggi. Kedelai mengandung saponin, flavonoid dan tanin (Riset dan Teknologi Indonesia, 2002). Kedelai dapat menurunkan kadar glukosa darah pada kelinci yang diinduksi aloksan (Khushk, I., 2010).

2.2.11 Mahoni (*Swietenia mahagoni* (L.) Jacq.)

Tumbuhan berupa pohon tahunan dengan tinggi 5-25 m. Batang berkayu, bulat, bercabang, putih kotor. Daun majemuk, menyirip genap, ujung dan pangkal runcing, tepi rata, pertulangan menyirip, masih muda merah setelah tua hijau. Bunga majemuk berwarna coklat muda, benang sari melekat pada mahkota, kepala sari putih, kuning kecoklatan. Buah kotak, bulat telur, berlekuk lima, berwarna coklat. Biji pipih, hitam atau coklat. Akar tunggang, coklat. Gambar tanaman dan simplisia dapat dilihat pada Gambar 2.11. Biji mahoni digunakan sebagai obat tekanan darah tinggi, obat encok, obat eksim dan obat masuk angin. Biji mahoni mengandung saponin dan flavonoid (Riset dan Teknologi Indonesia, 2002). Biji mahoni digunakan sebagai ramuan tradisional antidiabetes (Mandisiswoyo, R., 1975).

2.2.12 Daun sendok (*Plantago major* L.)

Tumbuhan berupa herba semusim dengan tinggi 6-50 cm. Batang pendek, bulat, berwarna coklat. Daun tunggal, ujung tumpul, pangkal meruncing, tepi bergerigi, permukaan licin, tangkai 1-25 cm, pertulangan melengkung, hijau muda. Bunga majemuk berwarna putih. Buah kotak, berisi 2-4 biji, hijau. Biji kecil, masih muda coklat setelah tua hitam. Akar serabut, putih kotor. Gambar tanaman dan simplisia daun sendok dapat dilihat pada Gambar 2.12. Daun sendok digunakan sebagai peluruh air seni, obat penurun panas dan penambah nafsu makan. Daun sendok mengandung saponin, flavonoid dan polifenol (Riset dan

Teknologi Indonesia, 2002). Daun sendok digunakan sebagai ramuan tradisional antidiabetes (Mandisiswoyo, R., 1975).

2.2.13 Jinten hitam (*Nigella sativa* L.)

Tumbuhan berupa semak semusim dengan tinggi \pm 30 cm. Batang tegak, lunak, hijau kemerahan. Daun tunggal, lonjong, ujung dan pangkal runcing, pertulangan menyirip, hijau. Bunga majemuk, bentuk karang, benang sari banyak, tangkai sari dan kepala sari kuning, mahkota bentuk corong, putih kekuningan. Buah polong, bulat panjang, coklat kehitaman. Biji kecil, bulat, hitam. Akar tunggang, coklat. Gambar jinten hitam dapat dilihat pada Gambar 2.13. Jinten hitam digunakan sebagai obat cacing. Biji dan daun *Nigella sativa* mengandung saponin dan polifenol (Riset dan Teknologi Indonesia, 2002). Jinten hitam dapat menurunkan kadar glukosa darah pada tikus yang diinduksi streptozotocin (Khanam dan Fauzia, 1991).

2.2.14 Ciplukan (*Physalis angulata* L.)

Tumbuhan berupa semak semusim dengan tinggi \pm 1 m. Batang berbulu, beruas, hijau. Daun tunggal, bulat telur, ujung runcing, tepi rata, permukaan berbulu, pertulangan menyirip, hijau. Bunga tunggal, runcing, hijau, benang sari lima, tangkai sari kuning, kepala sari biru, putik satu putih, mahkota berwarna kuning. Buah bulat, diameter 14-18 mm, kelopak buah hijau, kuning. Biji bulat, pipih, kecil, kuning. Akar tunggang, putih. Gambar tanaman dan simplisia ciplukan dapat dilihat pada Gambar 2.14. Daun ciplukan digunakan sebagai obat gusi berdarah, dan bisul. Daun dan akar ciplukan mengandung saponin dan flavonoid, di samping itu daunnya juga mengandung polifenol (Riset dan Teknologi Indonesia, 2002). Daun ciplukan dapat menurunkan kadar glukosa darah pada marmut yang dibebani glukosa (Widowati, Dzulkarnain, dan Sa'roni, 1997).

2.2.15 Jati (*Tectona grandis* L.)

Tumbuhan berupa pohon dengan tinggi \pm 25 m. Batang tegak, berkayu, bulat, permukaan kasar, coklat muda. Daun tunggal, lonjong, tepi rata, ujung

runcing, pangkal meruncing, pertulangan menyirip, kasar, hijau pucat. Bunga majemuk, berbulu coklat, kelopak bentuk lonceng, coklat, benang sari panjang 0,5-1 cm, putih, putik panjang \pm 0,5 cm, hijau pucat, mahkota berbentuk bintang, permukaan halus, putih. Buah kotak, lonjong, masih muda hijau setelah tua coklat. Biji bulat, berbulu, diameter \pm 1 cm, muda berwarna hijau sedangkan tua kuning muda. Akar tunggang, putih kotor. Gambar tanaman dan simplisia jati dapat dilihat pada Gambar 2.15. Daun jati digunakan sebagai obat radang tenggorakan dan akarnya untuk obat nyeri perut. Daun, akar, bunga dan buah jati mengandung saponin dan polifenol (Riset dan Teknologi Indonesia, 2002). Ekstrak etanol daun jati dapat menurunkan kadar glukosa darah pada tikus yang diinduksi aloksan (Swandari, Gana, dan Yulinah, 2004).

2.3 Simplisia

Simplisia adalah bahan alamiah yang dipergunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun juga dan kecuali dinyatakan lain berupa bahan yang telah dikeringkan. Simplisia berdasarkan sumbernya dapat dibedakan menjadi tiga yaitu simplisia nabati, simplisia hewani, 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 (Departemen Kesehatan, 1995).

2.4 Ekstraksi

Ekstraksi adalah kegiatan penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut dengan pelarut cair. Cairan pelarut dalam proses pembuatan ekstrak adalah pelarut yang baik (optimal) untuk senyawa kandungan yang berkhasiat atau yang aktif, dengan demikian senyawa tersebut dapat dipisahkan dari bahan dan dari senyawa kandungan lainnya, serta ekstrak hanya mengandung sebagian besar senyawa kandungan yang diinginkan.

Terdapat beberapa metode ekstraksi antara lain cara dingin yaitu maserasi dan perkolasi serta cara panas yaitu refluks, sokletasi, digesti, infus, dekok.

2.4.1 Cara Dingin

2.4.1.1 Maserasi

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

2.4.1.2. Perkolasi

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

2.4.2 Cara Panas

2.4.2.1 Refluks

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

2.4.2.2 Soxhlet

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

2.4.2.3 Digesti

Digesti adalah maserasi kinetik (dengan pengadukan kontinu) pada temperatur yang lebih tinggi dari temperatur ruangan (kamar), yaitu secara umum dilakukan pada temperatur 40-50⁰C.

2.4.2.4 Infus

Infus adalah ekstraksi dengan pelarut air pada temperatur penangas air (bejana infus tercelup dalam penangas air mendidih, temperatur terukur (96-98⁰C) selama waktu tertentu (15-20 menit).

2.4.2.5 Dekok

Dekok adalah infus pada waktu yang lebih lama dan temperatur sampai titik didih air (Departemen Kesehatan, 2000).

2.5 Penapisan fitokimia

Penapisan kimia adalah pemeriksaan kandungan kimia secara kualitatif untuk mengetahui golongan senyawa yang terkandung dalam suatu tumbuhan. Pemeriksaan diarahkan pada senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, glikosida, terpen, tanin dan saponin.

2.5.1 Alkaloid

Alkaloid adalah senyawa bersifat basa yang mengandung satu atau lebih atom nitrogen biasanya dalam gabungan berbentuk siklik. Alkaloid banyak yang mempunyai kegiatan fisiologis yang menonjol sehingga secara luas digunakan dalam bidang pengobatan. Alkaloid umumnya tanpa warna, pahit, sering kali bersifat optis aktif, banyak berbentuk kristal tapi hanya sedikit yang berbentuk cairan (Harborne, 1987). Beberapa alkaloid terdapat dalam bentuk glikosida (solanin), asam amida (piperin), ester (kokain, atropin), garam kuarternar, dan oksida amin tersier. Berdasarkan asal asam amino pembentuknya, alkaloid diklasifikasikan menjadi turunan lisin (conium, piper), turunan prolin (higrin, tropin, eogonin), turunan histidin (pilocarpin), turunan fenilalanin, turunan triptofan (striknos, yohimbe) (Sirait, 2007).

2.5.2 Senyawa fenol dan flavonoid

Senyawa fenol merupakan senyawa yang memiliki cincin aromatik dan mengandung satu atau dua gugus hidroksil. Senyawa fenol cenderung mudah larut dalam air karena umumnya berikatan dengan gula sebagai glikosida dan biasanya terdapat dalam vakuola sel. Aktivitas senyawa fenolik tumbuhan banyak dan sangat beragam, misal lignin untuk membangun sel, antosianin sebagai pigmen bunga sedangkan senyawa yang termasuk golongan lain masih merupakan dugaan belaka.

Semua flavonoid menurut strukturnya merupakan turunan senyawa induk flavon. Flavonoid dibagi menjadi beberapa golongan yaitu antosianin, proantosianidin, flavonol, flavon, glikoflavon, biflavonil, khalkon dan auron, flavanon, dan isoflavon. Flavonoid mengandung sistem aromatik yang terkonjugasi dan karena itu menunjukkan pita serapan kuat pada daerah spektrum UV-Vis. Flavonoid umumnya terikat pada gula sebagai glikosida (Harborne, 1987).

2.5.3 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 C_5 ini. Terpenoid terdiri atas beberapa macam senyawa seperti monoterpen dan seskuiterpen yang mudah menguap, diterpen yang sukar menguap dan yang tidak menguap, triterpen, dan sterol, serta pigmen karotenoid.

Secara umum senyawa ini larut dalam lemak dan terdapat dalam sitoplasma sel tumbuhan. Biasanya senyawa ini diekstraksi dengan menggunakan eter dan kloroform. Steroid merupakan senyawa triterpen yang terdapat dalam bentuk glikosida. Peran terpenoid bagi tumbuhan bermacam-macam. Terpenoid absisin dan giberelin yang mempunyai kerangka dasar diterpenoid sebagai pengatur tumbuh. Karotenoid berfungsi sebagai pigmen pembantu pada fotosintesis (Harborne, 1987).

2.5.4 Tanin

Tanin merupakan senyawa yang terdapat dalam tumbuhan dan tersebut luas, memiliki gugus fenol, memiliki rasa sepat dan mempunyai kemampuan menyamak kulit, yang mampu mengubah kulit hewan yang mentah menjadi kulit siap pakai karena kemampuannya menyambung silang protein. Tanin dapat bereaksi dengan protein membentuk kopolimer mantap yang tak larut dalam air.

Tanin secara kimia dikelompokkan menjadi dua golongan yaitu tanin kondensasi dan tanin terhidrolisis. Tanin terkondensasi atau flavolan secara biosntesis 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).

2.5.5 Glikosida

Glikosida adalah suatu senyawa yang bila dihidrolisis akan menjadi gula (glikon) dan senyawa lain (aglikon atau genin). Glikosida yang gulanya berupa glukosa disebut glukosida. Glikosida yang berkhasiat obat dapat digolongkan menjadi kardioaktif (glikosida jantung), antrakuinon, saponin, sianofor, tiosianat, flavonol, alkohol, aldehyd, lakton, fenol, dan lainnya (Sirait, 2007).

2.5.6 Saponin

Saponin mempunyai sifat aktif permukaan dengan sifat seperti sabun dan dapat dideteksi karena kemampuannya membentuk busa dan menghidrolisis sel darah (Sirait, 2007). Jika dalam tumbuhan terdapat banyak saponin, sukar untuk memekatkan ekstrak alkohol-air dengan baik walaupun digunakan penguap putar. Oleh karena itu, pengujian saponin yang sederhana adalah mengocok ekstrak alkohol-air dari tumbuhan dalam tabung reaksi dan diperhatikan terbentuknya busa tahan lama pada permukaan cairan (Harborne, 1987).

2.6 Diabetes melitus

Diabetes melitus (DM) didefinisikan sebagai suatu penyakit atau gangguan metabolisme kronis dengan multi etiologi yang ditandai dengan tingginya kadar gula darah disertai dengan gangguan metabolisme karbohidrat, lipid dan protein sebagai akibat insufisiensi fungsi insulin. Insufisiensi fungsi insulin dapat disebabkan oleh gangguan atau defisiensi produksi insulin oleh sel-sel β -pulau langerhans kelenjar pankreas, atau disebabkan oleh kurang responsifnya sel-sel tubuh terhadap insulin (WHO Department of Noncommunicable Disease Surveillance Geneva, 1999).

2.6.1 Klasifikasi

American Diabetes Association (ADA) memperkenalkan empat klasifikasi klinis gangguan toleransi glukosa yang telah disahkan oleh *World Health Organization* (WHO). Empat klasifikasi klinis gangguan toleransi glukosa antara lain: diabetes melitus tipe 1 dan 2, diabetes gestasional (diabetes kehamilan), dan tipe khusus lain. Diabetes tipe 1 dikenal sebagai tipe *juvenile-onset* dan tipe dependen insulin. Insiden diabetes tipe 1 sebanyak 30.000 kasus baru setiap tahunnya dan dapat dibagi dalam dua sub tipe yaitu autoimun, akibat disfungsi autoimun dengan kerusakan sel-sel beta dan idiopatik, tanpa bukti adanya autoimun dan tidak diketahui sumbernya. Diabetes tipe 2 dikenal sebagai tipe dewasa atau tipe onset maturitas dan tipe nondependen insulin. Insiden diabetes tipe 2 sebesar 650.000 kasus baru tiap tahunnya. Obesitas sering dikaitkan dengan penyakit ini.

Diabetes gestasional (GDM) dikenali pertama kali selama kehamilan dan mempengaruhi 4% dari semua kehamilan. Faktor resiko terjadinya GDM adalah usia tua, etnik, obesitas, multiparitas, riwayat keluarga, dan riwayat diabetes gestasional terdahulu. Karena terjadi peningkatan sekresi berbagai hormon yang mempunyai efek metabolik terhadap toleransi glukosa, maka kehamilan adalah suatu keadaan diabetogenik. Tipe khusus lain adalah kelainan genetik dalam sel beta seperti yang dikenali pada MODY, kelainan genetik pada kerja insulin, menyebabkan sindrom resistensi insulin berat, penyakit pada eksokrin pankreas menyebabkan pankreatitis kronik, penyakit endokrin seperti sindrom Cushing dan

akromegali, obat-obat yang bersifat toksik terhadap sel-sel beta, dan infeksi (Schteingart, 2003).

2.6.2 Pengobatan

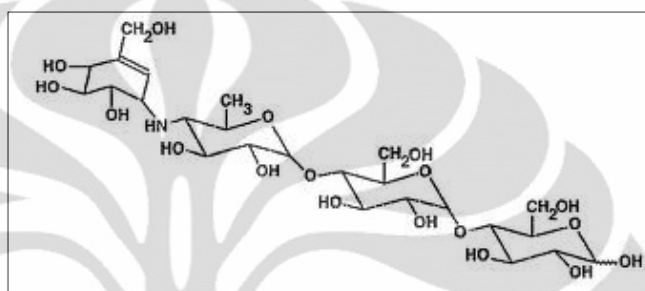
Berdasarkan mekanisme kerjanya, obat-obat hipoglikemik oral dapat dibagi menjadi 3 golongan, yaitu:

- a. Obat-obat yang meningkatkan sekresi insulin, meliputi obat hipoglikemik oral golongan sulfonilurea dan glinida (meglitinida dan turunan fenilalanin).
- b. Sensitiser insulin (obat-obat yang dapat meningkatkan sensitifitas sel terhadap insulin), meliputi obat-obat hipoglikemik golongan biguanida dan tiazolidindion, yang dapat membantu tubuh untuk memanfaatkan insulin secara lebih efektif.
- c. Inhibitor katabolisme karbohidrat, antara lain inhibitor α -glukosidase yang bekerja menghambat absorpsi glukosa dan umum digunakan untuk mengendalikan hiperglikemia post-prandial. Disebut juga *starch-blocker* (Departemen Kesehatan RI, 2005).

