



UNIVERSITAS INDONESIA

**PEMBUATAN *NANOFOOD* MAHKOTA DEWA MENGGUNAKAN
PENYALUT *CASEIN MICELLE***

SKRIPSI

Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh Sarjana Teknik

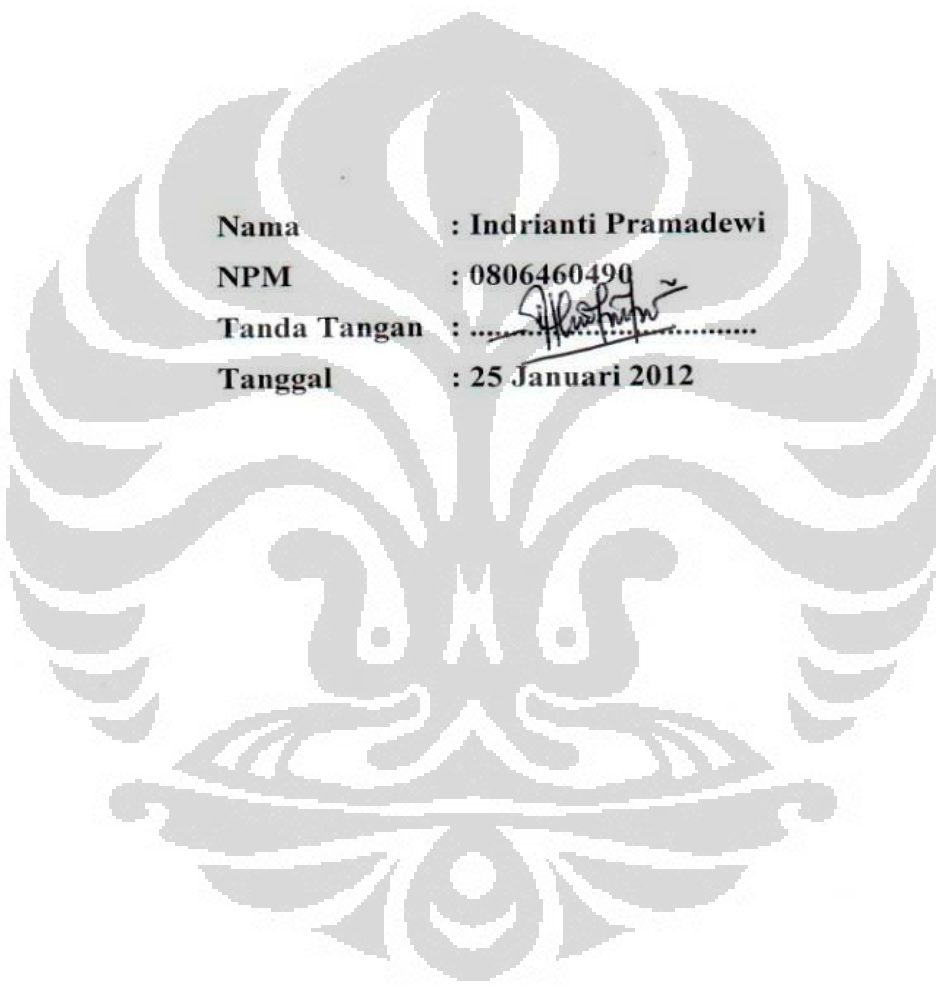
INDRIANTI PRAMADEWI

0806460490

**FAKULTAS TEKNIK
PROGRAM STUDI TEKNOLOGI BIOPROSES
DEPOK
JANUARI 2012**

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

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



Nama : Indrianti Pramadewi
NPM : 0806460490
Tanda Tangan :
Tanggal : 25 Januari 2012

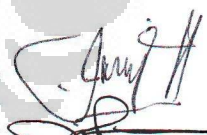


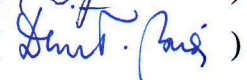
HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh :

Nama : Indrianti Pramadewi
NPM : 0806460490
Program Studi : Teknologi Bioproses
Judul Skripsi : Pembuatan *Nanofood* Mahkota Dewa menggunakan
Penyalut *Casein Micelle*

Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Sarjana Teknik pada Program Studi Teknologi Bioproses, Fakultas Teknik, Universitas Indonesia

DEWAN PENGUJI

Pembimbing : Dr. Eng. Muhamad Sahlan, S. Si., M. Eng ()
Penguji 1 : Dr. Ing. Misri Gozan, M. Tech ()
Penguji 2 : Dianursanti, S.T., M.T ()
Penguji 3 : Ir. Dewi Trisnantini, MT, PhD ()

Ditetapkan di : Depok

Tanggal : 24 Januari 2012

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT atas karunia-Nya, penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “**Pembuatan *Nanofood* Mahkota Dewa menggunakan Penyalut *Casein Micelle***” sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar Sarjana Teknik pada Departemen Teknik Kimia Fakultas Teknik Universitas Indonesia.

Penulis menyadari bahwa, tanpa bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak, sangatlah sulit bagi penulis untuk menyelesaikan skripsi ini. Oleh karena itu, penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

- (1) Dr. Eng. Muhamad Sahlan, S. Si., M. Eng., selaku dosen pembimbing yang telah menyediakan waktu, tenaga, dan pikiran untuk mengarahkan dalam penyusunan penulisan ini;
- (2) Kedua orang tua penulis yang selalu memberikan semangat serta mendoakan kelancaram penulisan;
- (3) Prof. Dr. Ir. Widodo Wahyu Purwanto, DEA selaku Ketua Departemen Teknik Kimia FTUI dan Ir. Yuliusman M.Eng selaku kordinator mata kuliah spesial;
- (4) Para dosen Departemen Teknik Kimia FTUI yang telah memberikan ilmu dan wawasannya;
- (5) Rekan satu bimbingan dan teman-teman yaitu Dara Dienayati, Darul Hamdi, Desi Anggarawati, Destya Nilawati, Dini Asyifa, Ester Kristin, Ira Trisnawati, Mariatul Qibthiyah, Merisa Bestari Faiz, Mirza Akbar Maulana, Muhammad Iqbal Nugraha, Nadia Chrisayu Natasha, Nindya Sani Widhyastuti, Nirwanto Honsono, Nurhafizah Putri, Pauline Leon Artha, Prima Angraini, Republik Daudi Parthu, dan Yongki Suharya yang sudah membantu dalam pencarian sumber dan saling bertukar wawasan serta informasi yang ada;
- (6) Semua pihak yang telah membantu penyusunan skripsi ini secara langsung maupun tidak langsung;

Depok, 24 Januari 2012

Indrianti Pramadewi

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

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

Nama : Indrianti Pramadewi
NPM : 0806460490
Program Studi : Teknologi Bioproses
Departemen : Teknik Kimia
Fakultas : Teknik
Jenis Karya : Skripsi

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

**PEMBUATAN *NANOFOOD* MAHKOTA DEWA MENGGUNAKAN
PENYALUT *CASEIN MICELLE***

Beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksektif ini Universitas Indonesia berhak menyimpan, mengalih media/formatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (database), merawat, dan mempublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Depok

Pada tanggal : 25 Januari 2012

Yang menyatakan



(Indrianti Pramadewi)

ABSTRAK

Nama : Indrianti Pramadewi
Program Studi : Teknologi Bioproses
Judul : Pembuatan *Nanofood* Mahkota Dewa menggunakan Penyalut
Casein Micelle

Mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) merupakan salah satu tanaman Indonesia yang memiliki fungsi antihiperlikemik serta kandungan bioaktif lainnya. Namun, didalam pengembangan produk mahkota dewa tersebut diperlukan ekstrak mahkota dewa yang berkualitas tinggi.

Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari metode pengemasan ekstrak mahkota dewa menjadi produk nanopartikel dengan fungsi antihiperlikemik, yaitu sebagai inhibitor α -glukosidase. Pembuatan nanopartikel mahkota dewa diharapkan dapat memberikan nilai lebih terhadap produk mahkota dewa serta memaksimalkan proses pengantaran obat ke dalam molekul target.

Ekstrak Mahkota Dewa dapat dibuat menjadi produk nanofood dengan penyalut *casein micelle*. Efisiensi penyalutan mahkota dewa oleh *casein micelle* untuk senyawa flavonoid 42% sedangkan untuk senyawa karbohidrat 0%, ini menandakan kapasitas penyerapan kasein telah maksimal terisi oleh flavonoid dengan kapasitas senyawa flavonoid yang tersalut dalam kasein sebesar 3239,69 μg per 3 mL. Produk nanofood mahkota dewa yang terbentuk memiliki ukuran partikel yang fluktuatif dengan perbedaan nilai yang cukup jauh yaitu 99,4 nm dan 119,9 nm dan rata-rata ukuran partikelnya yaitu 109,65 nm. Aktivitas antihiperlikemik dari ekstrak daun mahkota dewa bekerja efektif dalam menghambat enzim α -glukosidase.

Kata kunci: antihiperlikemik, mahkota dewa, nanopartikel.

ABSTRACT

Name : Indrianti Pramadewi
Study Program : Bioprocess Engineering
Title : Production Nanofood Mahkota Dewa By Encapsulation Casein
Micelle

Mahkota Dewa is one of the endemic plants in Indonesia which has Antihyperglycemic function and the other bioactive substances. However, in the product development of Mahkota Dewa, it is required the high quality of the Mahkota Dewa extract.

This research aim to study the packaging method of Mahkota Dewa extract to be a nanoparticle product with the antihyperglycemic function, in example *α-glukosidase* inhibitor. The nanoparticle process of Mahkota Dewa is expected to provide more value to Mahkota Dewa product as well to maximize delivery process of the drug into the target molecules.

Extracts Mahkota Dewa could be made into nanofood products by using the coated of casein micelle. The coating efficiency of Mahkota Dewa by the casein micelle is 42% for flavonoid, while 0% is for carbohydrates compounds, this indicates the maximum absorption capacity of casein has been filled by flavonoids by the coated flavonoid compounds in casein at 3239,69 µg per 3 ml. The formed nanofood products of Mahkota Dewa have a fluctuating particle size with the difference value around 99.4 nm and 119.9 nm and those average particle size are 109,65 nm. Antihyperglycemic activity of leaf extract is effective in the Mahkota Dewa inhibition of *α-glukosidase* enzyme.

Keywords: antihyperglycemic, Mahkota Dewa, nanoparticle.

DAFTAR ISI

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
KATA PENGANTAR	iv
HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI TUGAS AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS	iv
ABSTRAK.....	vi
ABSTRACT	vii
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL.....	xii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Perumusan Masalah.....	2
1.3. Tujuan Penelitian.....	2
1.4. Batasan Masalah.....	3
1.5. Sistematika Penulisan.....	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	4
2.1. Susu.....	4
2.1.1. Manfaat Susu.....	4
2.1.2. Jenis-jenis Susu.....	5
2.1.3. Kandungan dalam susu.....	6
2.1.3.1. Kasein sebagai nano-carrier.....	8
2.2. Mahkota Dewa.....	9
2.2.1. Klasifikasi dan morfologi dari mahkota dewa.....	9
2.2.2. Manfaat kandungan kimia tanaman mahkota dewa.....	10
2.2.3. Metode ekstraksi mahkota dewa.....	10
2.3. Diabetes.....	11
2.3.1. Jenis-jenis Diabetes.....	12
2.3.2. Pengobatan Diabetes.....	14

2.3.3.	Antihyperglycemic	15
2.4.	Analisis Sampel	16
2.4.1.	Spektrofotometri UV-Visible	16
2.4.2.	Pengukuran Total Flavonoid	17
2.4.3.	Pengukuran Total Karbohidrat	17
2.4.4.	Pengukuran Distribusi Ukuran Partikel Nano	18
2.5.	<i>Mapping</i> Penelitian	19
BAB III METODOLOGI PENELITIAN.....		21
3.1.	Rancangan Penelitian.....	21
3.2.	Waktu dan Lokasi Penelitian	21
3.3.	Sampel Penelitian	22
3.4.	Alat dan Bahan Penelitian	22
3.4.1.	Alat Penelitian	22
3.4.2.	Bahan Penelitian.....	23
3.5.	Variabel Penelitian.....	24
3.5.1.	Variabel Bebas	24
3.5.2.	Variabel Terikat.....	24
3.5.3.	Variabel Kontrol.....	24
3.6.	Pelaksanaan Penelitian.....	25
3.6.1.	Ekstraksi Kasein dari susu sapi lokal	25
3.6.2.	Pembuatan ekstraksi daun mahkota dewa	25
3.6.3.	Penyalutan ekstrak daun mahkota dewa dengan miselia kasein	26
3.6.4.	Pengujian antihyperglycemic sebagai inhibitor α -glukosidase.....	28
3.6.5.	Metode Analisis.....	29
3.6.5.1.	Analisis ekstrak mahkota dewa	29
3.6.5.2.	Analisis fungsi antihyperglycemic.....	30
3.6.5.3.	Analisis ukuran partikel nano	30
BAB IV PEMBAHASAN DAN ANALISIS		32
4.1.	Ekstraksi daun mahkota dewa	32
4.2.	Hasil Pengujian Aktivitas Antihyperglycemic.....	33
4.3.	Ekstraksi kasein	36
4.4.	Penyalutan Ekstrak Daun Mahkota Dewa dengan Kasein	37

4.5. Hasil Pengujian Efisiensi Penyalutan	39
4.6. Hasil Pengukuran Distribusi Partikel.....	41
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	43
DAFTAR PUSTAKA	44
LAMPIRAN A Penentuan Kadar Flavonoid.....	48
LAMPIRAN B Penentuan Kadar Karbohidrat	49
LAMPIRAN C Penentuan Kadar Polifenol.....	50
LAMPIRAN D Hasil Pengujian Aktivitas Antihiperglikemik.....	51
LAMPIRAN E Hasil Pengukuran Distribusi Partikel Menggunakan <i>Particle Size Analyzer</i> (PSA)	52
LAMPIRAN F Hasil Pengukuran Distribusi Partikel Menggunakan <i>Particle Size Analyzer</i> (PSA)	53