2.6.3 Golongan Inhibitor α -glukosidase

Senyawa-senyawa inhibitor α -glukosidase bekerja menghambat enzim α -glukosidase yang terdapat pada dinding usus halus. Enzim-enzim α -glukosidase (maltase, isomaltase, glukomaltase dan sukrase) berfungsi untuk menghidrolisis oligosakarida pada dinding usus halus. Inhibisi kerja enzim ini secara efektif dapat mengurangi pencernaan karbohidrat kompleks dan absorpsinya, sehingga dapat mengurangi peningkatan kadar glukosa post prandial pada penderita diabetes. Senyawa inhibitor α -glukosidase juga menghambat enzim α -amilase pankreas yang bekerja menghidrolisis polisakarida di dalam lumen usus halus. Efek samping obat ini adalah perut kurang enak, lebih banyak flatus, dan kadang-kadang diare, yang akan berkurang setelah pengobatan berlangsung lebih lama (Departemen Kesehatan RI, 2005). Beberapa penghambatan α -glukosidase seperti akarbose, voglibose, dan miglitol telah digunakan secara klinik (Shoei, Hsiaou, dan Chien, 2008).

Akarbose adalah suatu oligosakarida yang diperoleh dari proses fermentasi mikroorganisme, *Actinoplanes utahensis*, dengan nama kimia O-4,6-dideoksil-4[[[(1S,4R,5S,6S)-4,5,6-trihidroksi-3-(hidroksimetil)-2-sikloheksena-1-il]amino]- α -D-glukopiranosil-1(1 \rightarrow 4)-O- α -D-glukopiranosil-(1 \rightarrow 4)-D-glukosa. Akarbose merupakan serbuk berwarna putih dengan rumus empirik $C_{25}H_{43}NO_{18}$ (Sugiwati, Setiasih & Afifah, 2009). Struktur kimia akarbose dapat dilihat pada gambar 2.16.

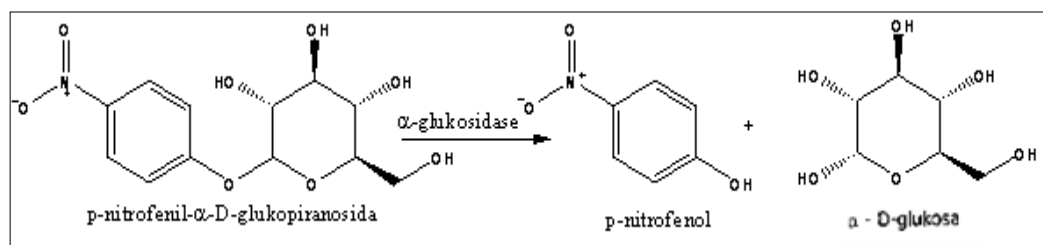


[Goldsmith, Fletterick, dan Withers, 1987]

Gambar 2.16. Struktur Kimia Akarbose

2.7 Uji inhibisi α -glukosidase

Reaksi α -glukosidase di dalam tubuh dengan substrat karbohidrat yang dipecah menjadi disakarida dan oligosakarida, proses ini lebih khusus lagi terjadi pada hidrolisis α -glukopiranosida, menghasilkan α -D-glukosa dari gula non reduksi (Dewi *et al.*, 2007). Pada pengujian *in vitro*, enzim α -glukosidase akan menghidrolisis substrat *p*-nitrofenil- α -D-glukopiranosida menjadi *p*-nitrofenol (berwarna kuning) dan glukosa dengan reaksi yang dapat dilihat pada gambar 2.17 (Sugiwati, Setiasi & Afifah, 2009).



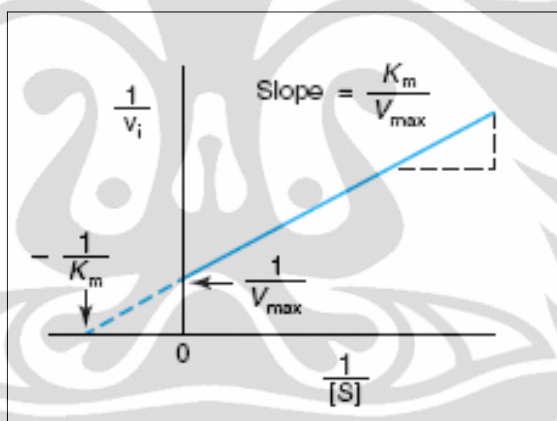
[Sumber: Sugiwati, Setiasi & Afifah, 2009]

Gambar 2.17. Persamaan Reaksi Enzimatik α -glukosidase dan *p*-nitrofenil- α -D-glukopiranosida.

Aktivitas enzim diukur berdasarkan hasil absorbansi *p*-nitrofenol dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 400 nm. Apabila tumbuhan memiliki kemampuan menghambat enzim α -glukosidase maka *p*-nitrofenol yang dihasilkan akan berkurang (Sugiwati, Setiasi, dan Afifah, 2009; Kikkoman).

2.8 Mekanisme kerja obat sebagai inhibitor reaksi enzim

Inhibitor enzim adalah molekul yang dapat berinteraksi dengan enzim dengan berbagai cara untuk mencegah kerja enzim tersebut pada keadaan normal. Dua tipe inhibisi utama yang sering ditemukan adalah kompetitif dan nonkompetitif (Ophardt, 2003). Analisis kinetik membedakan inhibisi kompetitif dari inhibisi nonkompetitif dapat dilihat dari plot *Lineweaver-Burk* pada gambar 2.18 (Rodwell dan Kennelly, 2003).



[Sumber: Rodwell dan Kennelly, 2003]

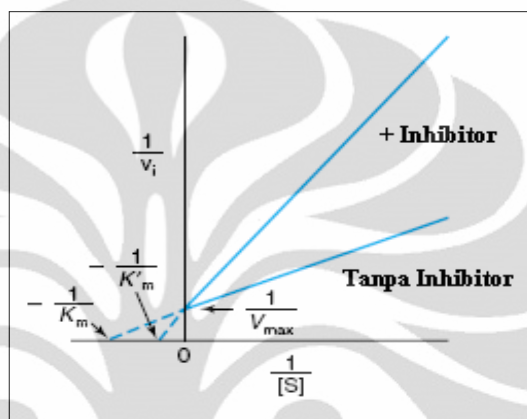
Gambar 2.18. Plot *Lineweaver-Burk*

Keterangan: K_m : konstanta *Michaelis-Menten* (konsentrasi substrat yang menghasilkan separuh kecepatan maksimal)
 V_{max} : kecepatan maksimal
 V_1 : kecepatan reaksi
 S : Konsentrasi substrat

2.8.1 Inhibisi kompetitif

Tipe inhibisi ini terjadi saat inhibitor berikatan secara *reversible* pada sisi enzim dimana seharusnya substrat berada, sehingga berkompetisi dengan substrat untuk menduduki tempat tersebut (Champe, Harvey, dan Ferrier, 2005). Pada

inhibisi kompetitif, garis-garis yang digambarkan melalui sejumlah titik eksperimental bertemu pada sumbu y. Pada konsentrasi S yang tinggi tak terhingga ($1/[S] = 0$), v_1 akan sama seperti keadaan tanpa inhibitor. Titik potong pada sumbu x (yang berhubungan dengan K_m) akan bervariasi menurut konsentrasi inhibitor dan menjadi lebih besar dengan adanya inhibitor (Rodwell dan Kennelly, 2003).

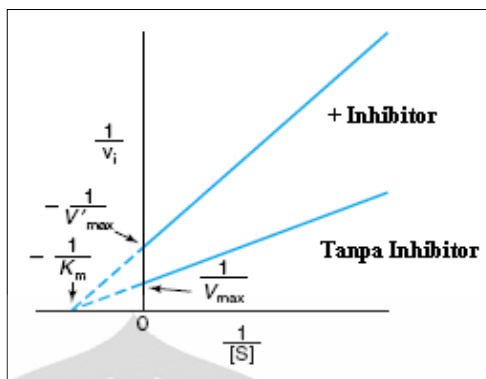


[Sumber: Rodwell dan Kennelly, 2003]

Gambar 2.19. Plot *Lineweaver-Burk* Inhibisi Kompetitif

2.8.2 Inhibisi non kompetitif

Tipe inhibisi ini terjadi saat inhibitor dan substrat berikatan pada sisi enzim yang berbeda. Inhibitor non kompetitif dapat berikatan dengan enzim bebas atau enzim yang telah berikatan dengan substrat (Champe, Harvey, dan Ferrier, 2005). Inhibitor nonkompetitif menurunkan kecepatan reaksi maksimal yang diperoleh pada pemberian sejumlah enzim (V_{maks} yang lebih rendah, tetapi tidak mempengaruhi nilai K_m (Rodwell dan Kennelly, 2003).



[Sumber: Rodwell dan Kennelly, 2003]

Gambar 2.20. Plot *Lineweaver-Burk* Inhibisi Nonkompetitif

2.9 Spektrofotometer uv-vis

Radiasi elektromagnetik seperti sinar ultraviolet dan sinar tampak merupakan energi yang merambat dalam bentuk gelombang. Dimensi panjang gelombang adalah panjang (L) yang dapat dinyatakan dalam centimeter (cm) atau nanometer (nm). Frekuensi merupakan banyaknya panjang gelombang yang melewati suatu titik tertentu dalam satuan waktu. Dimensi frekuensi adalah super waktu (T^{-1}) dan satuan yang digunakan biasanya detik⁻¹ atau putaran perdetik (Hertz). Frekuensi biasanya disimbolkan dengan huruf latin *nu* (ν). Bilangan gelombang merupakan seper panjang gelombang ($1/\lambda$). Jika panjang gelombang dinyatakan dengan cm, maka bilangan gelombang dinyatakan dengan cm^{-1} .

Hubungan antara energi yang dimiliki radiasi elektromagnetik, frekuensi, dan panjang gelombang ditunjukkan sebagai berikut:

$$E = \frac{h c}{\lambda}$$

Keterangan: E = Energi radiasi cahaya
 h = Tetapan Planck = $6,626 \times 10^{-34}$ joule
 c = Kecepatan cahaya = $2,998 \times 10^{10}$ cms⁻¹
 λ = Panjang gelombang

Spektrofotometer UV-Vis dapat digunakan baik untuk informasi kualitatif maupun analisa kuantitatif. Dalam aspek kuantitatif, suatu berkas radiasi dikenakan pada cuplikan (larutan sampel) dan intensitas sinar radiasi yang

diteruskan diukur besarnya. Radiasi yang diserap oleh cuplikan ditentukan dengan membandingkan intensitas sinar yang diteruskan dengan intensitas sinar yang diserap. Intensitas atau kekuatan radiasi cahaya sebanding dengan jumlah foton yang melalui satuan luas penampang perdetik. Serapan dapat terjadi jika radiasi yang mengenai cuplikan memiliki energi yang sama dengan energi yang dibutuhkan untuk menyebabkan terjadinya perubahan tenaga.

Panjang gelombang yang digunakan untuk analisis kuantitatif adalah panjang gelombang yang mempunyai absorbansi maksimal. Alasan mengapa harus menggunakan panjang gelombang maksimal yaitu pada panjang gelombang maksimum kepekaannya juga maksimum dan bentuk kurva absorbansi cenderung datar.

Spektrofotometer yang sesuai untuk pengukuran di daerah spektrum ultraviolet dan sinar tampak terdiri atas suatu sistem optik dengan kemampuan menghasilkan sinar monokromatis dalam jangkauan panjang gelombang 200-800 nm. Komponen-komponen spektrofotometer UV-Vis meliputi sumber-sumber sinar, monokromator, dan detektor (Gandjar dan Rohman, 2007).

BAB 3

METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan tempat

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

3.2 Bahan

3.2.1 Bahan uji

Simplisia yang digunakan dalam penelitian ini diambil dari Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik. Simplisia tersebut telah diidentifikasi oleh Pusat Penelitian Biologi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia. Daftar tanaman uji dapat dilihat pada Tabel 3.1.

Tabel 3.1 Daftar Tanaman Uji

No.	Tanaman	Famili	Bagian yang digunakan
1	Jambu mete (<i>Anacardium occidentale</i> L.)	Anacardiaceae	Daun
2	Pulai (<i>Alstonia scholaris</i> (L.) R.Br.)	Apocynaceae	kulit batang
3	Tapak dara (<i>Catharanthus roseus</i> L. G. Don)	Apocynaceae	Daun
4	Kaca piring (<i>Ervatamia divaricata</i> (L.) Burkill)	Apocynaceae	Daun
5	Daun sembung (<i>Blumea balsamifera</i> (L.) DC)	Asteraceae	Daun
6	Oyong/Blustru (<i>Luffa cylindrical</i> (L.) M.J. Roemer)	Cucurbitaceae	Biji
7	Gadung (<i>Dioscorea hispida</i> Dennst.)	Dioscoreaceae	Umbi
8	Kemangi (<i>Ocimum americanum</i> L.)	Lamiaceae	Herba
9	Bawang merah (<i>Allium cepa</i> L.)	Liliaceae	umbi lapis
10	Kedelai (<i>Glycine max</i> Merr.)	Fabaceae	Biji
11	Mahoni (<i>Swietenia mahagoni</i> (L.) Jacq.)	Meliaceae	Biji
12	Daun sendok (<i>Plantago major</i> L.)	Plantaginaceae	Daun
13	Jinten hitam (<i>Nigella sativa</i> L.)	Ranunculaceae	Biji
14	Ciplukan (<i>Physalis angulata</i> L.)	Solanaceae	Daun
15	Jati (<i>Tectona grandis</i> L.)	Verbenaceae	Daun

3.2.2 Bahan kimia

Enzim α -glukosidase dari *Saccharomyces cerevisiae* (Sigma-Aldrich, USA), paranitrofenil α -D-glukopiranosida (Sigma-Aldrich, Switzerland), akarbose, *bovine serum albumin* (Merck), dimetil sulfoksida (Merck, Jerman), kalium dihidrogen fosfat (Merck, Jerman), etanol (teknis), metanol (Merck, Jerman), natrium karbonat (Merck, Jerman), asam klorida (Merck, Jerman), gelatin (Merck, Jerman), iodium, kalium iodida, bismut nitrat (Merck, Jerman), asam nitrat (Merck, Jerman), raksa (II) klorida, α -naftol (Merck, Jerman), besi (III) klorida, serbuk seng (Merck, Jerman), serbuk magnesium (Merck, Jerman), aseton (Merck, Jerman), asam asetat anhidrat (Univar, USA), natrium hidroksida (Mallinckradt Chemicals, USA), asam sulfat (Merck, Jerman).

3.3 Alat

Spektrofotometer UV-Vis (Schimadzu UV-265), *shakingbath incubator* (Lab-Line), lemari pendingin (Panasonic), oven vakum (Hotpack vacuum oven), penguap putar vakum (Janke & Kunkel IKA, Jerman), timbangan analitik (Acculab), pH meter (Eutech 510), *Vortex Mixer* (VM-2000), kuvet kuarsa (Merck, Jerman), alat refluks, penangas air, pipet mikro (Eppendorf dan Socorex), tabung reaksi dan alat gelas lainnya.

3.4 Cara kerja

3.4.1 Penyiapan simplisia

Tanaman yang digunakan diambil dari kebun Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik Cimanggu, Bogor dan telah diidentifikasi oleh Pusat Penelitian Biologi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia. Tanaman yang telah dikumpulkan disortasi basah dan dilakukan pencucian dengan air mengalir. Setelah tahap pencucian, dilakukan perajangan dan pengeringan di dalam lemari pengering. Selanjutnya bagian tanaman yang telah dikeringkan dihaluskan menggunakan mesin penggiling hingga menjadi serbuk.

3.4.2 Ekstraksi

Masing-masing 20 gram serbuk simplisia di ekstraksi menggunakan pelarut etanol 80% dengan cara di refluks selama 1 jam, dilakukan 3 kali. Ekstrak yang didapat kemudian diuapkan pelarutnya menggunakan cawan penguap di penangas air pada suhu tidak lebih dari 55° C hingga menjadi ekstrak kental.

3.4.3 Identifikasi golongan senyawa kimia

3.4.3.1 Identifikasi alkaloid (Departemen Kesehatan, 1995)

Beberapa mg ekstrak ditambah 1 ml HCl 2N dan 9 ml air suling, dipanaskan di penangas air selama 2 menit, Larutan didinginkan dan disaring. Filtrat digunakan sebagai larutan percobaan selanjutnya.

- a. Larutan percobaan sebanyak 1 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 2 tetes pereaksi Bouchardart, terbentuk endapan coklat sampai dengan hitam (positif alkaloid).
- b. Larutan percobaan sebanyak 1 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 2 tetes pereaksi Mayer, terbentuk endapan menggumpal putih atau kuning yang larut dalam metanol (positif alkaloid).
- c. Larutan percobaan sebanyak 1 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 2 tetes pereaksi Dragendorf, terbentuk endapan jingga coklat (positif alkaloid)

3.4.3.2 Identifikasi glikosida (Departemen Kesehatan, 1995)

Beberapa mg ekstrak ditambahkan 15 ml HCl 10%. Larutan dipanaskan hingga mendidih, didinginkan kemudian disaring. Filtrat dicuci dengan 10 ml eter sebanyak 3 kali. Filtrat dikumpulkan dan diuapkan. Filtrat ditambahkan natrium sulfat anhidrat, disaring dan diuapkan. Hasil penguapan ditambahkan 2 ml metanol dan digunakan sebagai larutan percobaan.

- a. Larutan percobaan sebanyak 1 ml diuapkan hingga kering. Sisa pengeringan ditambahkan 10 tetes asam asetat anhidrat P dan 5 tetes asam sulfat P. Hasil positif terbentuknya warna biru atau hijau.
- b. Larutan percobaan sebanyak 1 ml diuapkan hingga kering. Sisa pengeringan dilarutkan dengan 2 ml air suling dan 5 tetes Molisch LP. Larutan ditambahkan

dengan hati-hati 2 ml asam sulfat P. Hasil positif terbentuknya cincin berwarna ungu pada batas cairan.

3.4.3.3 Identifikasi flavonoid (Departemen Kesehatan, 1995)

Beberapa mg ekstrak ditambah 5 ml etil asetat hingga ekstrak larut.

- a. Larutan percobaan sebanyak 1 ml diuapkan. Hasil penguapan ditambahkan 2 ml etanol 95% dan 0,5 gram serbuk seng. Larutan ditambahkan 2 ml HCl 2N dan didiamkan 1 menit kemudian ditambahkan 10 tetes HCl pekat. Larutan dikocok perlahan dan didiamkan 2-5 menit. Warna merah intensif menunjukkan positif flavonoid.
- b. Larutan percobaan sebanyak 1 ml diuapkan. Hasil penguapan ditambahkan 1 ml etanol 95% dan 0,1 gram serbuk magnesium. Larutan ditambahkan 10 tetes HCl pekat. Larutan dikocok perlahan. Warna merah jingga hingga merah ungu menunjukkan positif flavonoid atau kuning jingga menunjukkan positif flavon, kalkon, auron.
- c. Larutan percobaan sebanyak 1 ml diuapkan. Hasil penguapan ditambahkan aseton. Larutan ditambahkan sedikit serbuk asam borat dan asam oksalat. Larutan dipanaskan hati-hati kemudian ditambahkan 10 ml eter. Amati dengan sinar ultraviolet 366 nm. Larutan berfluoresensi kuning intensif menunjukkan positif flavonoid.

3.4.3.4 Identifikasi terpen (Farnsworth, 1966)

Beberapa mg ekstrak ditambah 5 ml larutan eter. Residu ditambah asam asetat anhidrat dan asam sulfat pekat (2:1). Warna merah-hijau atau violet-biru menunjukkan positif terpen.

3.4.3.5 Identifikasi tanin (Farnsworth, 1966; Trease & Evans, 1978)

Beberapa mg ekstrak ditambah 15 ml air panas. Larutan dipanaskan hingga mendidih selama 5 menit dan disaring

- a. Filtrat ditambah beberapa tetes FeCl_3 1 % menghasilkan warna hijau violet.
- b. Filtrat sebanyak 5 ml ditambahkan gelatin 10% membentuk endapan putih.

c. Filtrat sebanyak 5 ml ditambahkan NaCl-gelatin (larutan gelatin 1% dalam larutan NaCl 10%) membentuk endapan putih.

3.4.3.6 Identifikasi saponin (Departemen Kesehatan, 1995 dan Farnsworth, 1966)

Beberapa mg ekstrak ditambah 10 ml air panas, didinginkan dan dikocok kuat selama 10 detik. Larutan didiamkan selama 10 menit. Buih terbentuk setinggi 1 hingga 10 cm. Pada penambahan 1 tetes HCl 2N buih tidak hilang.

3.4.3.7 Identifikasi antrakuinon (Departemen Kesehatan, 1995 dan Farnsworth, 1966)

Beberapa mg ekstrak dilarutkan dengan 5 ml asam sulfat 2 N. Larutan dipanaskan sebentar kemudian dinginkan. Larutan ditambahkan 10 ml benzen P, dikocok, dan didiamkan. Lapisan benzen dipisahkan, disaring. Filtrat berwarna kuning menunjukkan adanya antrakuinon. Kocok lapisan benzen dengan 1 ml sampai 2 ml natrium hidroksida 2 N, didiamkan, lapisan air berwarna merah intensif dan lapisan benzen tidak berwarna.

3.4.4 Penyiapan bahan uji

3.4.4.1 Penyiapan larutan enzim

Larutan induk enzim dibuat dengan melarutkan 100 unit enzim dilarutkan dalam 100 ml dapar fosfat pH 6,8 yang mengandung 200 mg bovine serum albumin. Larutan diencerkan dengan dapar fosfat pH 6,8 hingga didapatkan konsentrasi enzim 0,3 U/ml; 0,15 U/ml; 0,075 U/ml; dan 0,0375 U/ml.

3.4.4.2 Penyiapan larutan dapar fosfat

Dapar fosfat pH 6,8. Campur 50 ml KH_2PO_4 0,2 M dengan 22,4 ml NaOH 0,2 N encerkan dengan air bebas CO_2 hingga 200 ml.

3.4.4.3 Penyiapan larutan natrium karbonat 200 mM

21,2 g Natrium Karbonat dilarutkan dalam 1000 ml aquades.

3.4.4.4 Penyiapan larutan substrat

Larutan substrat dibuat dengan melarutkan 120,5 mg paranitrofenil α -D-glukopiranosida dalam 10 ml dapar fosfat pH 6,8 hingga diperoleh konsentrasi substrat 20 mM. Larutan substrat 20 mM tersebut selanjutnya diencerkan menjadi 10 mM; 5 mM; 2,5 mM; dan 1,25 mM.

3.4.4.5 Penyiapan larutan standar (Akarbose)

Akarbose ditimbang sebanyak 100 mg dan dilarutkan dengan dimetil sulfoksida (DMSO) hingga larut, kemudian ditambahkan larutan dapar fosfat hingga konsentrasi 1%. Larutan akarbose 1% di pipet 1 ml dan ditambahkan dengan 1 ml dapar fosfat hingga diperoleh konsentrasi ekstrak 0,5 % demikian selanjutnya hingga diperoleh konsentrasi ekstrak 0,25 % dan 0,125 %.

3.4.4.6 Penyiapan Larutan Sampel

Ekstrak kental ditimbang sebanyak 100 mg dan dilarutkan dengan dimetil sulfoksida (DMSO) hingga larut, kemudian ditambahkan larutan dapar fosfat hingga konsentrasi 1%. Larutan akarbose 1% di pipet 1 ml dan ditambahkan dengan 1 ml dapar fosfat hingga diperoleh konsentrasi ekstrak 0,5 % demikian selanjutnya hingga diperoleh konsentrasi ekstrak 0,25 % dan 0,125 %.

3.4.5 Optimasi konsentrasi enzim dan substrat

3.4.5.1 Optimasi konsentrasi enzim

Larutan dimetil sulfoksida (DMSO) sebanyak 10 μ l ditambahkan 490 μ l larutan dapar fosfat pH 6,8 dan 250 μ l paranitrofenil α -D-glukopiranosida 20 mM. Campuran diinkubasi selama 10 menit pada suhu 37° C. Setelah diinkubasi, ke dalam campuran ditambahkan 250 μ l larutan enzim 0,3 U/ml dan diinkubasi kembali selama 15 menit pada suhu 37° C. Reaksi dihentikan dengan menambahkan 2000 μ l Na₂CO₃ 200 mM. Campuran diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 400 nm. Percobaan diulangi dengan konsentrasi larutan enzim 0,15 U/ml; 0,075 U/ml; dan 0,0375 U/ml.

3.4.5.2 Optimasi konsentrasi substrat

Larutan dimetil sulfoksida (DMSO) sebanyak 10 µl ditambahkan 490 µl larutan dapar fosfat pH 6,8 dan 250 µl paranitrofenil α -D-glukopiranosida 20 mM. Campuran diinkubasi selama 10 menit pada suhu 37° C. Setelah diinkubasi, ke dalam campuran ditambahkan 250 µl larutan enzim dan diinkubasi kembali selama 15 menit pada suhu 37° C. Reaksi dihentikan dengan menambahkan 2000 µl Na₂CO₃ 200 mM. Campuran diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 400 nm. Percobaan diulangi dengan konsentrasi substrat 10 mM; 5 mM; 2,5 mM; dan 1,25 mM.

3.4.6 Uji aktivitas penghambatan α -glukosidase (Sugiwati, Setiasi & Afifah, 2009; Dewi et al., 2007)

Uji aktivitas penghambatan α -glukosidase dilakukan dengan menggunakan ekstrak dengan beragam konsentrasi (0,125%-1%). Campuran reaksi terdiri dari 250 µl 5 mM *p*-nitrofenil α -Dglukopiranosida sebagai substrat, 490 µl dapar fosfat (pH 6,8) dan 10 µl larutan sampel. Setelah campuran reaksi diinkubasi pada 37°C selama 10 menit, 250 µl larutan enzim ditambahkan dan selanjutnya diinkubasi selama 15 menit. Reaksi enzim dihentikan dengan penambahan 2000 µl 200 mM natrium karbonat dan *p*-nitrofenol yang dihasilkan dibaca absorbansinya pada 400 nm.

3.4.6.1 Pengujian kontrol blanko (penambahan enzim di akhir inkubasi)

Larutan dimetil sulfoksida (DMSO) sebanyak 10 µl ditambahkan 490 µl larutan dapar fosfat pH 6,8 dan 250 µl paranitrofenil α -D-glukopiranosida dengan konsentrasi optimumnya, campuran diinkubasi selama 10 menit pada suhu 37° C. Kedalam larutan ditambahkan 2000 µl Na₂CO₃ 200 mM. Sampel diinkubasi kembali selama 15 menit pada suhu 37° C. Setelah diinkubasi, tambahkan 250 µl larutan enzim. Campuran diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 400 nm.

3.4.6.2 Pengujian blanko (penambahan enzim di awal inkubasi)

Larutan dimetil sulfoksida (DMSO) sebanyak 10 µl ditambahkan 490 µl larutan dapar fosfat pH 6,8 dan 250 µl paranitrofenil α -D-glukopiranosida dengan konsentrasi optimumnya, campuran diinkubasi selama 10 menit pada suhu 37° C. Setelah diinkubasi, tambahkan 250 µl larutan enzim dan diinkubasi selama 15 menit pada suhu 37° C. Reaksi dihentikan dengan menambahkan 2000 µl Na₂CO₃ 200 mM. Campuran diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 400 nm.

3.4.6.3 Pengujian kontrol standar (penambahan enzim di akhir inkubasi)

Larutan standar sebanyak 10 µl ditambahkan 490 µl larutan dapar fosfat pH 6,8 dan 250 µl paranitrofenil α -D-glukopiranosida dengan konsentrasi optimumnya, campuran diinkubasi selama 10 menit pada suhu 37° C. Kedalam larutan ditambahkan 2000 µl Na₂CO₃ 200 mM. Larutan diinkubasi kembali selama 15 menit pada suhu 37° C. Setelah diinkubasi, tambahkan 250 µl larutan enzim. Campuran diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 400 nm.

3.4.6.4 Pengujian standar (penambahan enzim di awal inkubasi)

Larutan standar sebanyak 10 µl ditambahkan 490 µl larutan dapar fosfat pH 6,8 dan 250 µl paranitrofenil α -D-glukopiranosida dengan konsentrasi optimumnya, campuran diinkubasi selama 10 menit pada suhu 37° C. Setelah diinkubasi, tambahkan 250 µl larutan enzim dan diinkubasi selama 15 menit pada suhu 37° C. Reaksi dihentikan dengan menambahkan 2000 µl Na₂CO₃ 200 mM. Campuran diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 400 nm.

3.4.6.5 Pengujian kontrol sampel (penambahan enzim di akhir inkubasi)

Larutan sampel sebanyak 10 µl ditambahkan 490 µl larutan dapar fosfat pH 6,8 dan 250 µl paranitrofenil α -D-glukopiranosida dengan konsentrasi optimumnya, campuran diinkubasi selama 10 menit pada suhu 37° C. Kedalam larutan ditambahkan 2000 µl Na₂CO₃ 200 mM. Sampel diinkubasi kembali

selama 15 menit pada suhu 37° C. Setelah diinkubasi, tambahkan 250 µl larutan enzim. Campuran diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 400 nm.

3.4.6.6 Pengujian sampel (penambahan enzim di awal inkubasi)

Larutan sampel sebanyak 10 µl ditambahkan 490 µl larutan dapar fosfat pH 6,8 dan 250 µl paranitrofenil α -D-glukopiranosida dengan konsentrasi optimumnya, campuran diinkubasi selama 10 menit pada suhu 37° C. Setelah diinkubasi, tambahkan 250 µl larutan enzim dan diinkubasi selama 15 menit pada suhu 37° C. Reaksi dihentikan dengan menambahkan 2000 µl Na₂CO₃ 200 mM. Campuran diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 400 nm. Prosedur uji dapat dilihat pada Tabel 3.1.