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1. Susu sapi hasil perahan.....	4
Gambar 2.2. Gambar struktur miselia kasein	8
Gambar 2.3. Tanaman mahkota dewa	9
Gambar 2.4. Mekanisme inhibisi α -glukosidase	16
Gambar 2.5. Alat <i>Particle Size Analyzer</i> (PSA) Delta™ Nano C	19
Gambar 3.1. Diagram alir penelitian pembuatan nanopartikel mahkota dewa	21
Gambar 3.2. Diagram Alir Proses Ekstraksi Kasein	25
Gambar 3.3. Diagram Alir Ekstraksi Daun Mahkota Dewa.....	26
Gambar 3.4. Diagram Alir Penyalutan Ekstrak Daun Mahkota Dewa dengan Kasein	27
Gambar 3.5. Diagram Alir Uji Aktivitas Antihiperqlikemik	28
Gambar 4.1. Larutan hasil proses ekstraksi awal daun mahkota dewa, (a) Larutan hasil maserasi daun mahkota dewa dengan metanol (b) fraksi metanol kental	33
Gambar 4.2. Larutan hasil penambahan etil asetat dan air: (a) fraksi etil asetat (b) fraksi air	33
Gambar 4.3. Reaksi yang terjadi antara enzim (E), substrat (S), dan inhibitor (I)	34
Gambar 4.4. Reaksi enzimatik antara enzim α -glukosidase dengan substrat <i>p</i> -nitrofenil α -D-glukopiranoside	35
Gambar 4.6. Aktivitas antihiperqlikemik dalam menginhibisi enzim α -glukosidase	36
Gambar 4.7. Bahan yang digunakan dalam proses ekstraksi kasein: (a) larutan susu sapi (b) rennet untuk pembentukan kasein.....	37
Gambar 4.8. Endapan kasein yang terbentuk dalam larutan susu sapi.....	37
Gambar 4.9. Hasil proses penyalutan, (a) supernatan hasil sentrifugasi (<i>supernatan</i>) (b) nano mahkota dewa dalam buffer fosfat	38
Gambar 4.10. Proses yang terjadi selama pembuatan nanopartikel mahkota dewa dengan menggunakan penyalut <i>casein micelle</i>	39

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1. Komposisi rata-rata dari nutrisi dasar dalam susu sapi, domba, kambing, dan manusia	7
Tabel 2.2. Daftar negara-negara dengan estimasi nilai terbesar dari penyakit diabetes untuk tahun 2000 dan 2030	12
Tabel 2.3. Perbedaan farmakologi di antara agen antidiabetes oral	15
Tabel 2.4. <i>State of The Art</i> pembuatan nanopartikel dan ruang lingkup penelitian yang akan dilaksanakan	20
Tabel 3.1. Alat yang digunakan.....	22
Tabel 3.2. Alat yang digunakan (Lanjutan).....	23
Tabel 3.3. Bahan yang digunakan	23
Tabel 3.4. Bahan yang digunakan (Lanjutan)	24
Tabel 4.1. Data aktivitas antihiperlikemik	35
Tabel 4.2. Data hasil pengukuran spektrometri.....	40

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Indonesia merupakan salah satu negara dengan jumlah absolut penderita DM tertinggi di dunia (Pinzon, 2011). Berdasarkan data negara-negara dengan estimasi nilai terbesar dari penyakit diabetes, Indonesia menempati posisi keempat (Wild *et al.*, 2004). Menurut Pinzon (2011), peningkatan prevalensi DM tidak dapat dipisahkan dari pola konsumsi makan dan gaya hidup. Penyakit diabetes yang biasa terjadi adalah diabetes tipe 2 (NDIC, 2008) dan pengobatan yang dilakukan untuk mengobati diabetes tipe 2 biasanya dengan menggunakan injeksi insulin (Community, 2011) ataupun pemberian obat anti-diabetes oral seperti inhibisi α -glukosidase (Sugiwati *et al.*, 2009). Pengobatan dengan menggunakan proses inhibisi α -glukosidase merupakan pengobatan dengan mekanisme aksi sederhana dan lebih murah dibandingkan penggunaan insulin (Koda-Kimble, 2008). Proses inhibisi α -glukosidase berhubungan dengan antihiperqlikemik yang terkandung dalam tanaman herbal, salah satu tanaman herbal dengan khasiat antihiperqlikemik adalah mahkota dewa (Sugiwati *et al.*, 2009).

Penelitian ini bertujuan untuk mengembangkan mahkota dewa menjadi obat modern untuk mengobati DM lebih cepat dengan membentuknya menjadi nanopartikel menggunakan kasein sebagai *nano-carrier/nano-deliver* dari ekstrak mahkota dewa. Protein susu (kasein) berfungsi sebagai *nano-delivery system* alami (Shapira *et al.*) yang memiliki beberapa kelebihan berdasarkan penelitian Kanazawa (2010). Sedangkan, mahkota dewa merupakan tanaman asli Indonesia yang mengandung banyak zat bioaktif dan yang terpenting di dalamnya terdapat khasiat antihiperqlikemik (Sugiwati *et al.*, 2009).

Pembuatan nanopartikel yang dilakukan dengan proses yang relatif sederhana yang diawali dengan proses ekstraksi dari kasein dan mahkota dewa, terakhir dilakukan penyalutan kedua ekstrak dan beberapa pengujian untuk menguji hasil yang terbentuk.

Proses ekstraksi kasein ditempuh dengan pemanasan susu pada suhu tinggi kemudian pH diturunkan, larutan diendapkan, larutan diaduk dan disaring, kemudian dicuci, ditambah air dan diaduk, dan disaring untuk mendapatkan ekstrak kasein. Kemudian, proses ekstraksi dilakukan dengan melarutkan mahkota dewa dengan metanol kemudian dilakukan pemisahan larutan dua kali dengan pelarut yang berbeda, dan dipusatkan dengan evaporator pusat untuk mendapatkan fraksi etil asetatnya. Selanjutnya dilakukan penyulingan kedua ekstrak tersebut melalui proses pengadukan, pemisahan zat, sonikasi untuk menghasilkan partikel nano dan terakhir dilakukan pengeringan. Terakhir dilakukan proses analisis yaitu analisis ekstrak daun mahkota dewa, analisis antihiperlipidemia sebelum sesudah terbentuk partikel nano, dan analisis ukuran partikel nano dengan harapan ukuran partikel yang terbentuk yaitu 100-500 nm. Hasil yang diharapkan terbentuk yaitu nanofood ekstrak mahkota dewa yang dikapsulasi oleh kasein yang mempunyai aktivitas antihiperlipidemia.

Dengan pembuatan nanopartikel dewa ini diharapkan penyembuhan DM akan lebih cepat dan tepat pada target yang ingin diobati. Berdasarkan alasan-alasan tersebut maka kajian terhadap nanofood ekstrak mahkota dewa perlu dikembangkan untuk dapat memberikan nilai lebih terhadap mahkota dewa.

1.2. Perumusan Masalah

Masalah yang dikaji dalam penelitian kali ini adalah

- Bagaimana meng-enkapsulasi mahkota dewa menggunakan *casein micelle*.

1.3. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah :

- Mendapatkan produk nanofood mahkota dewa yang dikapsulasi oleh protein susu kasein.
- Mendapatkan produk nanofood yang dapat berfungsi sebagai antihiperlipidemia.

1.4. Batasan Masalah

Batasan masalah dari penelitian ini adalah :

- Nanopartikel yang digunakan untuk mengkapsulasi ekstrak mahkota dewa adalah kasein yang diisolasi dari susu sapi lokal.
- Ekstrak antihiperglikemik berasal dari daun mahkota dewa.
- Kualitas antihiperglikemik diuji dengan kemampuan sampel menghambat enzim *α -glukosidase*.

1.5. Sistematika Penulisan

BAB I PENDAHULUAN

Bab ini terdiri atas penjelasan mengenai latar belakang masalah, perumusan masalah, tujuan penelitian, batasan masalah, dan sistematika penulisan.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

Bab ini menjelaskan mengenai teori umum yang akan digunakan dalam penelitian ini antara lain, mengenai susu dan hal-hal mengenai susu khususnya kasein, teori mengenai mahkota dewa, serta mengenai diabetes dan antihiperglikemik.

BAB III METODE PENELITIAN

Bab ini berisi penjelasan tentang diagram alir penelitian, waktu dan lokasi penelitian, sampel penelitian, alat dan bahan yang digunakan, variabel penelitian, prosedur penelitian, serta metode analisis yang akan digunakan dalam penelitian.

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

Bab ini menjelaskan mengenai teori umum yang akan digunakan dalam penelitian ini antara lain, mengenai susu dan hal-hal mengenai susu khususnya kasein, teori mengenai mahkota dewa, serta mengenai diabetes dan antihiperglikemik.

BAB V KESIMPULAN

Bab ini berisi penjelasan tentang kesimpulan dan saran dari penelitian yang telah dilakukan.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Susu

Susu merupakan liquid berwarna putih yang diproduksi oleh glandula mammae mamalia. Susu yang menjadi sumber gizi utama untuk bayi sebelum dapat mencerna makanan padat karena didalamnya terkandung berbagai zat yang baik untuk tubuh dan sangat baik dikonsumsi dalam masa pertumbuhan (Wikipedia, 2011).

Konsumsi susu rata-rata penduduk Indonesia adalah 5,10 kg/kap/th (1998). Ini berarti terjadi penurunan dibandingkan angka konsumsi sebelum krisis ekonomi yang mencapai 6,99 kg (1995), 5,72 kg (1996), dan 5,25 kg (1997). Susu adalah minuman bergizi yang mengandung protein 3,2% dan kaya akan mineral kalsium (143 mg/100 g susu). Dengan konsumsi yang masih relatif rendah ini, maka kontribusi susu terhadap intake protein asal ternak adalah 10% (Catatan: kontribusi daging 73% dan kontribusi telur 17%) (Khosman, 2002).



Gambar 2.1. Susu sapi hasil perahan
(Rachmiwi, 2008)

2.1.1. Manfaat Susu

Susu memiliki beberapa manfaat untuk kesehatan manusia (Kumpulaninfo, 2009) antara lain

- Mencegah osteoporosis dan menjaga tulang tetap kuat. Bagi anak-anak, susu berfungsi untuk pertumbuhan tulang yang membuat anak menjadi bertambah tinggi.

- Menurunkan tekanan darah.
- Mencegah kerusakan gigi dan menjaga kesehatan mulut. Susu mampu mengurangi keasaman mulut, merangsang air liur, mengurangi plak dan mencegah gigi berlubang.
- Menetralkan racun seperti logam atau timah yang mungkin terkandung dalam makanan.
- Mencegah terjadinya kanker kolon atau kanker usus besar.
- Mencegah diabetes tipe 2.
- Mempercantik kulit serta dapat membuatnya lebih bersinar.
- Membantu agar lebih cepat tidur karena kandungan susu akan merangsang hormon melatonin yang akan membuat tubuh mengantuk.

2.1.2. Jenis-jenis Susu

Dalam kehidupan sehari-hari terdapat beragam jenis susu. Berikut merupakan jenis-jenis susu (Kumpulaninfo, 2009) tersebut.

Full cream

Susu *full cream* merupakan susu yang mengandung 4% lemak dan umumnya banyak mengandung vitamin A dan vitamin D.

▪ *Low fat*

Susu *low fat* merupakan susu rendah lemak karena kandungan lemaknya hanya setengah dari susu *full cream*.

▪ *Skim*

Susu skim merupakan susu yang kandungan lemaknya lebih sedikit lagi daripada susu *low fat* yaitu kurang dari 1%.

▪ **Susu evaporasi**

Susu evaporasi merupakan susu kental karena susu ini telah diupkan sebagian airnya. Mirip dengan susu kental manis, tetapi susu jenis ini rasanya tawar.

▪ **Susu pasteur**

Susu pasteur adalah susu yang melalui proses pasteurisasi pada suhu 65°C-80°C selama 15 detik untuk membunuh bakteri patogen yang dapat menyebabkan penyakit.

- ***Flavoured***

Susu *flavoured* sebenarnya adalah susu *full cream* atau *low fat* yang ditambahkan rasa tertentu untuk variasi. Misalnya susu coklat, strawberry, pisang, dan rasa lainnya. Umumnya memiliki kandungan gula yang lebih banyak karena penambahan rasa ini.

- ***Calcium enriched***

Susu *Calcium enriched* merupakan susu yang ditambah dengan kandungan kalsium dan kandungan lemaknya telah dikurangi.

- **UHT**

Susu UHT (*Ultra-High Temperature-Treated*) merupakan susu yang dipanaskan dalam suhu tinggi (140° C) selama 2 detik yang kemudian langsung dimasukkan dalam karton kedap udara. Susu ini dapat disimpan untuk waktu yang lama.

- **CLA**

Susu CLA (*Conjugated Linoleic Acid*) merupakan susu yang bermanfaat untuk merampingkan tubuh karena susu ini dapat membantu dalam pembentukan otot dan mempercepat pembakaran lemak.

2.1.3. Kandungan dalam susu

Susu dihasilkan oleh mamalia diantaranya sapi, kambing, domba, maupun manusia. Pada masing-masing sumber yang dapat menghasilkan susu, kandungan susu yang dimiliki akan berbeda-beda, salah satunya dipengaruhi oleh kesehatan dan kondisi lingkungan. Berikut merupakan tabel yang berisi mengenai komposisi rata-rata dari kandungan susu yang dihasilkan oleh sapi, kambing, domba, dan manusia (Park *et al.*, 2007).

Tabel 2.1. Komposisi rata-rata dari nutrisi dasar dalam susu sapi, domba, kambing, dan manusia

Komposisi	Sapi	Kambing	Domba ^a	Manusia
Lemak (%)	3,6	3,8	7,9	4,0
Padatan bukan lemak (%)	9,0	8,9	12,0	8,9
Laktosa (%)	4,7	4,1	4,9	6,9
Protein (%)	3,2	3,4	6,2	1,2
Komposisi	Sapi	Kambing	Domba ^a	Manusia
Kasein (%)	2,6	2,4	4,2	0,4
Albumin, globulin (%)	0,6	0,6	1,0	0,7
Bukan protein N (%)	0,2	0,4	0,8	0,5
Abu (%)	0,7	0,8	0,9	0,3
Kalori/100 mL	69	70	105	68

Data dari Posati dan Orr (1976), Jenness (1980), Larson dan Smith (1974), dan Haenlein dan Caccese (1984)

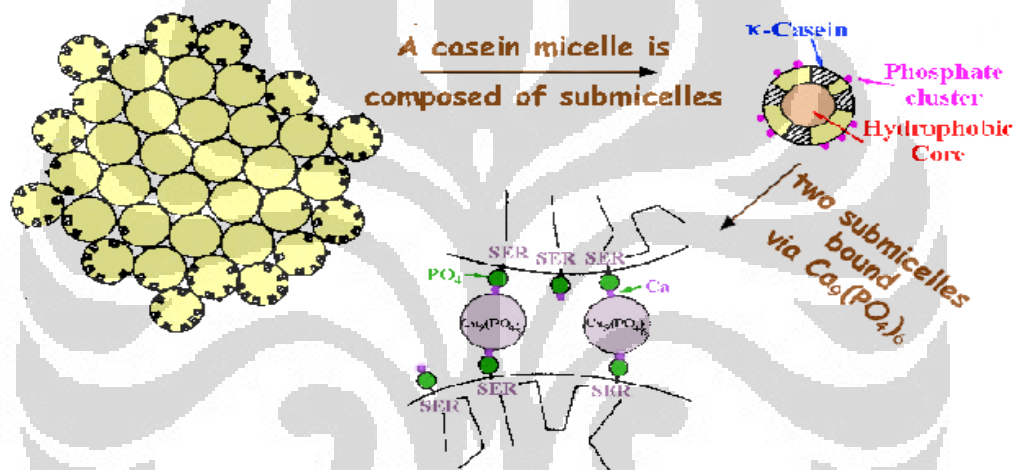
^a Anifantakis *et al.*, 1980

Tabel 2.1 (Park *et al.*, 2007), menunjukkan bahwa protein dan kasein dari susu domba memiliki persentase yang tertinggi diantara sumber susu lainnya yaitu 6,2% dan 4,2% untuk masing-masingnya. Untuk susu sapi sendiri, kandungan protein (3,2%) lebih rendah dibandingkan susu kambing (3,4%) tetapi masih lebih tinggi dibandingkan kandungan pada manusia (0,4%), sedangkan untuk kandungan kasein yang lebih tinggi (2,6%) dibandingkan dengan kandungan dari susu kambing (2,4%) dan manusia (0,4%). Dari tabel tersebut terlihat bahwa susu domba memiliki kandungan kasein yang lebih tinggi, akan tetapi untuk mendapatkan susu domba relatif sulit dibandingkan dengan susu sapi yang telah lama dikonsumsi manusia dan sangat mudah didapatkan dibandingkan dengan susu lainnya. Jika dilihat pada tabel tersebut, kandungan kasein susu sapi berada pada tingkat kedua setelah kandungan pada susu domba sehingga susu sapi inilah

yang kemudian dipilih dalam penelitian ini sebagai sumber susu dalam mendapatkan ekstrak kandungan kasein.

2.1.3.1. Kasein sebagai nano-carrier

Susu sapi mengandung 30-35% protein. Kasein yang merupakan komposisi terbesar dari susu sapi (sekitar 80%), tersusun membentuk miselia. Kasein dalam bentuk miselia didesain oleh alam untuk mengkonsentrasikan, menstabilkan dan mengirimkan nutrisi seperti kalsium dan protein. Secara natural kasein didesain sebagai *nano-delivery system* (Shapira *et al.*).



Gambar 2.2. Gambar struktur miselia kasein
(Kitts *et al.*).

Miselia kasein mempunyai ukuran antara 50 hingga 500 nm dengan diameter rata-rata sekitar 150 nm, disusun oleh empat jenis kasein, kasein alpha 1, kasein alpha 2, kasein beta dan kasein kappa, dengan rasio 4:1:4:1. Kasein membentuk miselia dengan interaksi hidropobik oleh jembatan kalsium fosfat dan serin fosfat. Susunan kasein berbentuk miselia sangat penting untuk kesetabilan koloid susu sehingga mudah untuk disimpan dan mudah untuk dicerna, selain itu nutrisi yang tersimpan didalam miselia tersebut dapat dengan mudah diberikan dari induk ke anaknya (Semo *et al.*, 2006).

Namun, selama ini penggunaan kasein sebagai *nano-delivery system* jarang dilakukan, hingga pada tahun 2007 para peneliti dari israel berhasil

mendesain sistem *nano-delivery* dengan menggunakan kasein miselia. Mereka berhasil membuat partikel nano kasein miselia dengan ukuran 100 – 500 nm, dengan populasi tertinggi berukuran sekitar 200 nm (Semo *et al.*, 2006). Selain itu peneliti dari Jepang juga berhasil menunjukkan bahwa miselia kasein juga dapat mengkapsulasi zat aktif yang lain seperti beta karoten, kondroitin sulfat, protamin sulfat dan lain-lain, senyawa-senyawa yang bersifat hidropob (Aimi *et al.*, 2009). Penelitian terbaru (Kanazawa, 2010) dengan menggunakan kasein sebagai nano-carrier mendapatkan hasil bahwa nanopartikel dapat dibentuk tanpa menggunakan surfaktan atau polimer buatan, ukuran partikel yang terbentuk dapat dikontrol, stabil pada keadaan asam, dan tentu saja mengandung senyawa bioaktif didalamnya.

2.2. Mahkota Dewa

Mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) merupakan tanaman asli Indonesia yang tumbuh di Pulau Papua dan tanaman ini mulai dibudidayakan di Pulau Jawa.



Gambar 2.3. Tanaman mahkota dewa
(Supriyono, 2011)

2.2.1. Klasifikasi dan morfologi dari mahkota dewa

Klasifikasi mahkota dewa menurut Hermanto (2001) antara lain:

Kingdom : Plantae
Super Divisi : Spermatophyta
Divisi : Magnoliophyta

Kelas : Magnoliopsida
Ordo : Thymelaeales
Famili : Thymelaeaceae
Genus : Phaleria
Spesies : *Phaleria macrocarpa* (Scheff) Boerl.

Tumbuhan mahkota dewa tingginya dapat mencapai 1 - 2,5 m dan memiliki akar tunggang. Daun mahkota dewa adalah daun tunggal dengan pangkal daun yang runcing, dengan panjang 7 - 10 cm dan lebarnya 2 - 2,5 cm. Buah bulat, panjang 3 - 5 cm, buah muda berwarna hijau dan buah matang berwarna merah.

2.2.2. Manfaat kandungan kimia tanaman mahkota dewa

Bagian tanaman mahkota dewa mengandung zat-zat bioaktif. Daun mahkota dewa mengandung polifenol sedangkan buahnya mengandung flavonoid (Arini *et al.*, 2003). Kandungan kimia dalam mahkota dewa memiliki manfaat dalam menyembuhkan penyakit sehingga tanaman ini banyak digunakan sebagai obat tradisional. Khasiat yang terdapat pada mahkota dewa yaitu untuk antihiperqlikemik (Sugiwati *et al.*, 2009), antikanker (Syariefa, 2003, Faried *et al.*, 2007, Syukri and Saepudin, 2008), antihipertensi, antioksidan (Arini *et al.*, 2003), dan sebagainya.

2.2.3. Metode ekstraksi mahkota dewa

Metode ekstraksi mahkota dewa telah banyak dilakukan. Metode ekstraksi sederhana mahkota dewa dengan menggunakan air (Syariefa, 2003), dan diketahui dapat mengobati penyakit *Multiple Myeloma*. Pada proses ekstraksi lain (Sugiwati *et al.* 2009), diketahui bahwa mahkota dewa memiliki fungsi antihiperqlikemik sebagai inhibitor α -glukosidase. Pembuatan nanopartikel mahkota dewa masih belum dikembangkan sehingga penelitian pembuatan nano partikel dengan *bioacceptable* polimer, seperti protein sangat penting untuk dilakukan.

2.3. Diabetes

Diabetes merupakan kekacauan metabolisme (NDIC, 2008). Penyakit ini disebabkan karena kadar glukosa yang tinggi dalam darah. Glukosa merupakan sumber utama dari bahan bakar untuk tubuh. Sebagian besar makanan yang kita makan selanjutnya dipecah menjadi glukosa yang merupakan bentuk dari gula dalam darah. Setelah dicerna, glukosa melewati aliran darah yang selanjutnya digunakan oleh sel untuk pertumbuhan dan energi. Untuk glukosa sampai dalam sel diperlukan keberadaan insulin. Insulin merupakan hormon yang diproduksi oleh pankreas (sebuah kelenjar besar yang terdapat di perut bagian belakang). Pada saat makan, pankreas tubuh secara otomatis memproduksi sejumlah insulin untuk memindahkan glukosa dari darah ke dalam sel. Pada penderita diabetes, pankreas memproduksi sedikit ataupun tidak memproduksi insulin atau sel tidak menanggapi insulin yang diproduksi secara wajar. Glukosa menumpuk dalam darah dan melimpah dalam *urine*. Oleh karena itu, tubuh kehilangan sumber utama bahan bakarnya bahkan darah mengandung glukosa dalam jumlah besar (NDIC, 2008).

Jumlah penderita diabetes di Indonesia mengalami peningkatan yang signifikan dan menempati posisi keenam di dunia yaitu sebanyak 5 juta penderita. Secara epidemiologi, diperkirakan pada tahun 2030 prevalensi Diabetes Melitus (DM) di Indonesia mencapai 21,3 juta orang (Diabetes Care, 2004). Berdasar hasil Riset kesehatan Dasar (Riskesdas) tahun 2007, diperoleh bahwa hasil proporsi penyebab kematian akibat DM pada kelompok usia 45-54 tahun di daerah perkotaan menduduki ranking ke-2 yaitu 14,7%. DM menduduki ranking ke-6 yaitu 5,8% penyebab kematian di daerah pedesaan (Pinzon, 2011).

Jumlah orang dengan diabetes meningkat disebabkan karena pertumbuhan populasi, usia, urbanisasi, dan peningkatan merata dari kegemukan dan kemalasan secara fisik (Wild *et al.*, 2004).

Tabel 2.2 diberikan daftar negara-negara dengan estimasi nilai terbesar dari penyakit diabetes (Wild *et al.*, 2004). Dari tabel tersebut terlihat bahwa Indonesia menduduki peringkat keempat pada tahun 2000 (digunakan WHO *Global Burden of Disease Study*) sebagai proyeksi untuk tahun 2030.

Tabel 2.2. Daftar negara-negara dengan estimasi nilai terbesar dari penyakit diabetes untuk tahun 2000 dan 2030

Peringkat	2000		2030	
	Negara	Orang dengan diabetes (juta)	Negara	Orang dengan diabetes (juta)
1	India	31,7	India	79,4
2	Cina	20,8	Cina	42,3
3	Amerika	17,7	Amerika	30,3
4	Indonesia	8,4	Indonesia	21,3
5	Jepang	6,8	Jepang	13,9
6	Pakistan	5,2	Pakistan	11,3
7	Federasi Rusia	4,6	Federasi Rusia	11,1
8	Brazil	4,6	Brazil	8,9
9	Italia	4,3	Italia	7,8
10	Bangladesh	3,2	Bangladesh	6,7

2.3.1. Jenis-jenis Diabetes

Jenis-jenis dari penyakit diabetes (NDIC, 2008) antara lain:

1. Diabetes tipe 1

Diabetes tipe 1 merupakan penyakit *autoimmune*. *Autoimmune* dihasilkan ketika sistem tubuh untuk melawan infeksi, sistem imunitas, beralih terhadap bagian tubuh. Pada diabetes, sistem kekebalan menyerang dan menghancurkan pembentukan insulin sel beta dalam pankreas. Pankreas kemudian memproduksi insulin dalam jumlah sedikit. Orang yang menderita diabetes tipe 1 harus mendapat insulin tiap hari untuk hidup.

Sekarang, peneliti tidak mengetahui secara pasti penyebab sistem kekebalan tubuh menyerang sel beta, tetapi mereka percaya bahwa itu merupakan penyakit *autoimmune*, genetik dan faktor lingkungan, serta kemungkinan virus. Gejala diabetes tipe 1 biasanya terjadi pada waktu singkat, meskipun penghancuran sel beta dapat mulai bertahun-tahun lebih awal. Gejalanya antara lain meningkatnya rasa haus dan buang air kecil, kelaparan konstan, kehilangan berat, pengelihatannya menjadi kabur, dan

kelelahan luar biasa. Jika tidak terdiagnosa dan diobati dengan insulin, penderita diabetes tipe 1 dapat koma, juga diketahui sebagai ketoacidosis diabetes.

2. Diabetes tipe 2

Diabetes yang paling biasa terjadi adalah diabetes tipe 2. Sekitar 90-90% orang menderita diabetes tipe 2. Bentuk diabetes ini paling sering dihubungkan dengan usia tua, obesitas, sejarah diabetes keluarga, sejarah diabetes gestasional sebelumnya, kemalasan secara fisik, dan suku. Sekitar 80% orang dengan diabetes tipe 2 memiliki kelebihan berat badan.

Diabetes tipe 2 terus meningkat pendiagnosaannya pada anak dan remaja. Ketika diabetes tipe 2 ini terdiagnosa, pankreas biasanya memproduksi insulin yang cukup, tetapi untuk alasan yang tidak diketahui tubuh tidak dapat menggunakan insulin secara efektif, kondisi ini disebut resistan insulin. Setelah beberapa tahun, produksi insulin menurun. Hasilnya sama dengan diabetes tipe 1 yaitu glukosa menumpuk dalam darah dan tubuh tidak dapat menggunakan secara efektif dari sumber bahan bakar utama tersebut.

Gejala dari diabetes tipe 2 berkembang secara berangsur-angsur dan tidak tiba-tiba seperti diabetes tipe 1. Gejalanya antara lain kelelahan, sering buang air kecil, meningkatnya rasa lapar dan haus, kehilangan berat, pengelihatannya menjadi kabur, dan penyembuhan luka menjadi lambat. Untuk beberapa orang ada juga yang tidak mengalami gejala ketika menderita diabetes tipe 2 ini.