Tabel 3.2. Prosedur Uji Aktivitas Penghambat α -Glukosidase

	Volume (µL)			
	B ₀	B ₁	S ₀	S ₁
Sampel (ekstrak)	-	-	10	10
DMSO	10	10	-	-
Dapar fosfat	490	490	490	490
PNP	250	250	250	250
Inkubasi penangas air 37° C, 10 menit				
Enzim	-	250	-	250
Natrium karbonat	2000	-	2000	-
Inkubasi penangas air 37° C, 15 menit				
Enzim	250	-	250	-
Natrium karbonat	-	2000	-	2000
Ukur absorbansi pada $\lambda=400$ nm				

Keterangan: B₀ = Kontrol Blanko
 B₁ = Blanko
 S₀ = Kontrol Sampel
 S₁ = Sampel

3.4.7 Perhitungan persen inhibisi dan IC₅₀ (Hsiu, Han, Bhaskar, dan Tian, 2010)

% Inhibisi dihitung dengan rumus :

$$\frac{\text{Absorban Blanko} - \text{Absorban Sampel}}{\text{Absorban Blanko}} \times 100\% \quad (3.1)$$

Universitas Indonesia

Nilai IC_{50} adalah konsentrasi dari penghambatan α -glukosidase yang dapat menghambat 50% dari aktivitas α -glukosidase. IC_{50} dihitung dengan menggunakan persamaan regresi linear, konsentrasi sampel sebagai sumbu x dan % inhibisi sebagai sumbu y.

Dari persamaan: $y = a + bx$ dapat dihitung nilai IC_{50} dengan menggunakan rumus

$$IC_{50} = \frac{50 - a}{b} \quad (3.2)$$

3.4.8 Penentuan kinetika inhibisi enzim

Penentuan kinetika inhibisi enzim diukur dengan meningkatkan konsentrasi paranitrofenil α -D-glukopiranosida sebagai substrat dengan lima konsentrasi berbeda dan menggunakan ekstrak yang memiliki aktivitas penghambatan yang paling baik saat uji aktivitas penghambatan α -glukosidase. Jenis inhibisi ditentukan dengan analisis data menggunakan metode plot *Lineweaver-Burk* untuk memperoleh tetapan kinetika Michaelis-Menten (Dewi et al, 2007).

Persamaan *Lineweaver-Burk* (Champe, Harvey, dan Ferrier, 2005).

$$\frac{1}{V_o} = \frac{K_m}{V_{max}} \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{max}} \quad (3.3)$$

Tetapan kinetika Michaelis Menten dihitung berdasarkan persamaan regresi $y = a + bx$, dimana x adalah jumlah substrat dan y adalah absorbansi sampel.

$$\text{Sehingga } y = 0 \rightarrow x = -a/b = \frac{-1}{\frac{K_m}{V_{max}}} = -1/K_m$$

$$K_m = b/a \quad (3.4)$$

BAB 4

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Penyiapan bahan

Tanaman yang digunakan pada penelitian ini diperoleh dari Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik Cimanggu, Bogor. Pemilihan tanaman dan bagian yang diuji berdasarkan pada pemakaian tanaman tersebut sebagai ramuan obat antidiabetes. Pengambilan daun dilakukan saat proses fotosintesis paling aktif yaitu pada saat munculnya bunga dan sebelum penuaan dari buah dan biji. Kulit batang dikumpulkan pada musim panas saat batang masih dapat membesar dan belum mencapai proses pertumbuhan maksimal. Umbi dikumpulkan pada saat proses pertumbuhan telah berhenti dan biji dikumpulkan setelah matang sepenuhnya (Clause, 1961). Tanaman tersebut diidentifikasi oleh Pusat Penelitian Biologi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia untuk memastikan kebenaran spesies dan familinya. Hasil determinasi dapat dilihat pada lampiran 2. Tanaman yang telah dikumpulkan disortasi basah untuk memisahkan kotoran atau bahan-bahan asing lainnya yang masih menempel pada tanaman. Pencucian dilakukan menggunakan air mengalir untuk menghilangkan tanah dan pengotor lainnya yang masih menempel pada bahan yang sudah disortasi basah. Pengeringan dilakukan di dalam lemari pengering pada suhu 40-60^o C untuk menghilangkan lembab, meningkatkan kualitas penyimpanan, mencegah jamur, bakteri, dan perubahan kimia (Clause, 1961). Penyerbukan simplisia dilakukan dengan menggunakan mesin penggiling. Data susut pengeringan dapat dilihat pada Tabel 4.1.

Tabel 4.1. Susut pengeringan

Nama Tanaman	Bagian yang digunakan	Bobot sebelum dikeringkan (g)	Bobot setelah dikeringkan (g)	Kadar air (%)
Jambu mete	Daun	445	135	69,66
Pulai	kulit batang	31	30	3,23
Tapak dara	Daun	203	39	80,79
Sembung	Daun	140	36	74,29
Oyong	Biji	180	170	5,56
Gadung	Umbi	250	130	48,00
Kemangi	Herba	400	41	89,75
Bawang merah	Umbi	450	46	89,78
Kedelai	Biji	500	480	4,00
Mahoni	Biji	210	190	9,52
Sendok	Daun	150	44	70,67
Jintan hitam	Biji	65	64	1,54
Kaca piring	Daun	220	74	66,36
Ciplukan	Daun	95	27	71,58
Jati	Daun	203	62	69,46

4.2 Ekstraksi simplisia

Ekstraksi dilakukan secara refluks karena membutuhkan waktu yang lebih cepat dibandingkan dengan maserasi ataupun soxhlet. Pelarut yang digunakan adalah campuran etanol dan air dengan perbandingan 8:2. Pelarut ini dipakai karena pelarut yang diperbolehkan dalam ekstraksi tanaman obat adalah alkohol (etanol) dan air serta campurannya (Departemen Kesehatan, 2000). Campuran dari alkohol dan air adalah pelarut yang mempunyai kekuatan ekstraksi yang paling baik untuk hampir semua senyawa dengan berat molekul yang kecil seperti alkaloid, saponin, dan flavonoid. Etanol sering dicampur dengan air untuk menginduksi pengembangan dari partikel tanaman dan meningkatkan porositas dari dinding sel yang mana memfasilitasi difusi senyawa yang akan diekstraksi dari dalam sel ke pelarut (Samuelsson, 1999). Etanol 80% dipilih karena lebih mudah menguap dibandingkan air dan bersifat tidak toksik. Refluks dilakukan selama 1 jam. Residu yang didapat ditambahkan pelarut kembali dan direfluks kembali hingga 3 kali untuk mendapatkan hasil ekstraksi yang lebih banyak. Ekstrak yang telah diperoleh diuapkan di penangas air pada suhu tidak lebih dari 55° C (Gaedcke, Stenhoff, dan Blasius, 2003) hingga menjadi ekstrak kental. Ekstrak kental yang didapat ditimbang beratnya. Persen rendeman ekstrak dapat

dilihat pada Tabel 4.2. Ekstrak kental disimpan dalam lemari pendingin suhu 4° C. Ekstrak yang didapatkan akan digunakan dalam pengujian selanjutnya.

Tabel 4.2. Rendemen ekstrak

Nama Simplisia	Bobot Simplisia (g)	Bobot Ekstrak (g)	Rendemen Ekstrak (%)
Daun jambu mete	20,1604	7,0091	34,7666
Kulit batang pulai	20,0125	2,0492	10,2396
Daun tapak dara	20,0686	7,0571	35,1648
Daun sembung	20,1234	5,2063	25,8718
Biji oyong	20,1064	4,1124	20,4532
Umbi gadung	20,1447	2,7518	13,6601
Herba kemangi	20,0784	4,5947	22,8837
Bawang merah	20,1963	12,2487	60,6482
Kedelai	20,0211	4,4149	22,0512
Biji mahoni	20,1050	8,2163	40,8669
Daun sendok	20,0566	5,9643	29,7373
Jintan hitam	20,0595	2,7851	13,8841
Daun kaca piring	20,0088	5,9080	29,5270
Daun ciplukan	20,0349	5,9843	29,8693
Daun jati	20,0052	4,5006	22,4971

4.3 Identifikasi golongan senyawa kimia

Identifikasi golongan senyawa kimia dilakukan untuk mengetahui kandungan senyawa kimia dalam 15 ekstrak yang diuji. Identifikasi golongan senyawa kimia yang dilakukan meliputi alkaloid, flavonoid, tanin, terpen, glikosida, saponin, dan antrakuinon.

Pada identifikasi alkaloid ditambahkan HCl 2N untuk mengubah alkaloid basa menjadi garam yang larut dalam air (Sirait, 2007). Pereaksi yang digunakan dalam identifikasi alkaloid adalah pereaksi mayer, dragendorf, dan bouchardat. Pereaksi ini bereaksi dengan alkaloid membentuk senyawa kompleks yang mengendap (Farnsworth, 1966). Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya endapan setelah penambahan pereaksi. Ekstrak yang memberikan hasil positif pada identifikasi alkaloid antara lain ekstrak kulit batang pulai, ekstrak daun kaca piring, ekstrak daun tapak dara, ekstrak umbi gadung, ekstrak daun sembung, ekstrak biji oyong, dan ekstrak daun ciplukan.

Flavonoid diidentifikasi dengan mereaksikan Zn/HCl dan Mg/HCl. Identifikasi flavonoid dilakukan berdasarkan reaksi reduksi dengan menggunakan

Mg dan Zn. Reaksi flavonoid yang lain adalah reaksi Wilson-Taubock yaitu dengan mereaksikan asam borat dan asam oksalat. Pada reaksi ini akan menghasilkan fluoresensi warna kuning. Ekstrak yang memberikan hasil positif pada identifikasi flavonoid adalah ekstrak daun sendok, ekstrak daun jambu mete, ekstrak herba kemangi, ekstrak daun tapak dara, ekstrak daun ciplukan, dan ekstrak bawang merah. Hasil ini sesuai dengan literatur.

Identifikasi tanin dilakukan dengan penambahan FeCl_3 yang akan memberikan warna hijau violet. Warna yang terbentuk didasarkan pada reaksi antara inti fenolik tanin dengan ion Fe^{3+} membentuk senyawa kompleks berwarna. Identifikasi juga dilakukan dengan penambahan gelatin 10% hingga terbentuk endapan putih. Pada proses ini terjadi reaksi antara tanin dan gelatin membentuk kopolimer mantap (endapan) yang tidak larut dalam air (Harborne, 1987). Ekstrak yang memberikan hasil positif pada identifikasi tanin adalah ekstrak daun jambu mete, ekstrak herba kemangi dan ekstrak daun sembung. Hasil ini sesuai dengan literatur. Pada ekstrak umbi gadung dan ekstrak kedelai hasil identifikasi flavonoid dan tanin yang didapatkan berbeda dengan literatur. Hal ini mungkin disebabkan karena kandungan senyawa yang kecil dalam ekstrak sehingga tidak terdeteksi, perbedaan iklim dan tempat tumbuh tanaman tersebut.

Pada identifikasi terpen ekstrak yang memberikan hasil positif adalah ekstrak daun kaca piring, ekstrak daun sendok, ekstrak daun jati, ekstrak daun jambu mete, ekstrak kemangi, ekstrak daun tapak dara, ekstrak daun ciplukan, ekstrak daun sembung, dan ekstrak jintan hitam.

Pada identifikasi glikosida dan saponin semua ekstrak memberikan hasil yang positif sedangkan pada identifikasi antrakuinon hanya ekstrak daun jati yang memberikan hasil positif. Hasil identifikasi kimia tiap ekstrak dapat dilihat pada Tabel 4.3.

Tabel 4.3. Identifikasi senyawa kimia tiap ekstrak

Kandungan Kimia	Alkaloid	Flavonoid	Tanin	Saponin	Antra kuinon	Glikosida	Terpen
Daun jambu mete	-	+	+	+	-	+	+
Kulit batang pulai	+	-	-	+	-	+	-
Daun tapak dara	+	+	-	+	-	+	+
Daun sembung	+	-	+	+	-	+	+
Biji oyong	+	-	-	+	-	+	-
Umbi gadung	+	-	-	+	-	+	-
Herba kemangi	-	+	+	+	-	+	+
Bawang merah	-	+	-	+	-	+	-
Kedelai	-	-	-	+	-	+	-
Biji mahoni	-	-	-	+	-	+	-
Daun sendok	-	+	-	+	-	+	+
Jintan hitam	-	-	-	+	-	+	+
Daun kaca piring	+	-	-	+	-	+	+
Daun ciplukan	+	+	-	+	-	+	+
Daun jati	-	-	+	+	+	+	+

Keterangan: (+) = Terdeteksi
 (-) = Tidak terdeteksi

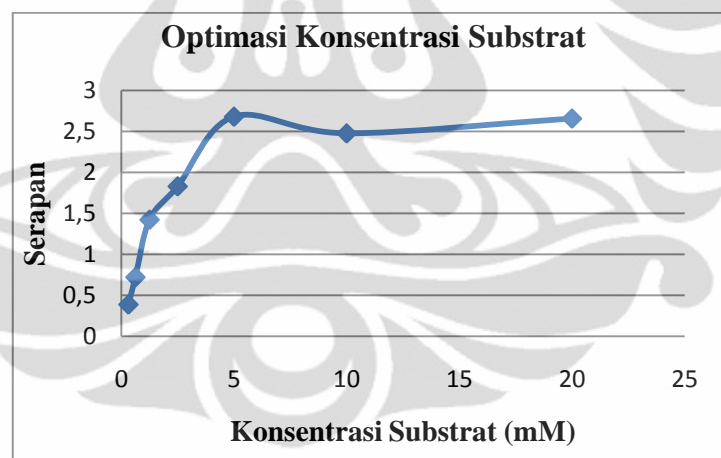
4.4 Optimasi konsentrasi enzim dan substrat

Konsentrasi larutan enzim yang digunakan berdasarkan literatur (Dewi et al., 2007) adalah 0,3 U/ml. Penentuan konsentrasi optimum enzim dilakukan dengan menggunakan konsentrasi substrat 20 mM dan 10 mM. Serapan yang didapatkan dengan menggunakan larutan enzim 0,3 U/ml tidak dapat terbaca oleh spektrofotometer karena serapan terlalu tinggi (batas serapan yang dapat dibaca spektrofotometer uv-vis Shimadzu-265 adalah 4) sehingga konsentrasi enzim diturunkan menjadi 0,15 U/ml; 0,075 U/ml; dan 0,0375 U/ml. Konsentrasi larutan enzim yang dipilih adalah 0,15 U/ml dengan nilai serapan 1,945 dan 2,092. Konsentrasi enzim tersebut dipilih karena serapan yang dihasilkan tidak terlalu tinggi sehingga masih dapat terbaca oleh alat dan tidak terlalu rendah sehingga peningkatan aktivitas penghambatan oleh sampel dapat teramati. Data serapan dapat dilihat pada Tabel 4.4.

Tabel 4.4. Penentuan konsentrasi optimum enzim

Konsentrasi Substrat Konsentrasi Enzim	20 mM	10 mM	Larutan Uji
0,3 U/ml	-	-	Blanko
	0,064	0,067	Kontrol Blanko
0,15 U/ml	1,945	2,092	Blanko
	0,056	0,051	Kontrol Blanko
0,075 U/ml	1,039	1,066	Blanko
	0,062	0,058	Kontrol Blanko
0,0375 U/ml	0,505	0,370	Blanko
	0,059	0,051	Kontrol Blanko

Penentuan konsentrasi optimum substrat dilakukan dengan menggunakan konsentrasi enzim 0,15 U/ml dengan variasi konsentrasi substrat yaitu 20 mM; 10 mM; 5 mM; 2,5 mM; 1,25 mM; 0,625 mM; dan 0,3125 mM. Optimasi konsentrasi substrat dilakukan untuk memastikan bahwa sisi aktif enzim telah terisi penuh oleh substrat.