3. Diabetes gestasional

Diabetes gestasional didertia oleh beberapa wanita menderita pada akhir kehamilan. Meskipun bentuk diabetes ini biasanya menghilang setelah melahirkan anak, wanita yang memiliki diabetes gestasional memiliki 40-60% kesempatan terkena diabetes tipe 2 dalam waktu 5 sampai 10 tahun. Pemeliharaan berat tubuh dan menjadi aktif secara fisik mungkin membantu mencegah perkembangan diabetes tipe 2.

Sekitar 3-8% wanita mengandung di Amerika Serikat mengidap diabetes tipe 2. Sama halnya dengan diabetes tipe 2, diabetes gestasional lebih sering terjadi dalam kelompok suku dan di antara wanita dengan sejarah diabetes dalam keluarga. Diabetes gestasional disebabkan oleh hormon dari kehamilan atau kekurangan insulin. Wanita dengan diabetes jenis ini mungkin tidak mengalami gejala apapun.

2.3.2. Pengobatan Diabetes

Pengobatan diabetes dapat menjadi kunci untuk hidup dengan diabetes tipe 1 dan tipe 2 (*Community, 2011*). Menurut *The Global Diabetes Community (Community, 2011)*, berbagai pengobatan untuk masing-masing individu, tidak sederhana pada jenis diabetes yang dimiliki, tetapi juga lebih banyak perbedaan pengobatan diabetes yang spesifik pada individu. Dasar pengobatan diabetes dipecah ke dalam tipe diabetes berikut (*Community, 2011*):

- Pengobatan diabetes tipe 1

Pengobatan diabetes tipe 1 merupakan tugas tiap hari. Kekurangan produksi insulin oleh pankreas membuat diabetes tipe ini terutama sekali sulit untuk dikontrol.

Pengobatan membutuhkan cara tepat yang khas terutama perhitungan diet secara hati-hati, perencanaan kegiatan fisik, injeksi insulin setiap hari berkali-kali, dan rumah pengujian glukosa darah sejumlah waktu dalam sehari.

- Pengobatan diabetes tipe 2

Pengobatan yang khas diantaranya kontrol diet, olah raga, rumah uji glukosa darah, dan dalam beberapa kasus, pengobatan oral dan/atau insulin. Kira-kira 40% orang dengan diabetes tipe 2 membutuhkan injeksi insulin.

Secara umum, pengobatan untuk diabetes tipe 2 dapat dilakukan dengan memberikan injeksi insulin ataupun pemberian obat modern seperti antidiabetes oral yang terdiri dari sulfonilurea, biguanid, thiazolidinedion, dan inhibisi α -glukosidase (*Sugiwati et al., 2009*). Berikut merupakan perbedaan dari beberapa agen antidiabetes oral untuk mengobati diabetes tipe 2 (*Koda-Kimble, 2008*).

Tabel 2.3. Perbedaan farmakologi di antara agen antidiabetes oral

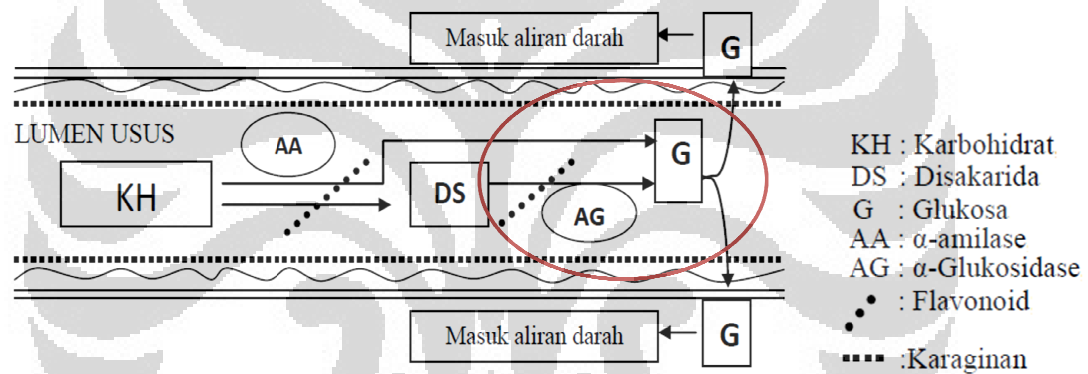
	Metformin (cepat atau pelepasan diperluas)	Sulfonilurea/ meglitinida/ nateglinide	Inhibisi α - <i>glukosidase</i>	TZDs
Mekanisme aksi	↓ tahan insulin	↑ sekresi insulin	↓ pencernaan karbohidrat kompleks	↓ tahan insulin
	↓ keluaran glukosa hepatik			↓ keluaran glukosa hepatik
	↑ penggunaan glukosa peripheral			↑ penggunaan glukosa peripheral

Dari tabel tersebut dapat terlihat bahwa dalam inhibisi α -*glukosidase* dan Sulfonilurea memiliki mekanisme aksi yang sederhana, akan tetapi untuk penggunaan Sulfonilurea menggunakan insulin sehingga membutuhkan biaya yang lebih mahal daripada proses inhibisi α -*glukosidase* yang mekanismenya dapat ditempuh dengan penurunan pencernaan karbohidrat kompleks. Untuk proses inhibisi α -*glukosidase* telah dilakukan oleh Sugiwati menggunakan mahkota dewa (Sugiwati *et al.*, 2009).

2.3.3. Antihiperqlikemik

Hiperqlikemik adalah kondisi dimana jumlah glukosa dalam plasma darah berlebih karena tubuh kekurangan insulin. Hiperqlikemik dialami oleh para penderita penyakit diabetes mellitus tipe 2 dan berdampak pada kerusakan organ. Pengobatan untuk diabetes mellitus dapat dilakukan dengan memberikan injeksi insulin ataupun pemberian obat modern seperti antidiabetes oral yang terdiri dari sulfonilurea, biguanid, thiazolidinedion, dan inhibisi α -*glukosidase* (Sugiwati *et al.*, 2009). Aktivitas antihiperqlikemik dapat ditemukan dalam kandungan

beberapa tanaman herbal seperti mahkota dewa, sambiloto, daun dewa, mengkudu, dan sebagainya. Tanaman-tanaman tersebut memiliki aktivitas antihiperqlikemik yang sama. Oleh karena itu, pembahasan mengenai antihiperqlikemik akan lebih difokuskan pada kandungan dalam mahkota dewa. Mahkota dewa memiliki efek antihiperqlikemik melalui uji inhibisi α -glukosidase yang dapat menyebabkan penurunan aktivitas hiperqlikemik (Sugiwati *et al.*, 2009). Kerja antihiperqlikemik dari inhibitor α -glukosidase berasal dari inhibisi reversibel, kompetitif terhadap enzim hidrolase α -amilase pankreatik dan enzim-enzim pencernaan di usus halus seperti *isomaltase*, *sukrase* dan *maltase* yang berperan pada hidrolisis karbohidrat makanan menjadi glukosa dan monosakarida lainnya (Sugiwati, 2005). Mekanisme inhibisi absorpsi glukosa (Oliviany *et al.* 2009) sebagai berikut.



Gambar 2.4. Mekanisme inhibisi α -glukosidase
(Oliviany *et al.*, 2009)

Inhibisi enzim α -glukosidase dapat menghambat absorpsi glukosa berlebih sehingga menurunkan keadaan hiperqlikemik setelah makan pada penderita diabetes (Sugiwati, 2005).

2.4. Analisis Sampel

2.4.1. Spektrofotometri UV-Visible

Spektrofotometer UV-Visible biasanya digunakan untuk analisis kuantitatif dan kualitatif. Spektrofotometri adalah metode analisis zat berdasarkan interaksi materi dengan radiasi ultraviolet (Fessenden, 1982). Spektrofotometer UV-Visible digunakan untuk menentukan absorpsi atau transmisi dari cahaya UV-Visible (180 sampai 820 nm) dari sampel dan juga

dapat digunakan untuk mengukur konsentrasi penyerapan bahan berdasarkan pengembangan kurva kalibrasi bahan (IPTL,). Besar pancaran dan penyerapan dari sumber radiasi terhadap larutan harus memenuhi hukum Lambert Beer (Supardi, 2011). Hukum Lambert Beer menyatakan bahwa fraksi penyerapan sinar tidak bergantung pada intensitas sumber cahaya, tetapi bergantung dengan banyaknya molekul yang menyerap (Fessenden, 1982).

2.4.2. Pengukuran Total Flavonoid

Pengukuran total flavonoid menggunakan metode AlCl_3 (Ghasemi *et al.*, 2009). Prinsip dari metode pewarnaan ini adalah AlCl_3 membentuk kompleks asam yang stabil dengan C-4 gugus keto, lalu dengan C-3 atau C-5 gugus hidroksil dari flavon dan flavonoid (Supardi, 2011). Selain itu AlCl_3 juga membentuk kompleks asam yang labil dengan gugus ortodihidroksil pada cincin A atau cincin B dari flavonoid (Chang *et al.*, 2002) sehingga akan mempunyai serapan maksimum pada panjang gelombang 415 nm (Supardi, 2011). Pengukuran menggunakan standar quercetin, dan dari absorbansi tersebut dapat dibuat kurva standar dimana persamaan dari kurva standar tersebut dapat digunakan untuk menentukan konsentrasi dari sampel uji. Setelah mendapatkan konsentrasi sampel uji, dapat ditentukan total kadar flavonoid dari sampel uji dengan menggunakan persamaan berikut.

$$\text{Kadar Total Flavonoid} = V \times C$$

Dengan:

Kadar total flavonoid (μg)

V = Volume akhir sampel (mL)

C = Konsentrasi sampel uji ($\mu\text{g/mL}$)

2.4.3. Pengukuran Total Karbohidrat

Pengukuran total karbohidrat menggunakan metode Anthrone. Karbohidrat merupakan komponen penting dari penyimpanan dan bahan struktural dalam tumbuhan. Prinsip metode ini yaitu karbohidrat dihidrolisis menjadi gula sederhana setelah dilarutkan dalam larutan asam dan dalam larutan asam yang panas glukosa dikeringkan menjadi *hydroxymethyl furfural* yang berwarna hijau

dengan Anthrone (Hedge and Hofreiter, 1962). Pengukuran menggunakan standar glukosa. Sama seperti penentuan kadar flavonoid setelah didapat kurva standar selanjutnya ditentukan total kadar karbohidrat dari sampel uji dengan menggunakan persamaan berikut.

$$\text{Kadar Total Karbohidrat} = V \times C$$

Dengan:

Kadar total karbohidrat (μg)

V = Volume akhir sampel (mL)

C = Konsentrasi sampel uji ($\mu\text{g/mL}$)

2.4.4. Pengukuran Distribusi Ukuran Partikel Nano

Pengukuran distribusi partikel menggunakan Particle Size Analyzer (PSA), Delta™ Nano C, Beckman Coulter. PSA Delta™ Nano C dapat digunakan untuk menganalisa ukuran partikel dan pengukuran nilai zeta potensial dengan tingkat keakuratan yang tinggi, sensitivitas dan resolusi, tanpa memperhatikan konsentrasi sampel atau konduktivitasnya. Rentang pengukuran dari alat ini yaitu dari 0,6 μm – 7 nm. PSA Delta™ Nano C menggunakan prinsip *Photon Correlation Spectroscopy* dan *Electrophoretic Light Scattering*. Untuk pengukuran distribusi partikel menggunakan prinsip *Photon Correlation Spectroscopy* yang merupakan teknik untuk menentukan koefisien difusi partikel kecil dalam larutan dengan mengukur intensitas penyebaran sinar dari partikel sebagai fungsi waktu. Proses yang terjadi selama pengukuran antara lain partikel terdifusi melewati sel sampel dikarenakan gerak Brown, kemudian sinar laser menyinari partikel. Penyebaran sinar partikel, menciptakan fluktuasi dalam intensitas penyebaran dan dikumpulkan pada sudut yang dipilih selanjutnya diukur dengan detektor sensitif. Laju difusi partikel ditentukan oleh ukuran partikel, informasi mengenai ukuran terdapat di dalam laju fluktuasi dari penyebaran sinarnya sehingga dari laju penyebaran sinar dapat ditentukan distribusi partikel dari populasi sampel yang diukur (Beckman Coulter, 2008).



Gambar 2.5. Alat *Particle Size Analyzer* (PSA) Delta™ Nano C

2.5. *Mapping Penelitian*

Penelitian pembuatan partikel nano telah dilakukan dengan memanfaatkan kasein sebagai nano-carrier maupun zat lainnya yang dapat digunakan sebagai nano-carrier. Pemakaian kasein sebagai nano-carrier telah dilakukan (Sahu *et al.*, 2008, Livney and Dalgleish, 2009, Kanazawa, 2010), penelitian lain yang telah dilakukan dengan menggunakan kasein sebagai penyalut bahan aktif kasein (Supardi, 2011), dan belum ada pembuatan partikel nano dengan menggunakan mahkota dewa sebagai senyawa aktifnya. Sebenarnya penelitian terhadap senyawa aktif dalam tanaman herbal sudah banyak dilakukan, khususnya pada mahkota dewa. Penelitian terhadap senyawa aktif mahkota dewa membuktikan khasiat mahkota dewa sebagai antikanker (Wahyuningsih *et al.*, Syariefa, 2003, Syukri and Saepudin, 2008, Faried *et al.*, 2007), antioksidan (Arini *et al.*, 2003), dan antihiperlipidemik (Sugiwati *et al.*, 2009). Akhirnya, muncul suatu hipotesa bahwa penggunaan kasein sebagai nano-carrier dari ekstrak mahkota dewa dapat memaksimalkan khasiat antihiperlipidemik dalam ekstrak terhadap proses penyembuhan penyakit diabetes mellitus yang lebih cepat namun hal ini perlu dibuktikan melalui penelitian yang kini akan dilakukan. Berikut merupakan ruang lingkup dari penelitian yang akan dilakukan

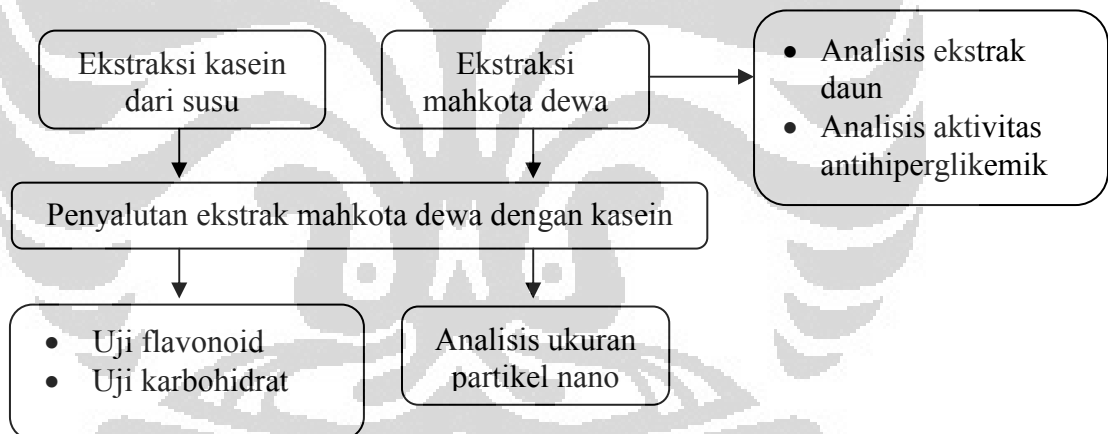
Tabel 2.4. *State of The Art* pembuatan nanopartikel dan ruang lingkup penelitian yang akan dilaksanakan

		Non nano-carrier	Nano-carrier		
			Susu	Non-susu	
			(Semo <i>et al.</i> , 2007) (Sahu <i>et al.</i> , 2008) (Livney and Dalgleish, 2009) (Kanazawa, 2010)	(Roy <i>et al.</i> , 2010)	
			(Supardi, 2011)		
Ekstraksi Senyawa aktif	Propolis				
	Biji teratai	(Fitrial <i>et al.</i> , 2008)			
	Biji buah alpukat dan rumput laut	(Oliviany <i>et al.</i> , 2009)			
	Buah merah	(Sundari, 2010)			
	Mahkota dewa	Antikanker	(Wahyuningsih, <i>et al.</i> ,) (Syariefa, 2003) (Faried <i>et al.</i> , 2007) (Syukri and Saepudin, 2008)		
		Antioksidan	(Arini <i>et al.</i> , 2003)		
		Anti hiperglikemik	(Sugiwati <i>et al.</i> , 2009)	Penelitian yang akan dilaksanakan	

BAB III METODOLOGI PENELITIAN

3.1. Rancangan Penelitian

Tahapan awal penelitian ini adalah ekstraksi kasein dari susu sapi, selanjutnya ekstraksi mahkota dewa dengan metode Sugiwati yang telah terbukti mempunyai aktivitas antihiperqlikemik kemudian hasil ekstrak mahkota dewa tersebut dianalisis kandungan fungsi antihiperqlikemik dengan menguji kemampuan menginhibisi enzim α -glukosidase. Langkah selanjutnya adalah pembuatan nanopartikel mahkota dewa dengan penyalut miselia kasein, lalu dianalisis fungsi antihiperqlikemik, dan ukuran partikel nanonya. Diagram alir penelitian pembuatan nanopartikel mahkota dewa dengan penyalut miselia kasein dan evaluasi kualitas nanopartikel mahkota dewa, ditampilkan pada Gambar 3.1.



Gambar 3.1. Diagram alir penelitian pembuatan nanopartikel mahkota dewa

3.2. Waktu dan Lokasi Penelitian

Tempat penelitian ini dibagi menjadi beberapa bagian, bagian pertama pembuatan kasein dan ekstrak mahkota dewa di laboratorium bioproses, Departemen Teknik Kimia, UI. Bagian kedua adalah analisis kemurnian mahkota dewa dan pengaruh fungsi antihiperqlikemik di Laboratorium Rekayasa Bioproses, Departemen Teknik Kimia, UI. Bagian ketiga adalah analisis ukuran dan morfologi nano partikel di Laboratorium Nanotech Serpong.

3.3. Sampel Penelitian

Sampel untuk penelitian ini adalah susu sapi dan daun mahkota dewa. Pengambilan sampel susu sapi dari daerah Kukusan Teknik, Depok, Jawa Barat dan pengambilan sampel mahkota dewa, dari pekarangan rumah daerah Tangerang. Susu sapi yang dijadikan sampel adalah susu sapi yang masih *fresh* atau baru diperah. Untuk sampel daun mahkota dewa, daun yang digunakan adalah daun mahkota dewa yang tua dan yang muda.

3.4. Alat dan Bahan Penelitian

3.4.1. Alat Penelitian

Alat-alat yang diperlukan dalam penelitian ini antara lain

Tabel 3.1. Alat yang digunakan

Alat	Fungsi
Gelas kimia	Tempat untuk membuat larutan dan tempat terjadinya reaksi
Kaca arloji	Wadah untuk menimbang
Timbangan digital	Untuk menimbang bahan
Tabung reaksi	Untuk mereaksikan/ membuat larutan/reagen yang dibutuhkan
Batang pengaduk	Alat untuk mengaduk
Spatula <i>stainless steel</i>	Untuk membantu memindahkan bahan
Pipet tetes	Untuk meneteskan/memindahkan larutan
Corong pisah	Untuk memisahkan campuran antara larutan etil asetat dengan air.
Kertas saring	Untuk memisahkan retentat dari permeat
<i>Refrigerator</i>	Untuk menyimpan enzim, rennet, substrat
Termometer	Untuk mengukur temperature

Tabel 3.2. Alat yang digunakan (Lanjutan)

Alat	Fungsi
Spektrofotometer	Untuk mengetahui konsentrasi p-nitrofenil sebelum dan sesudah proses penyalutan dengan cara mengukur absorbansinya
<i>Cuvette</i>	Sebagai wadah saat dilakukan absorbansi di dalam spektrofotometer
Gelas ukur	Alat untuk mengukur larutan
Mikropipet	Alat untuk mengambil larutan dalam jumlah kecil/mikro
Botol sampel	Wadah untuk meletakkan sampel sebelum digunakan untuk tahapan berikutnya atau untuk disimpan dalam <i>refrigerator</i> .
Corong	Alat untuk membantu menuangkan larutan agar tidak tumpah serta untuk membantu proses penyaringan.

3.4.2. Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang diperlukan dalam penelitian ini antara lain

Tabel 3.3. Bahan yang digunakan

Bahan	Fungsi
Daun mahkota dewa	Bahan baku untuk melakukan pengujian antihiperqlikemik
Susu	Bahan baku untuk mendapatkan casein micelle
Rennet	Digunakan untuk menggumpalkan susu dengan adanya enzim <i>chymosin</i> dalam rennet
95% metanol-air	Digunakan sebagai pelarut untuk ekstrak daun mahkota dewa
Etil asetat	Digunakan sebagai pelarut untuk ekstrak daun mahkota dewa
Asam klorida	Digunakan untuk mempertahankan pH larutan
Sodium karbonat	Digunakan untuk menghentikan reaksi enzimatik pada pengujian antihiperqlikemik
<i>p</i> -nitrofenil α -D-glukopiranoside	Digunakan sebagai substrat dalam pengujian antihiperqlikemik

Tabel 3.4. Bahan yang digunakan (Lanjutan)

Bahan	Fungsi
Enzim <i>α-glukosidase</i>	Digunakan sebagai pereaksi dengan substrat yang digunakan
Potassium acetate	Digunakan untuk hidrolisis pada analisa flavonoid
Toluen	Digunakan dalam pembuatan larutan reagen uji karbohidrat
Bovin Serum Albumin (BSA)	Digunakan dalam proses pengujian antihiperglikemik
Alumunium klorida	Digunakan untuk pereaksi
Reagen Anthrone	Digunakan dalam pengujian karbohidrat
95% H ₂ SO ₄	Digunakan sebagai pelarut untuk reagen Anthrone pada uji karbohidrat
Buffer fosfat	Digunakan untuk pereaksi pembuatan nanofood

3.5. Variabel Penelitian

3.5.1. Variabel Bebas

Variabel bebas merupakan variabel yang dibuat bervariasi dengan besar nilai tertentu. Variabel bebas dalam penelitian ini antara lain waktu pengambilan data dan konsentrasi.

3.5.2. Variabel Terikat

Variabel terikat merupakan variabel yang terjadi akibat adanya variabel bebas. Variabel terikat dalam penelitian ini antara lain nanopartikel yang terbentuk dan aktivitas antihiperglikemik produk.

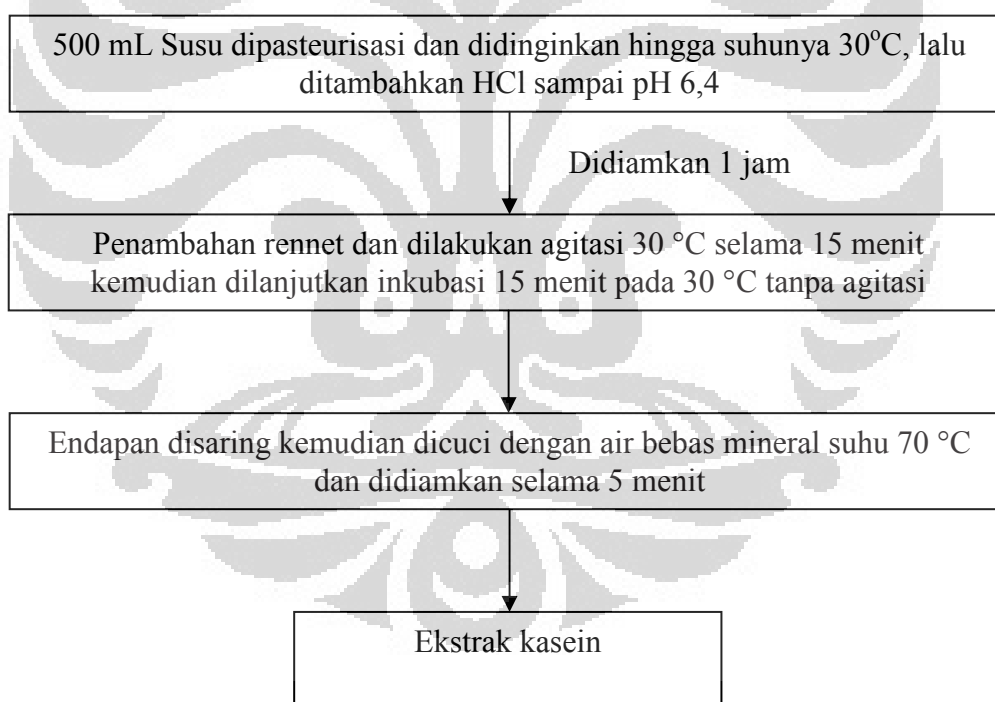
3.5.3. Variabel Kontrol

Variabel kontrol merupakan variabel yang dikendalikan atau dibuat dalam keadaan konstan. Variabel kontrol dari penelitian ini adalah suhu dan pH.

3.6. Pelaksanaan Penelitian

3.6.1. Ekstraksi Kasein dari susu sapi lokal

Susu sapi dipasteurisasi pada suhu 65°C selama 30 menit, didinginkan hingga suhu 30°C. Kemudian pHnya diturunkan hingga pH 6.4 dengan 1 N HCl, dan susu didiamkan selama 1 jam pada suhu 30°C. Selanjutnya menambahkan rennet kedalam susu untuk menggumpalkan kasein dalam susu. Susu dijaga suhunya pada suhu 30 °C selama 15 menit di bawah agitasi rendah, sehingga terbentuk endapan. Selajutnya dilakuakn inkubasi 15 menit pada 30 °C tanpa agitasi untuk meningkatkan ukuran partikel. Endapan disaring kemudian dicuci dengan air bebas mineral suhu 70 °C dan didiamkan selama 5 menit untuk menonaktifkan enzim yang dihasilkan rennet (*chymosin*). Kemudian endapan kasein disaring dan supernatan dibuang. Proses ekstraksi kasein dari susu sapi diilustrasikan pada Gambar 3.2.

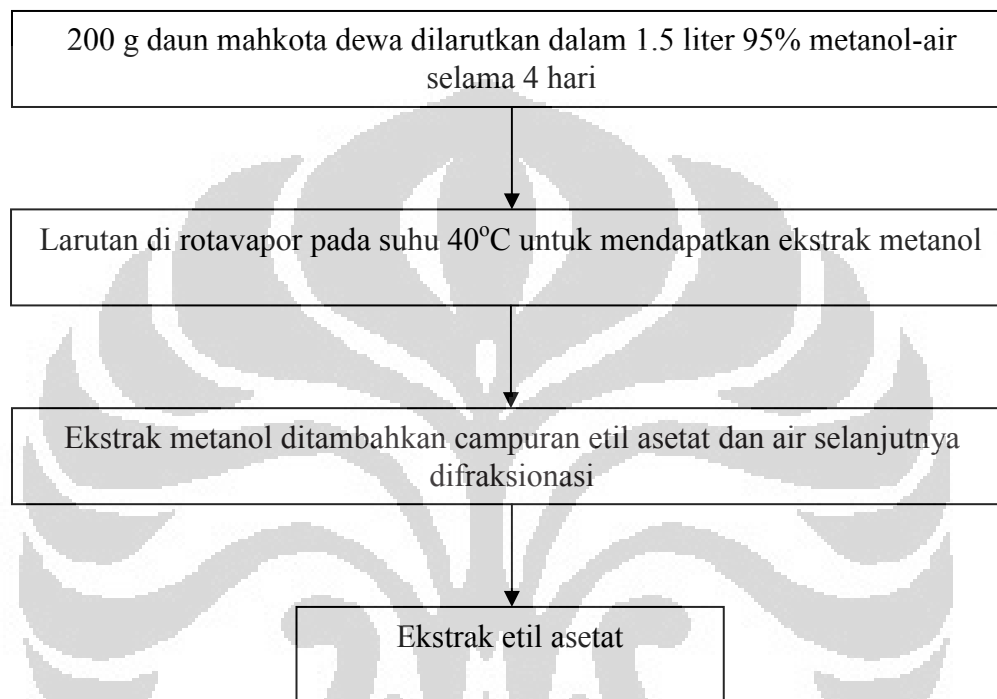


Gambar 3.2. Diagram Alir Proses Ekstraksi Kasein

3.6.2. Pembuatan ekstraksi daun mahkota dewa

200 gram bahan baku daun mahkota dewa dilarutkan dalam 1.5 liter 95% metanol-air selama 4 hari pada suhu ruangan. Kemudian campuran disaring dan

dievaporasi 40°C sampai mendapatkan konsentrat ekstrak metanol. Selanjutnya, ekstrak metanol difraksinasi dengan menggunakan campuran air dan etil asetat (1:1) untuk mendapatkan fraksi etil asetat dan fraksi air (Sugiwati *et al.*, 2009). Selanjutnya fraksi etil asetat ditambahkan 5 mL etanol *food grade*. Proses ekstraksi daun mahkota dewa diilustrasikan pada Gambar 3.3.