Gambar 4.1. Grafik optimasi konsentrasi substrat

Gambar 4.1 menunjukkan bahwa pada konsentrasi substrat 2,5 mM terjadi penurunan absorbansi yang cukup besar. Hal ini juga dapat dilihat pada data absorbansi konsentrasi substrat 1,25 mM; 0,625 mM; dan 0,3125 mM. Serapan yang stabil didapatkan pada konsentrasi substrat 5 mM, 10 mM, dan 20 mM. Hal ini menunjukkan pada konsentrasi substrat 5 mM, 10 mM, dan 20 mM sisi aktif enzim mungkin telah terisi penuh oleh substrat. Pada penelitian kali ini dipakai konsentrasi substrat 5 mM karena pada konsentrasi tersebut sisi aktif enzim

mungkin telah terisi penuh oleh substrat. Data serapan dapat dilihat pada Tabel 4.5.

Tabel 4.5. Penentuan konsentrasi optimum substrat

Konsentrasi substrat	Blanko	Kontrol Blanko
0,3125 mM	0,424	0,002
	0,351	0,002
0,625 mM	0,665	0,003
	0,780	0,003
1,25 mM	1,426	0,004
	1,424	0,004
2,5 mM	1,968	0,007
	1,702	0,005
5 mM	2,669	0,021
	2,733	0,021
10 mM	2,525	0,050
	2,520	0,043
20 mM	2,797	0,069
	2,658	0,072

4.5 Uji aktivitas penghambatan α -glukosidase

Pengujian aktivitas penghambatan enzim α -glukosidase diukur berdasarkan hasil absorbansi *p*-nitrofenol dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 400 nm. Apabila tumbuhan memiliki kemampuan menghambat enzim α -glukosidase maka *p*-nitrofenol yang dihasilkan akan berkurang (Sugiwati, Setiasi, dan Afifah, 2009; Kikkoman).

Pada pengujian ini digunakan variasi konsentrasi ekstrak. Pengujian pada konsentrasi ekstrak yang bervariasi ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penambahan konsentrasi ekstrak terhadap daya inhibisi. Variasi konsentrasi ekstrak yang digunakan adalah 1%, 0,5%, 0,25%, dan 0,125% (Sugiwati, Setiasi, dan Afifah, 2009). Dari variasi konsentrasi ekstrak tersebut didapatkan pada ekstrak yang mempunyai daya hambat, semakin tinggi konsentrasi ekstrak, maka semakin besar daya inhibisinya. Hal ini dapat dilihat dengan semakin tingginya persen inhibisinya. Dari nilai persamaan regresi antara konsentrasi ekstrak dengan persen inhibisi, didapatkan nilai IC_{50} . Nilai IC_{50} adalah konsentrasi dari penghambatan α -glukosidase yang dapat menghambat 50% dari aktivitas α -glukosidase. Semakin kecil nilai IC_{50} , semakin baik daya inhibisinya.

Pada pengujian ini dilakukan pengamatan aktivitas enzim tanpa penggunaan ekstrak (blanko) untuk melihat pengaruh penghambatan ekstrak tersebut terhadap aktivitas enzim. Kontrol sampel dan kontrol blanko (penambahan enzim setelah penambahan natrium karbonat) digunakan untuk mengoreksi apakah reaksi enzimatik tersebut telah berhenti sempurna.

Pengujian aktivitas penghambatan enzim α -glukosidase dilakukan terhadap 15 ekstrak menggunakan kontrol positif akarbose. Konsentrasi akarbose yang digunakan adalah 4,17; 8,33; 16,7; dan 33,33 ppm. Dari hasil pengujian, akarbose memiliki efek penghambatan enzim dengan nilai IC_{50} 117,06 ppm. Nilai IC_{50} ini mendekati dengan literatur (Andrade, Becerra, dan Cardenas, 2008) yaitu 128 ppm. Ekstrak yang mempunyai daya hambat yang lebih baik dari akarbose terlihat pada ekstrak biji mahoni (7,03 ppm); daun jambu mete (9,11 ppm); biji oyong (17,46 ppm); umbi gadung (26,05 ppm); daun sembung (28,01 ppm); tapak dara (36,08 ppm); bawang merah (50,58 ppm); ciplukan (55,89 ppm); kemangi (80,78 ppm); dan daun jati (87,38 ppm). Hal ini dapat dilihat dari nilai IC_{50} yang lebih kecil dibandingkan dengan standar akarbose. Sepuluh ekstrak yang diuji menunjukkan daya hambat yang lebih besar dibandingkan dengan akarbose karena campuran beberapa senyawa aktif tumbuhan dapat memberikan efek sinergis. Dalam suatu ekstrak tumbuhan, selain beberapa senyawa aktif utama biasanya juga terdapat banyak senyawa lain yang keberadaannya dapat meningkatkan aktivitas ekstrak secara keseluruhan (Priyono, 1999).

Pada penelitian ini didapatkan bahwa ekstrak yang mempunyai kekuatan penghambatan terbesar terhadap enzim α -glukosidase ditunjukkan oleh ekstrak biji mahoni. Hasil penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa ekstrak etanol biji mahoni dapat menurunkan kadar glukosa darah pada tikus yang diinduksi oleh Streptozotosin (Kalaivanan dan Pugalendi, 2011). Hal ini sejalan dengan hasil penelitian yang telah didapatkan dan dapat disimpulkan bahwa efek penurunan kadar glukosa darah tersebut disebabkan oleh penghambatan terhadap enzim α -glukosidase yang dapat mengurangi pencernaan karbohidrat kompleks dan absorbsinya. Penelitian sebelumnya terhadap salah satu spesies dari famili Meliaceae yang satu famili dengan mahoni yaitu *Azadirachta indica* tidak menunjukkan adanya penghambatan terhadap enzim α -glukosidase. Hingga saat

ini belum diketahui spesies lain dari famili Meliaceae yang mempunyai efek penghambatan terhadap enzim α -glukosidase.

Ekstrak metanol daun *Alstonia scholaris* telah diteliti memiliki efek penghambatan enzim α -glukosidase dengan nilai IC_{50} yaitu 1,26 ppm (Anurakkun, Bhandari, dan Kawabata, 2006) sedangkan pada penelitian ini dilakukan pengujian penghambatan enzim α -glukosidase terhadap ekstrak etanol kulit kayu *Alstonia scholaris* dan didapatkan nilai IC_{50} yaitu 319,08 ppm. Hasil tersebut menunjukkan bahwa daun *Alstonia scholaris* menghambat enzim α -glukosidase lebih baik dibandingkan dengan kulit batang *Alstonia scholaris*. Hal ini mungkin disebabkan oleh perbedaan kandungan yang terdapat dalam daun dan kulit batang *Alstonia scholaris*. Pada daun *Alstonia scholaris* diduga kandungan yang berperan dalam penghambatan enzim α -glukosidase adalah *quercetin 3-O- β -D-xylopyranosyl (1'' \rightarrow 2'')- β -D-galactopyranoside* sedangkan pada kulit batang *Alstonia scholaris* belum diketahui kandungan senyawa yang berperan. Data nilai IC_{50} semua ekstrak dapat dilihat pada Tabel 4.6.

Tabel 4.6. Aktivitas penghambatan enzim α -glukosidase ekstrak dan akarbose

Tanaman	Bagian yang digunakan	IC_{50} (ppm)
Jambu mete (<i>Anacardium occidentale</i> L.)	daun	9,11
Pulai (<i>Alstonia scholaris</i> (L.) R.Br.)	kulit batang	319,08
Tapak dara (<i>Catharanthus roseus</i> L. G. Don)	daun	36,08
Kaca piring (<i>Ervatamia divaricata</i> (L.) Burkill)	daun	137,29
Daun sembung (<i>Blumea balsamifera</i> (L.) DC)	daun	28,01
Oyong/Blustru (<i>Luffa cylindrical</i> (L.) M.J. Roemer)	biji	17,46
Gadung (<i>Dioscorea hispida</i> Dennst.)	umbi	26,05
Kemangi (<i>Ocinum americanum</i> L.)	herba	80,78
Bawang merah (<i>Allium cepa</i> L.)	umbi lapis	50,58
Kedelai (<i>Glycine max</i> Merr.)	biji	6.645,97
Mahoni (<i>Swietenia mahagoni</i> (L.) Jacq.)	biji	7,03
Daun sendok (<i>Plantago major</i> L.)	daun	1.173,17
Jinten hitam (<i>Nigella sativa</i> L.)	biji	144,13
Ciplukan (<i>Physalis angulata</i> L.)	daun	55,89
Jati (<i>Tectona grandis</i> L.)	daun	87,38
Akarbose	-	117,06

4.6 Kinetika Enzim

Analisis kinetika enzim menggunakan plot *Lineweaver-Burk* yang menunjukkan jenis penghambatan dari ekstrak. Ekstrak yang digunakan yaitu ekstrak biji mahoni (*Swietenia mahagoni* (L.) Jacq.) karena memiliki nilai IC_{50} terkecil sehingga memiliki daya hambat yang terbaik. Konsentrasi substrat paranitrofenil α -D-glukopiranosida yang digunakan yaitu 20 mM; 10 mM; 5 mM; 2,5 mM; dan 1,25 mM. Data hasil penentuan kinetika inhibisi enzim dapat dilihat pada Tabel 4.7

Tabel 4.7. Data kinetika inhibisi enzim

Konsentrasi PNP (mM) (S)	Absorbansi Sampel (V)			1/S	1/V1	1/V2	1/V3
	V1	V2	V3				
20	2,325	1,987	2,058	0,050	0,4301	0,5033	0,4859
10	2,360	1,646	2,096	0,100	0,4237	0,6075	0,4771
5	2,336	1,273	1,903	0,200	0,4281	0,7855	0,5255
2,5	1,876	1,039	1,228	0,400	0,5330	0,9625	0,8143
1,25	1,419	0,548	0,876	0,800	0,7047	1,8248	1,1415

Keterangan :

V1 = tanpa inhibitor (DMSO)

V2 = konsentrasi sampel 4,17 ppm

V3 = konsentrasi sampel 2,08 ppm

Dengan menggunakan persamaan regresi linear dimana $1/S$ sebagai sumbu x dan $1/V$ adalah sumbu y, akan diperoleh tetapan Michaelis-Menten pada masing-masing konsentrasi menggunakan rumus (3.4). Hasil perhitungan tetapan Michaelis-Menten dapat dilihat pada Tabel 4.8.

Tabel 4.8. Hasil perhitungan tetapan Michaelis-Menten

Sampel	a	b	r	K_M
V1	0,3828	0,3908	0,9830	1,0209
V2	0,4068	1,7095	0,9903	4,2023
V3	0,3986	0,9363	0,9891	2,3490

Keterangan :

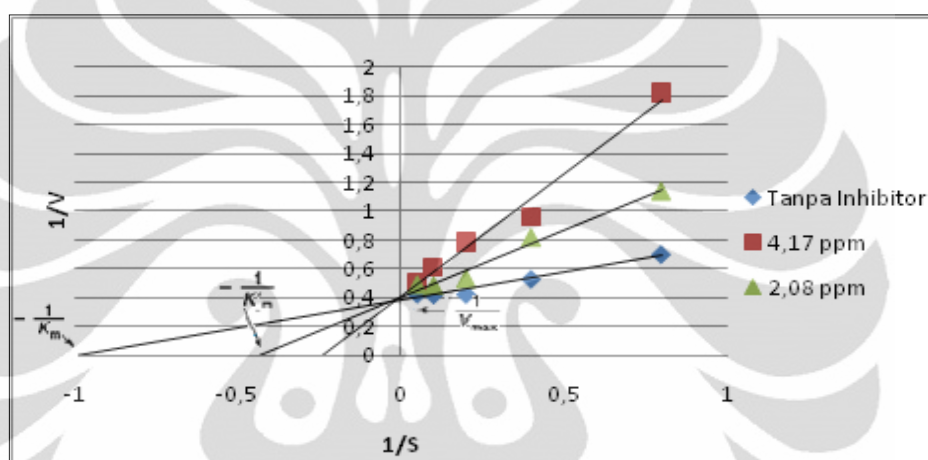
V1 = tanpa inhibitor (DMSO)

V2 = konsentrasi sampel 4,17 ppm

V3 = konsentrasi sampel 2,08 ppm

K_m = konstanta Michaelis-Menten ($\mu M/ml$)

Berdasarkan pengolahan data pada Tabel 4.7 dapat dinyatakan bahwa ekstrak biji mahoni memiliki mekanisme inhibisi kompetitif sesuai pada Gambar 4.2. Hal ini dapat dilihat dari perpotongan garis linear konsentrasi inhibitor 2,08 dan 4,17 ppm dengan garis linier tanpa inhibitor terletak pada sumbu y. Pada konsentrasi S yang tinggi tak terhingga ($1/[S] = 0$), v_{maks} dengan adanya inhibitor akan sama seperti keadaan tanpa inhibitor. Titik potong pada sumbu x (yang berhubungan dengan K_m) akan bervariasi menurut konsentrasi inhibitor dan menjadi lebih besar dengan adanya inhibitor (Rodwell dan Kennelly, 2003).



Gambar 4.2. Plot Lineweaver-Burk ekstrak biji mahoni konsentrasi 2,08 ppm dan 4,17 ppm dengan konsentrasi substrat paranitrofenil α -D-glukopiranosida 20 mM; 10 mM; 5 mM; 2,5 mM; dan 1,25 mM.

Pada penelitian kali ini didapatkan nilai serapan yang besar. Nilai serapan yang besar dapat menyebabkan bias pada hasil sehingga nilai yang didapat kemungkinan tidak menggambarkan nilai yang sebenarnya. Hal ini dapat dilihat dari kecilnya nilai r yang didapatkan dari persamaan regresi linier. Data dari hasil penelitian ini masih dapat diterima dan digunakan karena merupakan tahap awal untuk skrining terhadap aktivitas tanaman yang mempunyai penghambatan sedangkan untuk penelitian selanjutnya sebaiknya menggunakan serapan berkisar 0,2-0,8 nm karena kesalahan dalam pembacaan fotometrik kecil yaitu 0,005 atau 0,5% (Gandjar dan Rohman, 2007).

BAB 5

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

1. Ekstrak yang memiliki aktivitas penghambatan enzim α -glukosidase terbaik dari 15 tanaman yang diuji adalah ekstrak biji mahoni dengan nilai IC_{50} 7,03 ppm diikuti oleh ekstrak daun jambu mete, ekstrak biji oyong, ekstrak umbi gadung, ekstrak daun sembung, ekstrak daun tapak dara, ekstrak bawang merah, ekstrak daun ciplukan, ekstrak herba kemangi dan ekstrak daun jati dengan nilai IC_{50} 9,11 ppm; 17,46 ppm; 26,05 ppm; 28,01 ppm; 36,08 ppm; 50,58 ppm; 55,89 ppm; 80,78 ppm; dan 87,38 ppm.
2. Hasil identifikasi golongan senyawa kimia dari 15 ekstrak yang diuji mengandung glikosida dan saponin.

5.2 Saran

Perlu dilakukan isolasi senyawa-senyawa yang memiliki aktivitas penghambatan enzim α -glukosidase dan dilakukan karakterisasi dengan spektroskopi (UV, IR, NMR, GC-MS) untuk menentukan struktur molekul terhadap senyawa yang terkandung dalam ekstrak yang memiliki aktivitas inhibisi alfa-glukosidase.