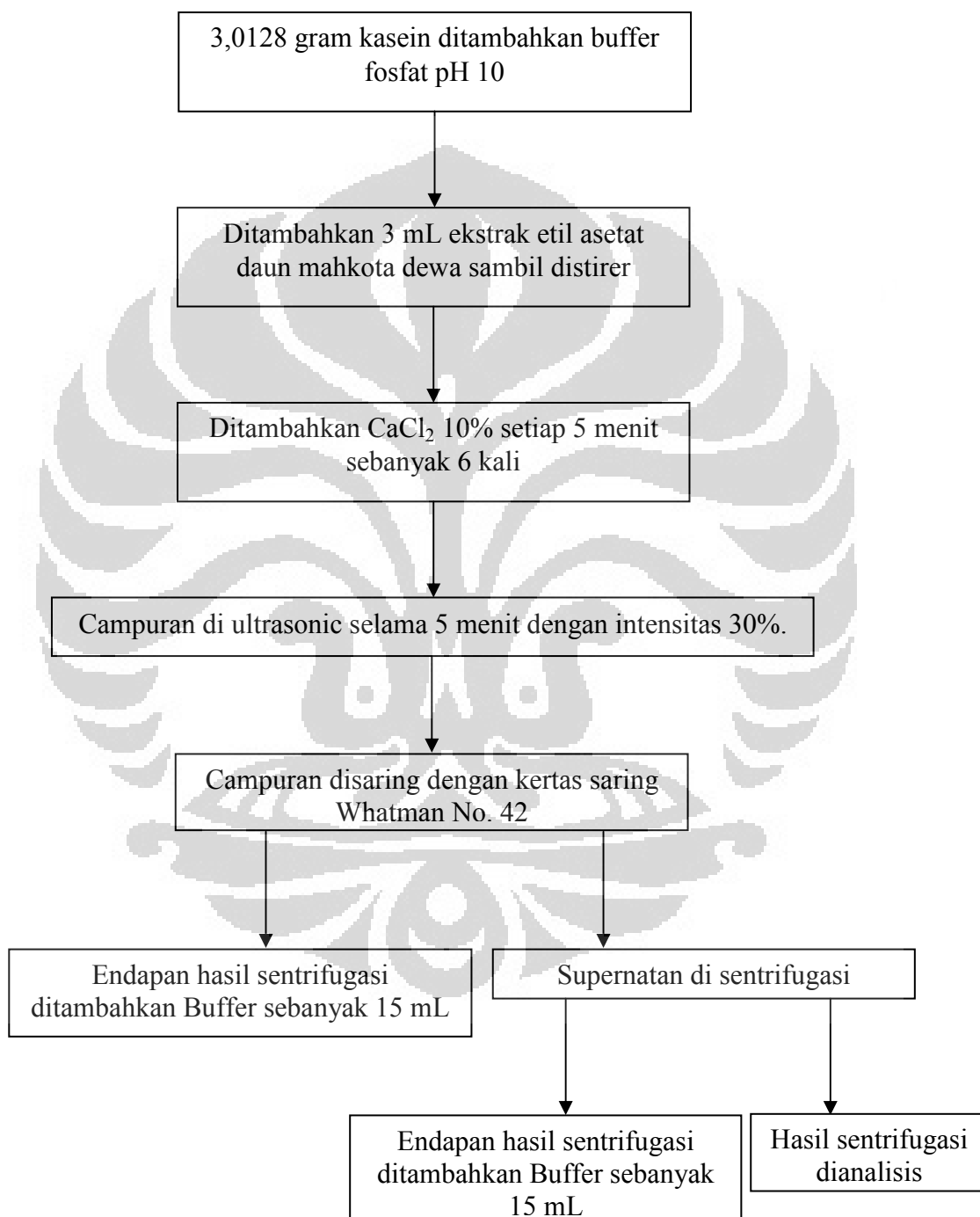


Gambar 3.3. Diagram Alir Ekstraksi Daun Mahkota Dewa

3.6.3. Penyalutan ekstrak daun mahkota dewa dengan miselia kasein

5 gram kasein ditambahkan larutan buffer fosfat pH 10 sebanyak 50 mL, lalu distirer selama 15 menit kemudian ditambahkan ekstrak etil asetat daun mahkota dewa 5 mL, lalu ditambahkan 1 mL CaCl_2 10% setiap 5 menit sebanyak 6 kali, selama proses penambahan CaCl_2 pH campuran dijaga pada pH 7 dengan menggunakan HCl 0,1 N atau NaOH 0,1 N. Untuk menghasilkan campuran partikel berukuran nano, selanjutnya campuran di ultrasonic selama 5 menit dengan intensitas 30%. Kemudian campuran disaring dengan kertas saring Whatman No. 42, untuk endapan yang tertinggal dilarutkan kembali dengan Buffer, untuk supernatant dilakukan ultrafiltrasi dengan amicon ultra-15. Endapan

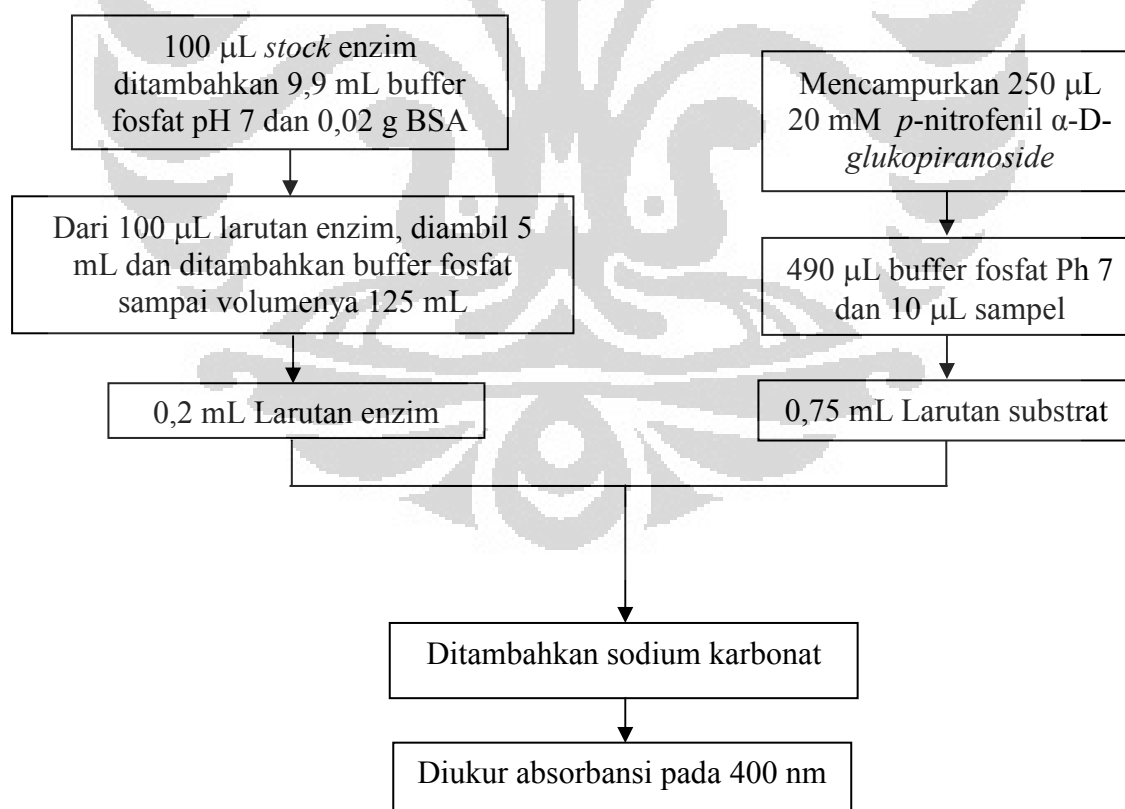
yang terdapat pada filter didispersikan dengan buffer fosfat. Pada campuran, endapan, dan supernatant dilakukan analisa total flavonoid dan total karbohidrat. Proses penyalutan ekstrak daun mahkota dewa dengan kasein diilustrasikan pada Gambar 3.4.



Gambar 3.4. Diagram Alir Penyalutan Ekstrak Daun Mahkota Dewa dengan Kasein

3.6.4. Pengujian antihiperqlikemik sebagai inhibitor α -glukosidase

Pembuatan larutan *stock* enzim dengan melarutkan 4,0 mg α -glukosidase dalam 4 mL 0,1 M buffer fosfat (pH 7,0). Selanjutnya dari larutan *stock* enzim, diambil 100 μ L kemudian ditambahkan 9,9 mL buffer fosfat pH 7 dan 200 mg bovin serum albumin. Dari 10 mL larutan enzim yang telah dibuat, 5 mL dari larutan enzim tersebut dibuat volumenya menjadi 125 mL dengan menambahkan aquades. Substrat yang digunakan merupakan campuran 750 μ L 20 mM *p*-nitrofenil α -D-glukopiranoside. Kemudian substrat dicampurkan dengan 1,47 mL 100 mM buffer fosfat (pH 7,0), 3 μ L larutan sampel dan diinkubasi pada 37°C selama 5 menit. Selanjutnya ditambahkan 600 μ L larutan enzim dan diinkubasi selama 5, 10, 15 dan 20 menit. Reaksi enzimatik dihentikan dengan penambahan 3000 μ L 200 mM sodium karbonat, dan absorbansi *p*-nitrofenil dibaca pada 400 nm. Proses pengujian antihiperqlikemik diilustrasikan pada Gambar 3.5.



Gambar 3.5. Diagram Alir Uji Aktivitas Antihiperqlikemik

3.6.5. Metode Analisis

3.6.5.1. Analisis ekstrak mahkota dewa

Ekstrak mahkota dewa dianalisis melalui beberapa pengujian pada masing-masing ekstrak mahkota dewa dan *nanofood* mahkota dewa. Pengujian yang dilakukan antara lain uji flavonoid (Ghasemi *et al.*, 2009) dan uji karbohidrat (Hedge and Hofreiter, 1962).

3.6.5.1.1. Analisis Total Flavonoid

Uji flavonoid menggunakan metode Aluminium klorida (AlCl_3) (Ghasemi *et al.*, 2009). Sampel ekstrak daun mahkota dewa dan *nanofood* mahkota dewa dipipet sebanyak 0,5 mL, kemudian ditambahkan metanol 1,5 mL, 0,1 mL 10% AlCl_3 (m/v), 0,1 mL 1 M potassium acetate dan 2,8 mL aquades. Kemudian diinkubasi selama 30 menit pada suhu ruangan, lalu dilakukan pengukuran absorbansi pada panjang gelombang 415 nm. Standar yang digunakan adalah quercetin.

3.6.5.1.2. Analisis Total Karbohidrat

Uji karbohidrat dilakukan menggunakan metode Anthrone (Hedge and Hofreiter, 1962). Bahan yang diperlukan untuk pengujian dengan metode Anthrone antara lain

- Reagen Anthrone : melarutkan 200 mg Anthrone dalam 100 mL 95% H_2SO_4 .
- Standar glukosa: *stock*- 100 mg dilarutkan dalam 100 mL air.

10 mL dari *stock* diencerkan sampai 100 mL dengan air suling, setelah penambahan beberapa tetes toluen simpan larutan di kulkas.

Menyiapkan standar pada volume 0; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; dan 1 mL (Volume 0 merupakan blanko) serta 0,5 mL sampel, membuat volumenya 1 mL pada masing-masing tabung termasuk tabung berisi sampel dengan air suling dan menambahkan 4 mL reagen Anthrone. Tabung reaksi dipanaskan selama 8 menit dalam boiling water bath. Selanjutnya, mendinginkan dan ukur warna hijau pada 630 nm. Menggambar grafik standar **x vs y (konsentrasi standar vs absorbansi)**. Setelah penggambaran kurva konsentrasi standar vs absorbansi

dilakukan penghitungan jumlah persen karbohidrat yang terkandung dalam sampel.

$$\begin{aligned} & \% \text{ karbohidrat yang terkandung dalam 100 mg sampel} \\ & = \frac{\text{mg glukosa}}{\text{volume sampel tes}} \times 100 \end{aligned}$$

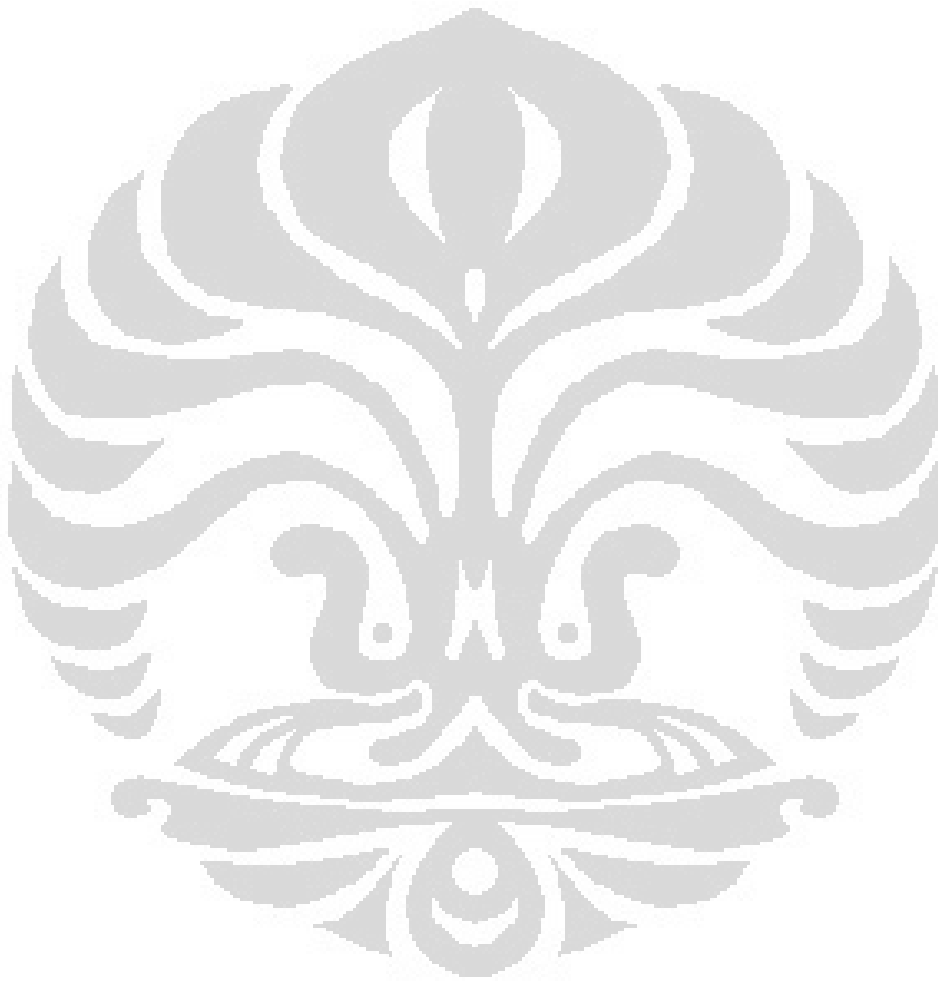
3.6.5.2. Analisis fungsi antihiperlikemik

Menurut Sugiwati dengan sedikit modifikasi dalam prosesnya selanjutnya dilakukan pengukuran absorbansi *p*-nitrofenil dibaca pada 400 nm menggunakan spektrometer (Sugiwati *et al.*, 2009). Pengujian antihiperlikemik dalam inhibisi *α*-glukosidase, pada masing-masing sampel dilihat dalam perbedaan waktu inkubasi dari 5, 10, 15, sampai 20 menit untuk melihat aktivitas enzim pada setiap menitnya. Sampel yang diukur antara lain sampel ekstrak daun mahkota dewa, larutan buffer dengan nano mahkota dewa, *supernatan* (supernatan hasil sentrifugasi), dan sampel tanpa inhibitor (sampel dengan etanol 96%). Selanjutnya dibuat grafik hubungan absorbansi terhadap waktu dari aktivitas enzimnya dari masing-masing waktu inkubasi. Hasil pengukuran absorbansi yang digunakan sebagai data uji aktivitas adalah absorbansi masing-masing sampel dari waktu inkubasi yang telah ditentukan dikurangi dengan absorbansi dari serapan untuk masing-masing sampel uji.

3.6.5.3. Analisis ukuran partikel nano

Ukuran dan penentuan morfologi nanopartikel diameter rata-rata dan distribusi ukuran ditentukan dengan alat *Particle Size Analyzer* (PSA) dan hasil ukuran yang diharapkan yaitu nanopartikel yang terbentuk berukuran 100-500 nm. Dengan prinsip *Photon Correlation Spectroscopy*, selama pengukuran partikel terdifusi melewati sel sampel dikarenakan gerak Brown, kemudian sinar laser menyinari partikel. Penyebaran sinar partikel, menciptakan fluktuasi dalam intensitas penyebaran dan dikumpulkan pada sudut yang dipilih selanjutnya diukur dengan detektor sensitif. Laju difusi partikel ditentukan oleh ukuran partikel, informasi mengenai ukuran terdapat di dalam laju fluktuasi dari

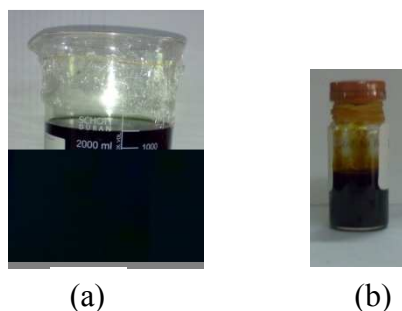
penyebaran sinarnya sehingga dari laju penyebaran sinar dapat ditentukan distribusi partikel dari populasi sampel yang diukur (Beckman Coulter, 2008).



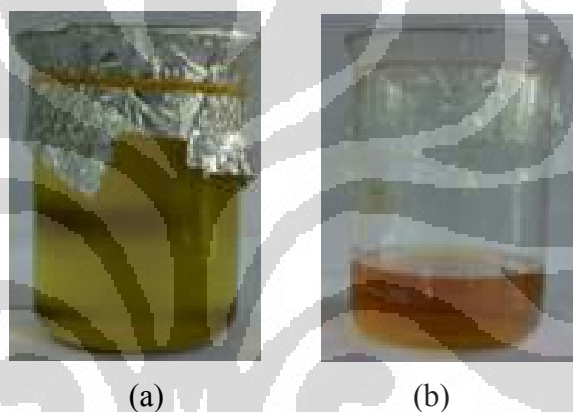
BAB IV PEMBAHASAN DAN ANALISIS

4.1. Ekstraksi daun mahkota dewa

Ekstraksi daun mahkota dewa mengikuti metode Sugiwati (Sugiwati *et al.*, 2009) namun tidak sampai akhir tapi sampai langkah ekstraksi dimana proses pemurnian lebih lanjut tidak meningkatkan aktivitas antihiperqlikemik sampel. Ekstraksi yang dilakukan menggunakan pelarut polar yaitu metanol dan pelarut semi-polar yaitu etil asetat. Tahap awal ekstraksi yaitu proses maserasi daun mahkota dewa dalam larutan metanol 95% selama 4 hari. Larutan selanjutnya berubah warna menjadi hijau pekat yang menandakan senyawa yang terdapat dalam daun telah larut dalam pelarut yang digunakan. Kemudian larutan dievaporasi menggunakan rotavapor pada suhu 60°C sampai larutan menjadi kental dan berwarna coklat kehitaman. Larutan hasil proses ekstraksi awal daun mahkota dewa ditampilkan pada Gambar 4.1. Larutan pekat (fraksi metanol) ditambahkan campuran etil asetat dan air dengan perbandingan 1:1 (v/v) kemudian terbentuk dua lapisan, yaitu fraksi etil asetat (di atas) dan fraksi air (di bawah), hasil pemisahan kedua larutan tersebut ditampilkan pada Gambar 4.2. Proses ekstraksi sampai tahap pelarutan dengan etil asetat karena berdasarkan hasil yang telah didapatkan Sugiwati (2009), fraksi etil esetat memiliki aktivitas inhibisi *α-glukosidase* yang besar (Sugiwati *et al.*, 2009). Fraksi etil asetat kemudian dievaporasi pada suhu 60°C sampai menjadi kental dan setelah mengental ditambahkan 5 mL etanol *food grade*. Berdasarkan hasil ekstraksi yang telah dilakukan oleh Sugiwati (2009), fraksi etil asetat yang memiliki aktivitas antihiperqlikemik yang besar mencapai 56,92% sedangkan fraksi lain seperti fraksi metanol dan fraksi air untuk masing-masingnya besar aktivitas antihiperqlikemik hanya mencapai 14,25% dan 10,97% (Sugiwati *et al.*, 2009).



Gambar 4.1. Larutan hasil proses ekstraksi awal daun mahkota dewa, (a) Larutan hasil maserasi daun mahkota dewa dengan metanol (b) fraksi metanol kental

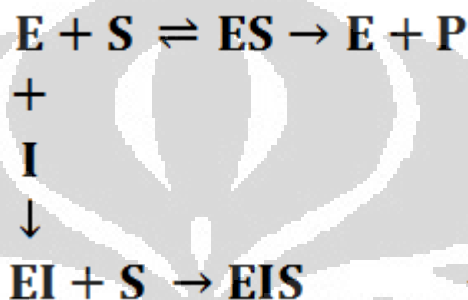


Gambar 4.2. Larutan hasil penambahan etil asetat dan air: (a) fraksi etil asetat (b) fraksi air

4.2. Hasil Pengujian Aktivitas Antihiperqlikemik

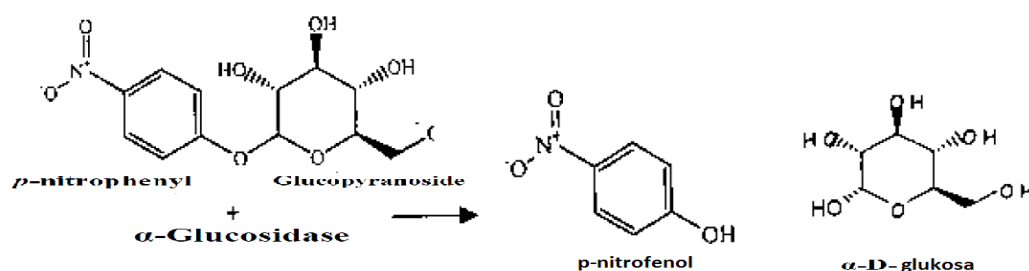
Pengujian aktivitas antihiperqlikemik dilihat dari kemampuan inhibisi enzim α -glukosidase dari sampel. Seperti yang telah diketahui bahwa kerja antihiperqlikemik dari inhibitor α -glukosidase berasal dari inhibisi reversibel kompetitif (Sugiwati, 2005). Pengaruh inhibitor kompetitif dapat diatasi dengan menambahkan konsentrasi substrat karena sering kali inhibitor mengikat bagian aktif dari ikatan-substrat dan menghalangi masuknya substrat (Murray *et al.*, 2003). Penelitian ini bertujuan untuk melihat aktivitas inhibisi yang terdapat pada inhibitor (ekstrak daun mahkota dewa) sehingga tidak dilakukan penambahan pada konsentrasi substrat, namun konsentrasi untuk enzim, inhibitor, dan substrat

yang digunakan disamakan besar pengencerannya sehingga besar bagian aktif pada substrat akan terisi dengan enzim atau inhibitor dengan besar yang sama dengan besar bagian aktif yang tersedia pada substratnya. Inhibitor kompetitif bekerja dengan cara mengurangi jumlah molekul enzim bebas yang dapat berikatan dengan substrat (Murray *et al.*, 2003). Reaksi yang terjadi antara enzim (E), substrat (S), dan inhibitor (I) berdasarkan reaksi dalam buku yang ditulis oleh Mathew-Van Holde (Mathew and Van Holde, 1996) dengan sedikit perubahan pada reaksinya ditampilkan pada Gambar 4.3.



Gambar 4.3. Reaksi yang terjadi antara enzim (E), substrat (S), dan inhibitor (I)

Dalam uji aktivitas ini, sampel yang digunakan adalah ekstrak daun mahkota dewa. Untuk sampel lainnya seperti larutan nanopartikel mahkota dewa dan *supernatan* tidak dilakukan pengujian antihiperglikemik karena kedua sampel tersebut masih mengandung protein (kasein) yang perlu dilakukan *treatment* tambahan yaitu pemotongan proteinnya untuk mendapatkan ekstrak yang terdapat didalamnya setelah itu baru dapat dilakukan pengujian antihiperglikemik. Selain sampel ekstrak daun mahkota dewa terdapat dua sampel lain yang juga diukur dalam pengujian ini yaitu sampel yang dibuat untuk mengetahui seberapa besar penyerapan ekstrak terhadap substrat yang digunakan dalam pengujian tanpa menggunakan penambahan enzim didalamnya dan sampel sebagai penanda aktivitas tanpa adanya inhibisi. Masing-masing sampel kemudian dilihat kemampuan dalam menginhibisi α -glukosidase dengan perbedaan waktu inkubasi yaitu 5, 10, 15, dan 20 menit. Ketika enzim dicampurkan dengan substrat terjadi reaksi antara keduanya (Sugiwati *et al.*, 2009) ditampilkan dalam Gambar 4.4 berikut



Gambar 4.4. Reaksi enzimatik antara enzim α -glukosidase dengan substrat *p*-nitrofenil α -D-glukopiranoside

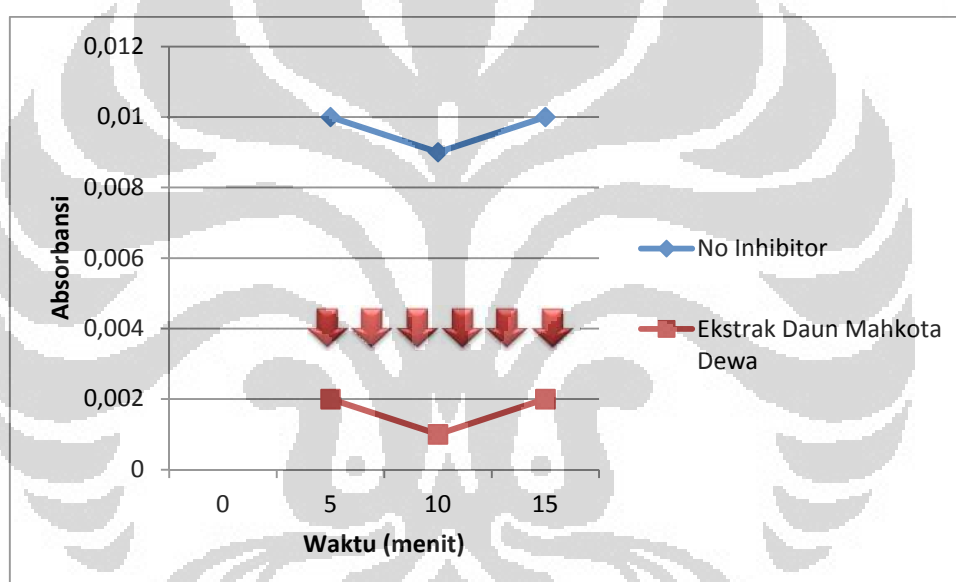
Reaksi antara enzim dan substrat yang terjadi akan membentuk warna kuning menandakan terbentuknya senyawa *p*-nitrofenol. Selanjutnya dilakukan pengukuran absorbansi dari masing-masing sampel pada panjang gelombang 400 nm. Data aktifitas antihiperqlikemik dari sampel dituliskan dalam Tabel 4.1.