DAFTAR ACUAN

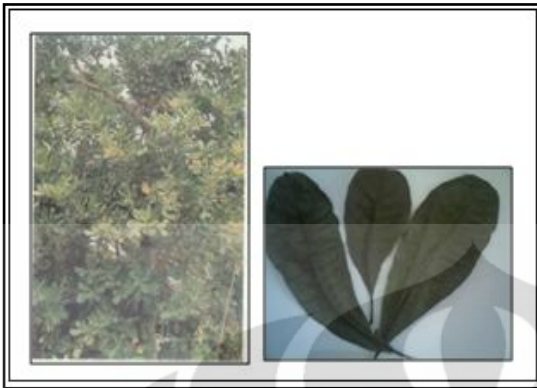
- Adnyana, I Ketut. (2009). *Herbal sebagai antidiabetes*.
<http://www.fa.itb.ac.id/news/?id=683>. 5 Januari 2011, pk.19.00
- Andrade, A.C., Becerra, J.J., dan Cardenas, R.V. (2008). *Alfa-glucosidase-inhibiting activity of some Mexican plants used in the treatment of type 2 diabetes*. *Journal of Ethnopharmacology*, 116, 27-32.
- Anfaliah, S., Andreanus, A., dan Fidriany, I. (2007). *Kajian Aktivitas Antidiabetes Fraksi Air Herba Kemangi (*Ocinum americanum* L.) pada Mencit Swiss Webster*. Skripsi. Sekolah Farmasi ITB.
- Anurakkun, N. J., Bhandari, M. R., dan Kawabata, J. (2006). *α -Glucosidase inhibitors from Devil tree (*Alstonia scholaris*)*. *Food chemistry*, 103, 1319-1323.
- Badan Pengawas Obat dan Makanan. (2004). *Monografi Ekstrak Tumbuhan Obat Indonesia*. 1.
- Champe, P.C., Harvey, R.A., Ferrier, D.R. (2005). *Lippincott's Illustrated Reviews: Biochemistry*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins. 59-62.
- Clause, E.P. (1961). *Pharmacognosy Fourth Edition*. Philadelphia: Lea dan Febiger. 15-16.
- Departemen Kesehatan. (1995). *Materia Medika Indonesia Jilid VI*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 333-337
- Departemen Kesehatan. (2000). *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1, 9-11.
- Departemen Kesehatan. (2005). *Pharmaceutical Care untuk Penyakit Diabetes Mellitus*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 35, 45-46.
- Dewi, R.T., et al. (2007). *Inhibitory effect of Koji *Aspergillus terreus* on α -glucosidase activity and postprandial hyperglycemia*. *Pakistan Journal of Biological Science*, 18, 3131-3135.
- Farnsworth, N. R. (1966). *Biological and Phytochemical Screening of Plants*. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 55, 245-265.

- Gandjar, I.G. dan Rohman, A. (2007). *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar. 220-221
- Goldsmith, E.J., Fletterick, R.J., dan Withers, S.G. (1987). The Three-dimensional Structure of Acarbose Bound to Glycogen Phosphorylase. *The Journal of Biological Chemistry*, 262, 1449-1455.
- Granner, D.K. (2003). *Hormon Pankreas dan Traktus Gastrointestinal* dalam Murray R.K., Granner D.K., Mayes P.A., dan Rodwell V.W. (2003). *Biokimia Harper Edisi 25*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC. 593
- Handoko, T. dan Suharto, B. (1995). *Insulin, Glukagon, dan Antidiabetik Oral* dalam Ganiswarna, S. (1995). *Farmakologi dan Terapi*. Jakarta: Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. 471-473
- Harborne, J.B. (1987). *Metode Fitokimia. Penuntun Cara Modern Mengekstraksi Tumbuhan* (Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro, Penerjemah). Bandung: Penerbit ITB. 69-71, 123-125, 102-105, 155, 234-238.
- Heyne, K. (1987). *Tumbuhan Berguna Indonesia*. Jakarta: Badan Litbang Kehutanan. 1223-1224, 1627-1628, 1829-1830.
- Hsiu, H. C., Han, D. S., Bhaskar M. P., dan Tian, S. W. (2010). *Potent α -glukosidase inhibitors from the roots of Panax japonicas C.A.Meyer var.major*. *Journal of Phytochemistry*, 71, 11-12.
- Kalaivanan, K., dan Pugalandi, K. (2011). *Antihyperglycemic effect of the alcoholic seed extract of Swietenia macrophylla on streptozotocin-diabetic rats*. 3, 67-71.
- Khanam, M., dan Fauzia, Z. (1991). *Effects of the crude and the n-hexane extract of Nigella sativa Linn. (kalajira) upon diabetic rats*. *A Journal of the Bangladesh Pharmacological Society*, 4, 17-20.
- Khushk, I., Dahot, M.U., Baloach, S.A., dan Bhutto, M.A. (2010). *The Evaluation of Soybean Extracts in Alloxan-Induced Diabetic Rabbits*. Institute of Biotechnology and Genetic Engineering, University of Sindh, Jamshoro, Pakistan. *Sciences Journal*, 8, 22-25.
- Kikkoman. *α -glukosidase (α GLS-SE) from recombinant E.coli*
http://202.239.155.79/bio/j/rinsyou/images/pdf/27_alphaglsse.pdf,
 5 Januari 2011, pk.20.41

- Mandisiswoyo, R. (1975). *Cabe Puyeng Warisan Nenek Moyang*.
- Martihandini, N. (2008). *Telaah Kandungan Kimia Ekstrak N-Heksana Daun Jambu Mete (Anacardium Occidentale L.)*. Department of Pharmacy. Institut Teknologi Bandung.
- Medicinal Herb Index in Indonesia (Indeks Tumbuh-tumbuhan Obat di Indonesia)*. (1995). Jakarta: PT Eisa Indonesia.
- Metrika, D. (2009). *Uji Efektivitas Daun Kaca Piring dan Metformin terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah pada Tikus Jantan Wistar yang Diberi Beban Glukosa*. Tesis. Universitas Diponegoro.
- Ophardt, C.E. (2003). *Mechanism of drug action by enzyme inhibition*. <http://www.elmhurst.edu/chm/chembook/651enzymeinhibit.html>.
- Priyono, D. (1999). *Bahan Pelatihan Pengembangan dan Pemanfaatan Insektisida alami*. Bogor: Pusat kajian pengendalian hama terpadu Institut Pertanian Bogor.
- Riset dan Teknologi Indonesia. (2002). *Inventaris Tanaman Obat Indonesia Jilid 1-5 Seri RISTEK (CD-ROM Melestarikan Warisan Budaya Bangsa Seri ke-1)*. Jakarta: Kementrian Riset dan Teknologi.
- Rodwell, V., Kennelly, P. (2003). *Hormon Pankreas dan Traktus Gastrointestinal dalam Murray R.K., Granner D.K., Mayes P.A., dan Rodwell V.W.*(2003). *Biokimia Harper Edisi 25*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC. 89-93
- Sastroamidjojo, S. (1997). *Obat Asli Indonesia*. Jakarta: Dian Rakyat. 75-76, 101-102.
- Schteingart, D. (2003). *Pankreas: Metabolisme Glukosa san Diabetes Melitus dalam Anderson, S., dan McCarty, L. (2003). Patofisiologi Konsep Klinis Proses-Proses Penyakit Edisi 6 Vol 2*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran. 1261-1263.
- Shoei, S. L., Hsiaou,C., dan Chien, K. (2008). *Acylated flavonol monorhamnosides, α -glukosidase inhibitors, from Machilus philippinensis*. *Journal of Phytochemistry*, 69, 2347-2353.
- Sirait, M. (2007). *Penuntun Fitokimia Dalam Farmasi*. Penerbit ITB Bandung. 54-65, 158-160.

- Sugiwati, S., Setiasi, S., dan Afifah, E. (2009). *Antihyperglycemic activity of the mahkota dewa [Phaleria macrocarpa (scheff.) boerl.] leaf extracts as an alpha-glucosidase inhibitor*. Makara, Kesehatan, 13, 74-78.
- Sundowo, A., Darmawan, A., Fajriah, S., dan Artanti N. (2010). *Aktivitas Antidiabetes dan Toksisitas Beberapa Jenis Benalu*. Pusat Penelitian Kimia-Lembaga Ilmu Penelitian Indonesia, Serpong-Tangerang.
- Swandari, S., Gana A., dan Yulinah, E. (2004). *Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Daun Jati (Tectona grandis L.)*. Skripsi. Sekolah Farmasi ITB.
- The European Agency for The Evaluation of Medicinal Products Veterinary Medicines Evaluation Unit. (1999). *Allium Cepa Summary Report*.
- Trease, G.E. dan Evans, W.C. (1978). *Pharmacognosy 11th edition*. London: Bailliere Tindall. 584-585
- Widowati L., Dzulkarnain B., dan Sa'roni. (1997). *Tanaman Obat untuk Diabetes melitus*. Jakarta: Pusat Penelitian dan Pengembangan Farmasi, Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Departemen Kesehatan RI. Cermin Dunia Kedokteran, 116, 53-60.
- Windono, T. (1987). *Uji Efek Hipoglikemik Fraksi-fraksi yang Mengandung Flavanoid dari Daun Jambu Mete (Anacardium occidentale L.)*. Fakultas Pasca Sarjana Universitas Airlangga.
- WHO Department of Noncommunicable Disease Surveillance Geneva. (1999). *Definition, Diagnosis and Classification of Diabetes mellitus and its Complications. Report of a WHO Consultation Part 1: Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus*.
- World Health Organization. (n.d.). Launch of "Diabetes Action Now". May 5, 2004. <http://www.who.int>





[Sumber: Riset dan Teknologi Indonesia, 2002]
Gambar 2.1. Jambu mete (*Anacardium occidentale* L.)



[Sumber: Riset dan Teknologi Indonesia, 2002]
Gambar 2.2. Pulai (*Alstonia scholaris* (L.) R.Br.)



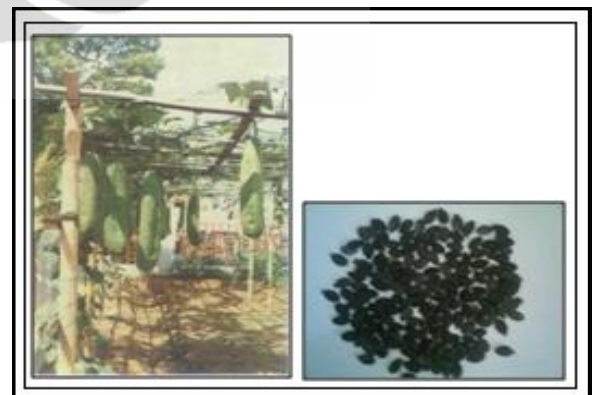
[Sumber: Riset dan Teknologi Indonesia, 2002]
Gambar 2.3. Tapak dara (*Catharanthus roseus* L. G. Don)



[Sumber: Riset dan Teknologi Indonesia, 2002]
Gambar 2.4. Kaca piring (*Ervatamia divaricata* (L.) Burkill)



[Sumber: Riset dan Teknologi Indonesia, 2002]
Gambar 2.5. Sembung (*Blumea balsamifera* (L.) DC)



[Sumber: Riset dan Teknologi Indonesia, 2002]
Gambar 2.6. Oyong (*Luffa cylindrical* (L.) M.J. Roemer)



[Sumber: Riset dan Teknologi Indonesia, 2002]
Gambar 2.7. Gadung (*Dioscorea hispida* Dennst.)



[Sumber: Riset dan Teknologi Indonesia, 2002]
Gambar 2.10. Kedelai (*Glycine max* Merr.)



[Sumber: Riset dan Teknologi Indonesia, 2002]
Gambar 2.8. Kemangi (*Ocimum americanum* L.)



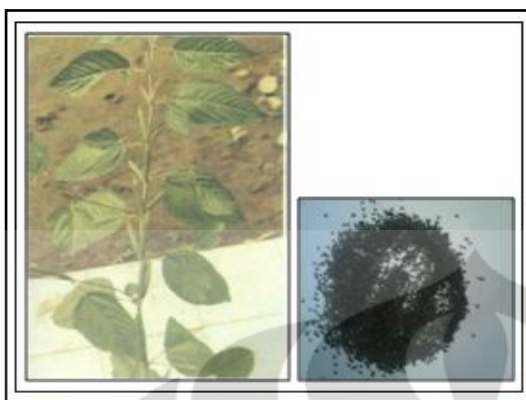
[Sumber: Riset dan Teknologi Indonesia, 2002]
Gambar 2.11. Mahoni (*Swietenia mahagoni* (L.) Jacq.)



[Sumber: Riset dan Teknologi Indonesia, 2002]
Gambar 2.9. Bawang merah (*Allium cepa* L.)



[Sumber: Riset dan Teknologi Indonesia, 2002]
Gambar 2.12. Sendok (*Plantago major* L.)



[Sumber: Riset dan Teknologi Indonesia, 2002]

Gambar 2.13. Jintan hitam (*Nigella sativa* L.)



[Sumber: Riset dan Teknologi Indonesia, 2002]

Gambar 2.14. Ciplukan (*Physalis angulata* L.)

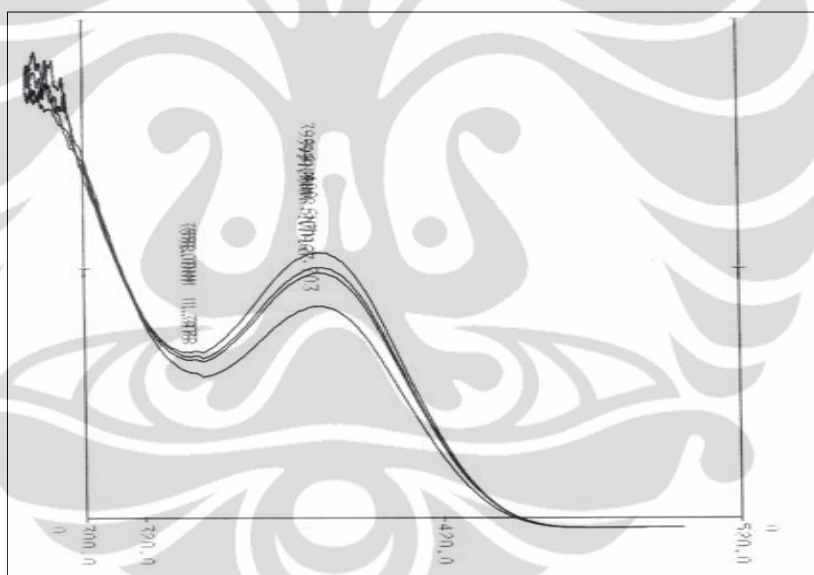


[Sumber: Riset dan Teknologi Indonesia, 2002]

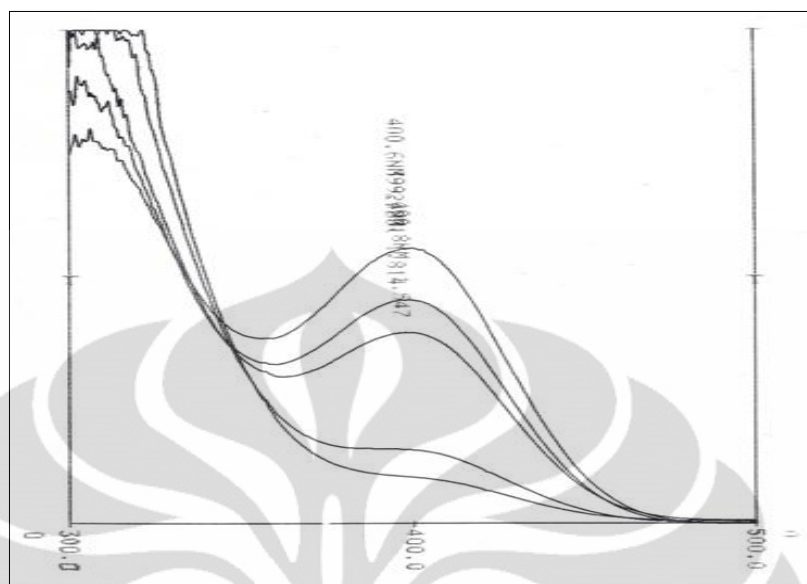
Gambar 2.15. Jati (*Tectona grandis* L.)



Gambar 3.1 Spektrofotometer Shimadzu UV -265



Gambar 4.3. Spektrum serapan aktivitas penghambatan enzim α -glukosidase standar akarbose konsentrasi 4,17; 8,33; 16,7; dan 33,33 ppm.



Gambar 4.4. Spektrum serapan aktivitas penghambatan enzim α -glukosidase ekstrak biji mahoni (*Swietenia mahagoni*) konsentrasi 2,10; 4,19; 8,29; dan 16,58 ppm.



Tabel 4.9. Identifikasi Alkaloid

Nama Simplisia	Pereaksi			Hasil
	Bouchardat	Mayer	Dragendorf	
Daun jambu mete	Tidak mengendap	Tidak mengendap	Tidak mengendap	-
Kulit batang pulai	Endapan coklat hitam	Endapan kuning	Endapan coklat hitam	+
Daun tapak dara	Endapan coklat hitam	Endapan kuning	Endapan coklat hitam	+
Daun sembung	Endapan coklat	Endapan putih	Endapan coklat	+
Biji oyong	Endapan coklat	Endapan putih	Endapan coklat	+
Umbi gadung	Endapan hitam	Endapan kuning	Endapan hitam	+
Herba kemangi	Tidak mengendap	Tidak mengendap	Tidak mengendap	-
Bawang merah	Tidak mengendap	Tidak mengendap	Tidak mengendap	-
Kedelai	Tidak mengendap	Tidak mengendap	Tidak mengendap	-
Biji mahoni	Tidak mengendap	Tidak mengendap	Tidak mengendap	-
Daun sendok	Tidak mengendap	Tidak mengendap	Tidak mengendap	-
Jintan hitam	Tidak mengendap	Tidak mengendap	Tidak mengendap	-
Daun kaca piring	Endapan hitam	Endapan kuning	Endapan jingga coklat	+
Daun ciplukan	Endapan coklat	Endapan kuning	Endapan coklat	+
Daun jati	Tidak mengendap	Tidak mengendap	Tidak mengendap	-

Keterangan: (+) = Terdeteksi
 (-) = Tidak terdeteksi

Tabel 4.10. Identifikasi Flavonoid

Nama Simplisia	Pereaksi			Hasil
	Zn/HCl	Mg/HCl	Fluorosensi	
Daun jambu mete	Merah intensif	Hijau	Kuning	+
Kulit batang pulai	Tidak berwarna	Tidak berwarna	Biru	-
Daun tapak dara	Kuning jingga	Hijau	Kuning	+
Daun sembung	Merah intensif	Hijau	Kuning	-
Biji oyong	Tidak berwarna	Kuning	Biru	-
Umbi gadung	Tidak berwarna	Tidak berwarna	Biru	-
Herba kemangi	Jingga	Kuning hijau	Kuning	+
Bawang merah	Tidak berwarna	Kuning jingga	Kuning	+
Kedelai	Tidak berwarna	Tidak berwarna	Biru	-
Biji mahoni	Tidak berwarna	Tidak berwarna	Biru	-
Daun sendok	Hijau muda	Kuning jingga	Jingga	+
Jintan hitam	Tidak berwarna	Tidak berwarna	Biru	-
Daun kaca piring	Tidak berwarna	Hijau muda	Merah	-
Daun ciplukan	Merah	Hijau	Kuning	+
Daun jati	Tidak berwarna	Hijau	Merah	-

Keterangan: (+) = Terdeteksi
 (-) = Tidak terdeteksi

Tabel 4.11. Identifikasi Tanin

Nama Simplisia	Pereaksi			Hasil
	FeCl ₃	Gelatin	NaCl-Gelatin	
Daun jambu mete	Hijau violet	Endapan putih	Endapan putih	+
Kulit batang pulai	Hijau	Tidak ada endapan	Tidak ada endapan	-
Daun tapak dara	Hijau	Tidak ada endapan	Tidak ada endapan	-
Daun sembung	Hijau violet	Endapan putih	Endapan putih	+
Biji oyong	Tidak berwarna	Tidak ada endapan	Tidak ada endapan	-
Umbi gadung	Coklat	Tidak ada endapan	Tidak ada endapan	-
Herba kemangi	Hijau	Endapan putih	Endapan putih	+
Bawang merah	Coklat	Tidak ada endapan	Tidak ada endapan	-
Kedelai	Tidak berwarna	Tidak ada endapan	Tidak ada endapan	-
Biji mahoni	Tidak berwarna	Tidak ada endapan	Tidak ada endapan	-
Daun sendok	Tidak berwarna	Tidak ada endapan	Tidak ada endapan	-
Jintan hitam	Coklat	Tidak ada endapan	Tidak ada endapan	-
Daun kaca piring	Tidak berwarna	Tidak ada endapan	Tidak ada endapan	-
Daun ciplukan	Hijau	Tidak ada endapan	Tidak ada endapan	-
Daun jati	Hijau violet	Endapan putih	Endapan putih	+

Keterangan: (+) = Terdeteksi
 (-) = Tidak terdeteksi

Tabel 4.12. Identifikasi Saponin

Nama Simplisia	Tinggi busa	Keterangan
Daun jambu mete	2 cm	+
Kulit batang pulai	1,5 cm	+
Daun tapak dara	1,7 cm	+
Daun sembung	1,5 cm	+
Biji oyong	1 cm	+
Umbi gadung	1,2 cm	+
Herba kemangi	1 cm	+
Bawang merah	1 cm	+
Kedelai	1 cm	+
Biji mahoni	1 cm	+
Daun sendok	1,3 cm	+
Jintan hitam	1 cm	+
Daun kaca piring	1,5 cm	+
Daun ciplukan	1,5 cm	+
Daun jati	1 cm	+

Keterangan: (+) = Terdeteksi
 (-) = Tidak terdeteksi

Tabel 4.13. Identifikasi Antrakuinon

Nama Simplisia	Lapisan air	Lapisan benzen	Keterangan
Daun jambu mete	Tidak berwarna	Tidak berwarna	-
Kulit batang pulai	Kuning	Tidak berwarna	-
Daun tapak dara	Kuning	Kuning	-
Daun sembung	Kuning	Kuning	-
Biji oyong	Tidak berwarna	Tidak berwarna	-
Umbi gadung	Coklat	Tidak berwarna	-
Herba kemangi	Kuning	Kuning	-
Bawang merah	Tidak berwarna	Tidak berwarna	-
Kedelai	Tidak berwarna	Tidak berwarna	-
Biji mahoni	Tidak berwarna	Tidak berwarna	-
Daun sendok	Tidak berwarna	Coklat	-
Jintan hitam	Tidak berwarna	Tidak berwarna	-
Daun kaca piring	Tidak berwarna	Kuning	-
Daun ciplukan	Kuning	Kuning	-
Daun jati	Merah intensif	Kuning	+

Keterangan: (+) = Terdeteksi
 (-) = Tidak terdeteksi

Tabel 4.14. Identifikasi Glikosida

Nama Simplisia	Molisch	Lieberman bouchard	Keterangan
Daun jambu mete	Cincin ungu	Coklat	+
Kulit batang pulai	Cincin ungu	Coklat ungu	+
Daun tapak dara	Cincin ungu	Biru ungu	+
Daun sembung	Cincin ungu	Merah	+
Biji oyong	Cincin ungu	Coklat	+
Umbi gadung	Cincin ungu	Hijau hitam	+
Herba kemangi	Cincin ungu	Coklat	+
Bawang merah	Cincin ungu	Merah	+
Kedelai	Cincin ungu	Coklat merah	+
Biji mahoni	Cincin ungu	Coklat merah	+
Daun sendok	Cincin ungu	Merah	+
Jintan hitam	Cincin ungu	Coklat	+
Daun kaca piring	Cincin ungu	Merah	+
Daun ciplukan	Cincin ungu	Merah	+
Daun jati	Cincin ungu	Merah	+

Keterangan: (+) = Terdeteksi
 (-) = Tidak terdeteksi

Tabel 4.15. Identifikasi Terpen

Nama Simplisia	Lieberman bouchard	Keterangan
Daun jambu mete	Hijau	+
Kulit batang pulai	Coklat	-
Daun tapak dara	Hijau	+
Daun sembung	Hijau	+
Biji oyong	Coklat	-
Umbi gadung	Coklat	-
Herba kemangi	Hijau	+
Bawang merah	Kuning	-
Kedelai	Tidak berwarna	-
Biji mahoni	Coklat	-
Daun sendok	Hijau	+
Jintan hitam	Violet	+
Daun kaca piring	Hijau	+
Daun ciplukan	Hijau	+
Daun jati	Hijau	+

Keterangan: (+) = Terdeteksi
 (-) = Tidak terdeteksi

Tabel 4.16. Aktivitas Penghambatan enzim α -glukosidase Akarbose (Standar)

Konsentrasi Sampel (ppm)	Serapan								% Inhibisi	IC 50 (ppm)
	Kontrol Sampel (a)	Sampel (b)	b - a	Serapan Sampel rata-rata	Kontrol Blanko (c)	Blanko (d)	d - c	Serapan Blanko rata-rata		
4,17	0,016	2,444	2,428	2,425	0,014	2,537	2,523	2,530	4,15	117,06
	0,019	2,441	2,422							
8,33	0,019	2,398	2,379	2,381	0,014	2,537	2,523	2,530	5,89	
	0,017	2,401	2,384							
16,70	0,021	2,264	2,243	2,246	0,014	2,551	2,537	2,530	11,22	
	0,018	2,267	2,249							
33,33	0,018	2,153	2,135	2,131	0,014	2,551	2,537	2,530	15,77	
	0,021	2,149	2,128							

Tabel 4.17. Aktivitas penghambatan enzim α -glukosidase ekstrak daun jambu mete

Konsentrasi Sampel (ppm)	Serapan								% Inhibisi	IC 50 (ppm)
	Kontrol Sampel (a)	Sampel (b)	b - a	Serapan Sampel rata-rata	Kontrol Blanko (c)	Blanko (d)	d - c	Serapan Blanko rata-rata		
4,17	0,021	2,022	2,001	2,077	0,002	2,734	2,732	2,796	25,72	9,11
	0,029	2,182	2,153							
8,33	0,032	1,583	1,551	1,461	0,002	2,734	2,732	2,796	47,75	
	0,029	1,400	1,371							
16,70	0,054	0,312	0,258	0,267	0,003	2,863	2,860	2,796	90,43	
	0,055	0,278	0,223							
33,33	0,099	0,112	0,013	0,007	0,003	2,863	2,860	2,796	99,73	
	0,110	0,112	0,002							

Tabel 4.18. Aktivitas penghambatan enzim α -glukosidase ekstrak pulai

Konsentrasi Sampel (ppm)	Serapan							% Inhibisi	IC 50 (ppm)
	Kontrol Sampel (a)	Sampel (b)	b - a	Serapan Sampel rata-rata	Kontrol Blanko (c)	Blanko (d)	d - c		
4,18	0,025	2,468	2,443	2,448	0,011	2,501	2,490	2,516	319,08
	0,022	2,474	2,452						
8,36	0,031	2,471	2,440	2,404					
	0,029	2,389	2,369						
16,72	0,048	2,506	2,458	2,373	0,015	2,557	2,542	2,516	319,08
	0,049	2,337	2,288						
33,43	0,044	2,267	2,223	2,329					
	0,045	2,480	2,435						

Tabel 4.19. Aktivitas penghambatan enzim α -glukosidase ekstrak daun tapak dara

Konsentrasi Sampel (ppm)	Serapan							% Inhibisi	IC 50 (ppm)
	Kontrol Sampel (a)	Sampel (b)	b - a	Serapan Sampel rata-rata	Kontrol Blanko (c)	Blanko (d)	d - c		
4,15	0,034	2,399	2,365	2,412	0,014	2,565	2,551	2,596	36,08
	0,033	2,493	2,460						
8,31	0,048	2,201	2,153	2,161					
	0,047	2,217	2,170						
16,62	0,089	2,230	2,141	2,124	0,012	2,653	2,641	2,596	36,08
	0,089	2,196	2,107						
33,23	0,165	1,609	1,444	1,348					
	0,149	1,401	1,252						

Tabel 4.20. Aktivitas penghambatan enzim α -glukosidase ekstrak kaca piring

Konsentrasi Sampel (ppm)	Serapan							% Inhibisi	IC 50 (ppm)
	Kontrol Sampel (a)	Sampel (b)	b - a	Serapan Sampel rata-rata	Kontrol Blanko (c)	Blanko (d)	d - c		
4,19	0,025	2,607	2,582	2,562	0,013	2,672	2,659	2,662	137,29
	0,021	2,563	2,542						
8,38	0,027	2,453	2,426	2,365					
	0,027	2,277	2,304						
16,77	0,047	2,444	2,397	2,316	0,018	2,684	2,666	2,662	
	0,045	2,281	2,236						
33,53	0,081	2,328	2,247	2,252					
	0,065	2,322	2,257						

Tabel 4.21. Aktivitas penghambatan enzim α -glukosidase ekstrak daun sembung

Konsentrasi Sampel (ppm)	Serapan							% Inhibisi	IC 50 (ppm)
	Kontrol Sampel (a)	Sampel (b)	b - a	Serapan Sampel rata-rata	Kontrol Blanko (c)	Blanko (d)	d - c		
4,18	0,050	2,440	2,390	2,376	0,018	2,528	2,510	2,505	28,01
	0,049	2,412	2,363		0,019	2,520	2,501		
8,34	0,075	2,221	2,146	2,149	0,014	2,565	2,551	2,596	
	0,076	2,228	2,152						
16,68	0,128	1,743	1,615	1,574					
	0,126	1,659	1,533						
33,37	0,203	1,300	1,097	1,158	0,012	2,653	2,641	2,596	
	0,204	1,424	1,220						

Tabel 4.22. Aktivitas penghambatan enzim α -glukosidase ekstrak biji oyong

Konsentrasi Sampel (ppm)	Serapan							% Inhibisi	IC 50 (ppm)
	Kontrol Sampel (a)	Sampel (b)	b - a	Serapan Sampel rata-rata	Kontrol Blanko (c)	Blanko (d)	d - c		
4,14	0,019	2,323	2,304	2,251	0,012	2,636	2,624	2,638	14,67
	0,019	2,217	2,198						
8,28	0,018	1,786	1,768	1,710	0,014	2,667	2,653	2,638	35,18
	0,018	1,635	1,653						
16,57	0,026	1,421	1,395	1,209	0,014	2,667	2,653	2,638	72,96
	0,024	1,048	1,024						
33,13	0,049	0,495	0,446	0,535	0,014	2,667	2,653	2,638	89,87
	0,045	0,669	0,624						

Tabel 4.23. Aktivitas penghambatan enzim α -glukosidase ekstrak umbi gadung

Konsentrasi Sampel (ppm)	Serapan							% Inhibisi	IC 50 (ppm)
	Kontrol Sampel (a)	Sampel (b)	b - a	Serapan Sampel rata-rata	Kontrol Blanko (c)	Blanko (d)	d - c		
4,15	0,020	2,664	2,644	2,651	0,011	2,734	2,723	2,710	2,18
	0,024	2,682	2,658						
8,31	0,017	2,512	2,495	2,516	0,011	2,709	2,698	2,710	7,16
	0,017	2,554	2,537						
16,62	0,025	1,675	1,650	1,620	0,011	2,709	2,698	2,710	40,22
	0,022	1,613	1,591						
33,23	0,025	0,957	0,932	1,041	0,011	2,709	2,698	2,710	61,59
	0,027	1,177	1,150						

Tabel 4.24. Aktivitas penghambatan enzim α -glukosidase ekstrak herba kemangi

Konsentrasi Sampel (ppm)	Serapan							% Inhibisi	IC 50 (ppm)
	Kontrol Sampel (a)	Sampel (b)	b - a	Serapan Sampel rata-rata	Kontrol Blanko (c)	Blanko (d)	d - c		
4,17	0,036	2,681	2,645	2,675	0,014	2,733	2,719	2,711	80,78
	0,034	2,739	2,705						
8,34	0,027	2,634	2,607	2,644					
	0,026	2,707	2,681						
16,68	0,058	2,534	2,476	2,504	0,013	2,716	2,703	2,711	80,78
	0,057	2,589	2,532						
33,37	0,080	2,219	2,139	2,176					
	0,080	2,294	2,214						

Tabel 4.25. Aktivitas penghambatan enzim α -glukosidase ekstrak bawang merah

Konsentrasi Sampel (ppm)	Serapan							% Inhibisi	IC 50 (ppm)
	Kontrol Sampel (a)	Sampel (b)	b - a	Serapan Sampel rata-rata	Kontrol Blanko (c)	Blanko (d)	d - c		
4,20	0,020	2,614	2,594	2,573	0,059	2,651	2,592	2,585	50,58
	0,019	2,571	2,552						
8,39	0,026	2,362	2,336	2,288					
	0,024	2,265	2,241						
16,78	0,017	2,117	2,100	2,111	0,015	2,593	2,578	2,585	50,58
	0,019	2,141	2,122						
33,57	0,027	1,809	1,782	1,758					
	0,030	1,764	1,734						

Tabel 4. 26. Aktivitas penghambatan enzim α -glukosidase ekstrak kedelai

Konsentrasi Sampel (ppm)	Serapan							% Inhibisi	IC 50 (ppm)
	Kontrol Sampel (a)	Sampel (b)	b - a	Serapan Sampel rata-rata	Kontrol Blanko (c)	Blanko (d)	d - c		
4,14	0,016	2,522	2,506	2,580	0,015	2,629	2,614	2,620	6.645,97
	0,015	2,670	2,655						
8,28	0,020	2,595	2,575	2,578					
	0,018	2,600	2,582						
16,57	0,016	2,556	2,540	2,579	0,012	2,638	2,626	2,620	
	0,017	2,635	2,618						
33,13	0,024	2,665	2,641	2,574					
	0,025	2,533	2,508						

Tabel 4.27. Aktivitas penghambatan enzim α -glukosidase ekstrak biji mahoni

Konsentrasi Sampel (ppm)	Serapan							% Inhibisi	IC 50 (ppm)			
	Kontrol Sampel (a)	Sampel (b)	b - a	Serapan Sampel rata-rata	Kontrol Blanko (c)	Blanko (d)	d - c			Serapan Blanko rata-rata		
2,10	0,012	2,038	2,026	1,971	0,015	2,553	2,518	2,573	7,03			
	0,012	1,928	1,916									
4,19	0,013	1,869	1,856	1,754								
	0,012	1,664	1,652									
8,29	0,013	0,649	0,636	0,652	0,018	2,520	2,502	2,505				
	0,013	0,681	0,668									
16,58	0,013	0,497	0,484	0,404					0,019	2,528	2,509	2,505
	0,016	0,341	0,325									

Tabel 4.28. Aktivitas penghambatan enzim α -glukosidase ekstrak daun sendok

Konsentrasi Sampel (ppm)	Serapan								% Inhibisi	IC 50 (ppm)
	Kontrol Sampel (a)	Sampel (b)	b - a	Serapan Sampel rata-rata	Kontrol Blanko (c)	Blanko (d)	d - c	Serapan Blanko rata-rata		
4,18	0,022	2,377	2,355	2,371	0,016	2,367	2,351	2,424	1.173,17	
	0,020	2,408	2,388							
8,36	0,039	2,428	2,389	2,369						
	0,030	2,380	2,350							
16,72	0,040	2,393	2,352	2,356	0,016	2,514	2,498			
	0,039	2,399	2,360							
33,43	0,072	2,390	2,318	2,343						
	0,060	2,429	2,369							

Tabel 4.29. Aktivitas penghambatan enzim α -glukosidase ekstrak jinten hitam

Konsentrasi Sampel (ppm)	Serapan								% Inhibisi	IC 50 (ppm)
	Kontrol Sampel (a)	Sampel (b)	b - a	Serapan Sampel rata-rata	Kontrol Blanko (c)	Blanko (d)	d - c	Serapan Blanko rata-rata		
4,16	0,042	2,696	2,654	2,571	0,012	2,537	2,525	2,578	144,13	
	0,033	2,522	2,489							
8,32	0,031	2,654	2,623	2,562						
	0,032	2,534	2,502							
16,63	0,056	2,545	2,489	2,462	0,017	2,649	2,632			
	0,048	2,484	2,436							
33,27	0,072	2,376	2,304	2,315						
	0,075	2,401	2,326							

Tabel 4.30. Aktivitas penghambatan enzim α -glukosidase ekstrak daun ciplukan

Konsentrasi Sampel (ppm)	Serapan								% Inhibisi	IC 50 (ppm)
	Kontrol Sampel (a)	Sampel (b)	b - a	Serapan Sampel rata-rata	Kontrol Blanko (c)	Blanko (d)	d - c	Serapan Blanko rata-rata		
4,15	0,018	2,743	2,725	2,701	0,013	2,737	2,724	2,723	0,81	55,89
	0,021	2,699	2,678							
8,29	0,030	2,615	2,585	2,578						
	0,034	2,606	2,572							
16,58	0,045	2,603	2,558	2,579	0,011	2,734	2,723	5,29		
	0,051	2,652	2,601							
33,17	0,085	2,020	1,935	1,907						
	0,083	1,963	1,880							

Tabel 4.31. Aktivitas penghambatan enzim α -glukosidase ekstrak daun jati

Konsentrasi Sampel (ppm)	Serapan								% Inhibisi	IC 50 (ppm)
	Kontrol Sampel (a)	Sampel (b)	b - a	Serapan Sampel rata-rata	Kontrol Blanko (c)	Blanko (d)	d - c	Serapan Blanko rata-rata		
4,18	0,038	2,664	2,626	2,529	0,014	2,667	2,653	2,625	3,66	87,38
	0,038	2,471	2,433							
8,36	0,057	2,371	2,314	2,443						
	0,053	2,590	2,537							
16,72	0,092	2,349	2,257	2,320	0,015	2,612	2,597	11,62		
	0,090	2,474	2,384							
33,43	0,162	2,219	2,057	2,098						
	0,159	2,299	2,140							

Tabel 4.32. Data Kinetika Inhibisi Enzim Sampel

Konsentrasi Substrat (S)	Absorbansi Sampel (V)							
	2,08 ppm				4,17 ppm			
	Kontrol Sampel (a)	Sampel (b)	b-a	Serapan Sampel rata-rata	Kontrol Sampel (a)	Sampel (b)	b-a	Serapan Sampel rata-rata
20 mM	0,084	2,111	2,027	2,058	0,086	1,867	1,781	1,987
	0,084	2,138	2,090		0,087	2,278	2,191	
10 mM	0,037	2,138	2,101	2,096	0,038	1,669	1,631	1,646
	0,038	2,129	2,091		0,038	1,700	1,662	
5 mM	0,021	1,839	1,818	1,903	0,023	1,527	1,504	1,273
	0,021	2,010	1,989		0,021	1,063	1,042	
2,5 mM	0,008	1,188	1,118	1,228	0,016	0,916	0,900	1,039
	0,009	1,286	1,277		0,014	1,193	1,179	
1,25 mM	0,007	0,866	1,859	0,876	0,010	0,431	0,421	0,548
	0,005	0,899	0,894		0,010	0,686	0,676	

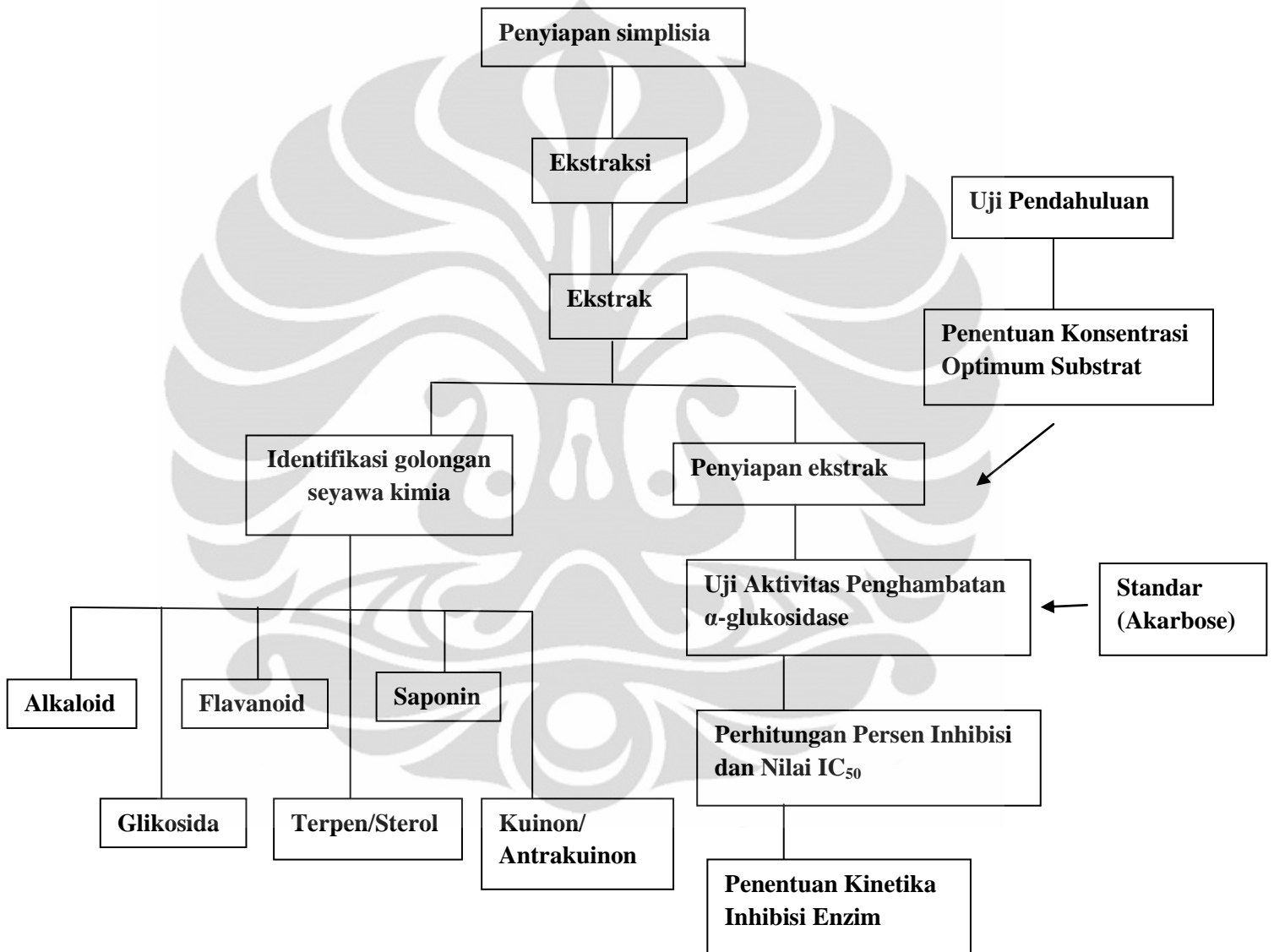
Konsentrasi Substrat (S)	Absorbansi Sampel (V)							
	8,33 ppm				16,67 ppm			
	Kontrol Sampel (a)	Sampel (b)	b-a	Serapan Sampel rata-rata	Kontrol Sampel (a)	Sampel (b)	b-a	Serapan Sampel rata-rata
20 mM	0,091	1,296	1,205	1,209	0,091	0,832	0,741	0,722
	0,089	1,303	1,214		0,096	0,800	0,704	
10 mM	0,039	0,999	0,960	0,927	0,039	0,450	0,411	0,393
	0,039	0,933	0,894		0,054	0,430	0,376	
5 mM	0,025	0,517	0,492	0,619	0,031	0,309	0,278	0,263
	0,025	0,771	0,746		0,029	0,278	0,249	
2,5 mM	0,019	0,241	0,222	0,210	0,023	0,170	0,147	0,138
	0,021	0,219	0,198		0,018	0,147	0,129	
1,25 mM	0,012	0,196	0,184	0,169	0,014	0,100	0,086	0,086
	0,012	0,166	0,154		0,016	0,103	0,087	

Tabel 4.33. Data Kinetika Inhibisi Enzim Blanko


Konsentrasi Substrat (S)	Absorbansi Blanko (V)			
	Blanko			
	Kontrol Blanko (a)	Blanko (b)	b-a	Serapan Blanko rata-rata
20 mM	0,069	2,397	2,328	2,325
	0,072	2,395	2,323	
10 mM	0,050	2,358	2,308	2,360
	0,043	2,456	2,413	
5 mM	0,021	2,363	2,342	2,336
	0,021	2,351	2,330	
2,5 mM	0,007	1,904	1,897	1,876
	0,005	1,861	1,856	
1,25 mM	0,004	1,455	1,451	1,419
	-0,004	1,388	1,392	



Lampiran 1. Skema Kerja



Lampiran 2. Hasil Identifikasi tanaman



LEMBAGA ILMU PENGETAHUAN INDONESIA
(Indonesian Institute of Sciences)
PUSAT PENELITIAN BIOLOGI
(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, 17 Maret 2011

Nomor : 337/IPH.1.02/If.8/III/2011
Lampiran : -
Perihal : Hasil identifikasi/determinasi Tumbuhan

Kepada Yth.
Bpk./Ibu/Sdr(i). Maya Masitha
Mhs. Univ. Indonesia

Dengan hormat,

Bersama ini kami sampaikan hasil identifikasi/determinasi tumbuhan yang Saudara kirimkan ke "Herbarium Bogoriense", Bidang Botani Pusat Penelitian Biologi-LIPI Bogor, adalah sebagai berikut :

No.	No. Kol.	Jenis	Suku
1	Daun Tapak Dara	<i>Catharanthus roseus</i> (L.) G.Don	Apocynaceae
2	Daun Jambu Mete	<i>Anacardium occidentale</i> L.	Anacardiaceae
3	Daun Jati	<i>Tectona grandis</i> L.	Verbenaceae
4	Daun Sendok	<i>Plantago major</i> L.	Plantaginaceae
5	Daun Kaca Piring	<i>Ervatamia divaricata</i> (L.) Burkill	Apocynaceae
6	Daun Ciplukan	<i>Physalis angulata</i> L.	Solanaceae
7	Umbi Gadung	<i>Dioscorea hispida</i> Dennst.	Dioscoreaceae
8	Kedelai	<i>Glycine max</i> Merr.	Fabaceae
9	Oyong	<i>Luffa cylindrical</i> (L.) M.J.Roemer	Cucurbitaceae
10	Bawang Merah	<i>Allium cepa</i> L.	Liliaceae
11	Kemangi	<i>Ocimum americanum</i> L.	Lamiaceae
12	Jinten Hitam	<i>Nigella sativa</i> L.	Ranunculaceae
13	Mahoni	<i>Swietenia mahagoni</i> (L.) Jacq.	Meliaceae

J:\Ident 2011\Maya Masitha.doc\DG-DG

Page 1 of 2

14	Pulai	<i>Alstonia scholaris</i> (L.) R.Br.	Apocynaceae
15	Daun Sembung	<i>Blume balsamifera</i> (L.) DC.	Asteraceae
16	Daun Meniran	<i>Phyllanthus urinaria</i> L.	Euphorbiaceae

Demikian, semoga berguna bagi Saudara.



Kepala Bidang Botani
Pusat Penelitian Biologi-LIPI,

[Handwritten signature]
Prof. Dr. Eko Baroto Walujo
NIP. 195111041975011001