Tabel 4.1. Data aktivitas antihiperqlikemik

Jenis Sampel	Absorbansi 400 nm		
	5 menit	10 menit	15 menit
No Inhibitor	0,010	0,009	0,010
Ekstrak Daun	0,002	0,001	0,002

Dari data tersebut dapat terlihat bahwa kemampuan inhibisi tiap sampel per menit berubah-ubah dengan perubahan nilai yang tidak terlalu signifikan. Pengukuran absorbansi dilakukan untuk mengukur kepekatan warna kuning dari senyawa *p*-nitrofenol yang terbentuk dari larutan sampel yang diukur sebagai tanda terjadinya reaksi antara substrat dengan enzim. Semakin kuning warna larutan maka semakin lama reaksi antara enzim dan substrat terjadi. Untuk sampel tanpa inhibitor, warna larutan yang terbentuk yaitu kuning terang yang menandakan bahwa reaksi antara substrat dan enzim berlangsung dengan sangat baik dan dapat dilihat dari hasil pengukuran absorbansinya dimana absorbansi sampel tanpa inhibitor lebih besar. Untuk sampel, warna larutan terlihat sedikit menguning namun tidak sekuning warna larutan tanpa inhibitor. Hal ini menandakan bahwa sampel yang mengandung inhibitor yaitu ekstrak daun

mahkota dewa memiliki aktivitas untuk menghambat enzim α -glukosidase yang membuat terjadinya hiperglikemik dengan sangat baik dan menghambat terbentuknya senyawa p-nitrofenol sehingga warna larutan yang dihasilkan lebih bening dan sedikit menguning. Hal ini dapat terlihat dari data pada Tabel 4.2 dimana nilai absorbansi yang cukup jauh berbeda antara sampel tanpa inhibitor dengan sampel dengan inhibitor ekstrak daun mahkota dewa. Untuk menggambarkan seberapa jauh aktivitas antihiperglikemik yang terjadi, selanjutnya dibuat grafik yang menghubungkan antara absorbansi terhadap waktu reaksi yang terjadi. Gambar 4.6 mengilustrasikan aktivitas antihiperglikemik yang terjadi pada ekstrak daun mahkota dewa bekerja efektif.

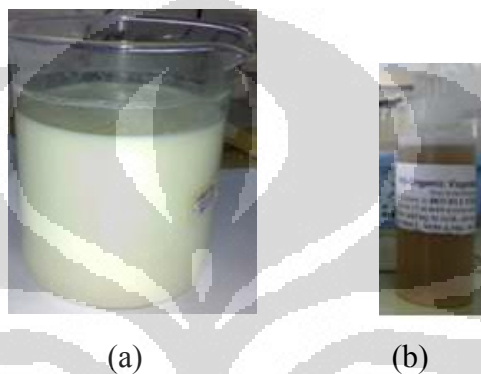


Gambar 4.5. Aktivitas antihiperglikemik dalam menginhibisi enzim α -glukosidase

4.3. Ekstraksi kasein

ekstraksi kasein diawali dengan proses pasteurisasi 500 mL susu sapi murni pada suhu antara 65°C-70°C selama 15 menit, selanjutnya susu didinginkan dan ditambahkan beberapa tetes rennet untuk menggumpalkan susu sehingga terbentuk endapan kasein pada larutan. Bahan-bahan yang digunakan dalam proses ekstraksi kasein ditampilkan pada Gambar 4.7. Dalam rennet terdapat enzim *chymosin* yang menghidrolisis ikatan spesifik pada *kappa-casein* susu, sehingga terjadi pemutusan ikatan, pada susu, *kappa-casein* bertindak sebagai *stabilizer* (Sahu, 2008). Selanjutnya akan terbentuk endapan kasein seperti yang

ditampilkan pada Gambar 4.8. Kemudian larutan disaring dan dibilas dengan air bebas mineral dengan suhu 70°C membuat enzim *chymosin* yang berada dalam rennet menjadi tidak aktif. *Retentat* kemudian disimpan di dalam lemari es pada wadah tertutup. Dari proses yang dilakukan didapatkan kasein sebanyak 35 gr per 500 mL susu. Banyaknya kasein yang dapat dihasilkan selama proses ekstraksi bergantung pada kualitas rennet yang digunakan, karena apabila kualitas rennet telah menurun maka kasein yang dapat dihasilkan menjadi sedikit jumlahnya.



Gambar 4.6. Bahan yang digunakan dalam proses ekstraksi kasein: (a) larutan susu sapi (b) rennet untuk pembentukan kasein

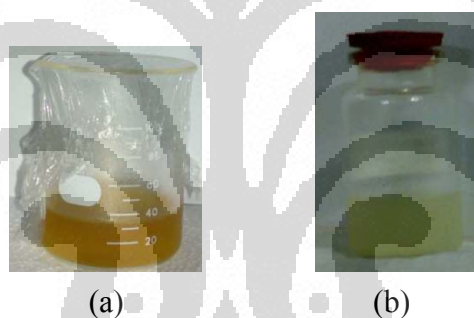


Gambar 4.7. Endapan kasein yang terbentuk dalam larutan susu sapi

4.4. Penyalutan Ekstrak Daun Mahkota Dewa dengan Kasein

Larutan yang digunakan untuk proses penyalutan adalah buffer posfat pH 7 yang berfungsi sebagai pembentuk jembatan kalsium posfat pada kasein dan pH larutan dijaga agar tetap pada pH 7 menggunakan HCl 0,1 M dan NaOH 0,1 M, kemudian dilakukan penambahan CaCl_2 secara bertahap agar kasein dapat

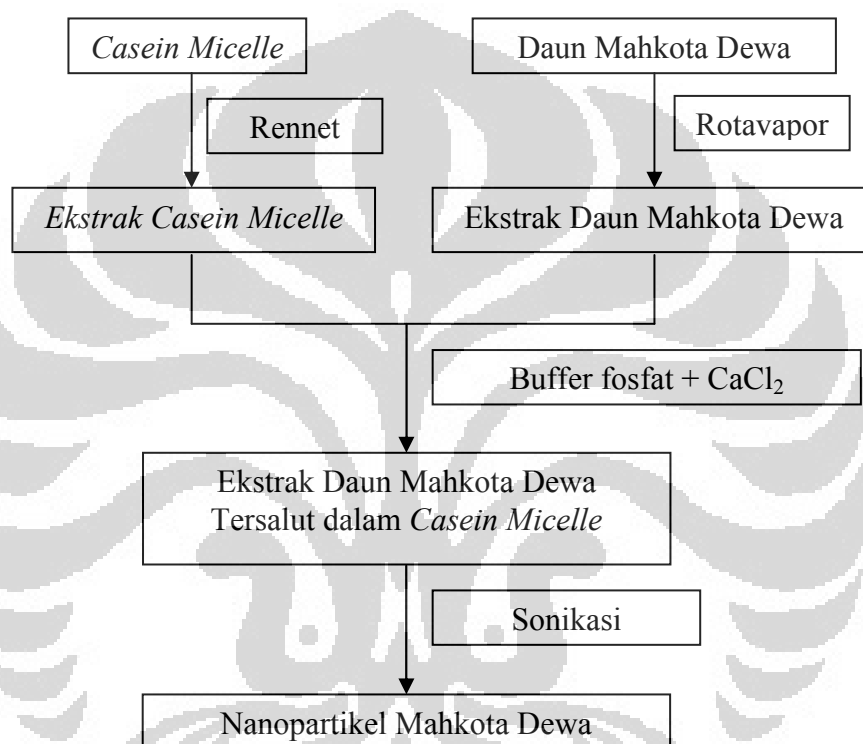
menyalut ekstrak daun mahkota dewa. Setelah proses pencampuran casein dan ekstrak daun mahkota dewa, untuk memperkecil campuran menjadi partikel nano digunakan gelombang *ultrasonic* dengan intensitas 30% selama 5 menit, sehingga terjadi kavitasi akustik. Kavitasi akustik menghasilkan gelembung udara yang dapat memecahkan partikel yang ada dalam larutan sehingga membentuk partikel berukuran nano. Setelah proses sonikasi dilakukan mikrofiltrasi yang menghasilkan dua sampel yaitu *permeate* dan *retentate*. Kemudian tahapan dilanjutkan dengan proses sentrifugasi pada *permeate* hasil mikrofiltrasi. Dari proses ini didapatkan supernatan yang bening (*supernatan*) dan endapan berwarna sedikit kecoklatan. Endapan dari proses tersebut merupakan nano mahkota dewa. Endapan kemudian dilarutkan dalam buffer fosfat dan disonikasi kembali untuk menghasilkan larutan yang homogen. Hasil proses penyalutan ditampilkan pada Gambar 4.9.



Gambar 4.8. Hasil proses penyalutan, (a) supernatan hasil sentrifugasi (*supernatan*) (b) nano mahkota dewa dalam buffer fosfat

Berikut merupakan ringkasan penelitian sampai proses pembuatan nanopartikel mahkota dewa untuk menggambarkan proses yang terjadi dalam pembuatan nanopartikel mahkota dewa. *Casein micelle* dalam susu awalnya masih memiliki jembatan kalsium fosfat, kemudian ditambahkan dengan rennet. Pada penambahan rennet tersebut, terjadi proses hidrolisis yang memutuskan jembatan kalsium fosfat tersebut sehingga terbentuk gumpalan susu dan didapatkan ekstrak *casein micelle*. Pada tahap lain, dilakukan ekstraksi daun mahkota dewa untuk mendapatkan senyawa aktif dari daun mahkota dewa tersebut. Dua komponen untuk pembentukan nanopartikel yaitu ekstrak daun mahkota dewa (senyawa bioaktif) dan ekstrak *casein micelle* telah dihasilkan. Selanjutnya dilakukan tahap

penyalutan antara kedua ekstrak tersebut. Pada proses penyalutan, setelah kedua ekstrak tersebut dicampurkan, larutan ditambahkan dengan buffer fosfat dan CaCl_2 . Penambahan kedua larutan tersebut bertujuan untuk membentuk kembali jembatan kalsium fosfat sehingga dapat membuat ekstrak senyawa aktif tersalut oleh *casein micelle*. Setelah itu dilakukan proses sonikasi untuk mendapatkan partikel nano dari proses penyalutan tersebut. Proses yang terjadi selama penyalutan diilustrasikan dalam Gambar 4.10.



Gambar 4.9. Proses yang terjadi selama pembuatan nanopartikel mahkota dewa dengan menggunakan penyalut *casein micelle*.

4.5. Hasil Pengujian Efisiensi Penyalutan

Pengujian spektrometri dilakukan pada tiga pengujian analisis yaitu untuk penentuan kadar flavonoid dan karbohidrat. Pada penentuan kadar flavonoid, metode yang digunakan adalah metode aluminium klorida (AlCl_3) dimana sampel dengan senyawa flavonoid akan berubah warna menjadi kuning setelah penambahan AlCl_3 dan selanjutnya dilakukan pengukuran absorbansi pada $\lambda = 415$ nm. Untuk penentuan kadar karbohidrat, menggunakan metode Anthrone yang mana apabila sampel mengandung senyawa karbohidrat maka akan

mengalami perubahan warna menjadi hijau setelah penambahan Anthrone dan selanjutnya dilakukan pengukuran absorbansi pada $\lambda = 630$ nm. Setelah pengukuran dilakukan perhitungan untuk menentukan kadar dari masing-masing pengujian. Berikut merupakan hasil analisis spektrometri untuk pengujian-pengujian tersebut yang dituliskan dalam Tabel 4.2.

Tabel 4.2. Data hasil pengukuran spektrometri

Sampel	Kadar Flavonoid (μg)	Kadar Karbohidrat (μg)
Ekstrak Daun	7718,508	352,894
Supernatan	4478,818	789,756
Efisiensi Penyalutan	42%	0%

Tabel 4.2 menunjukkan data kadar flavonoid dan karbohidrat yang didapatkan dari masing-masing sampel uji. Efisiensi penyalutan didapatkan dari pembagian kadar senyawa aktif dari pengurangan ekstrak daun dan supernatan dengan senyawa aktif pada ekstrak daun. Pengukuran hanya dilakukan pada ekstrak daun dan supernatan sedangkan untuk sampel lain seperti endapan hasil mikrofiltrasi tidak dilakukan pengujian spektrometri. Hal ini disebabkan karena sampel tersebut masih terdapat banyak padatan yang membuat larutan menjadi keruh serta dapat mengganggu hasil pengukuran absorbansi. Pada hasil pengujian kadar flavonoid didapatkan hasil bahwa kadar flavonoid ekstrak daun sebesar 7718,508 μg dan pada supernatan sebesar 4478,818 μg . Dari hasil tersebut dapat dikatakan bahwa flavonoid berhasil tersalut dalam kasein dengan efisiensi penyalutan sebesar 42%. Untuk hasil pengujian karbohidrat didapatkan hasil yaitu kadar karbohidrat pada ekstrak daun sebesar 352,894 μg dan pada supernatan sebesar 789,756 μg . Hasil tersebut menunjukkan bahwa kadar karbohidrat pada supernatan lebih besar, hal ini disebabkan karena pada proses penyalutan tersebut ditambahkan kasein yang juga mengandung senyawa karbohidrat sehingga hasil perhitungan kadar karbohidrat yang terbentuk pada supernatan menjadi

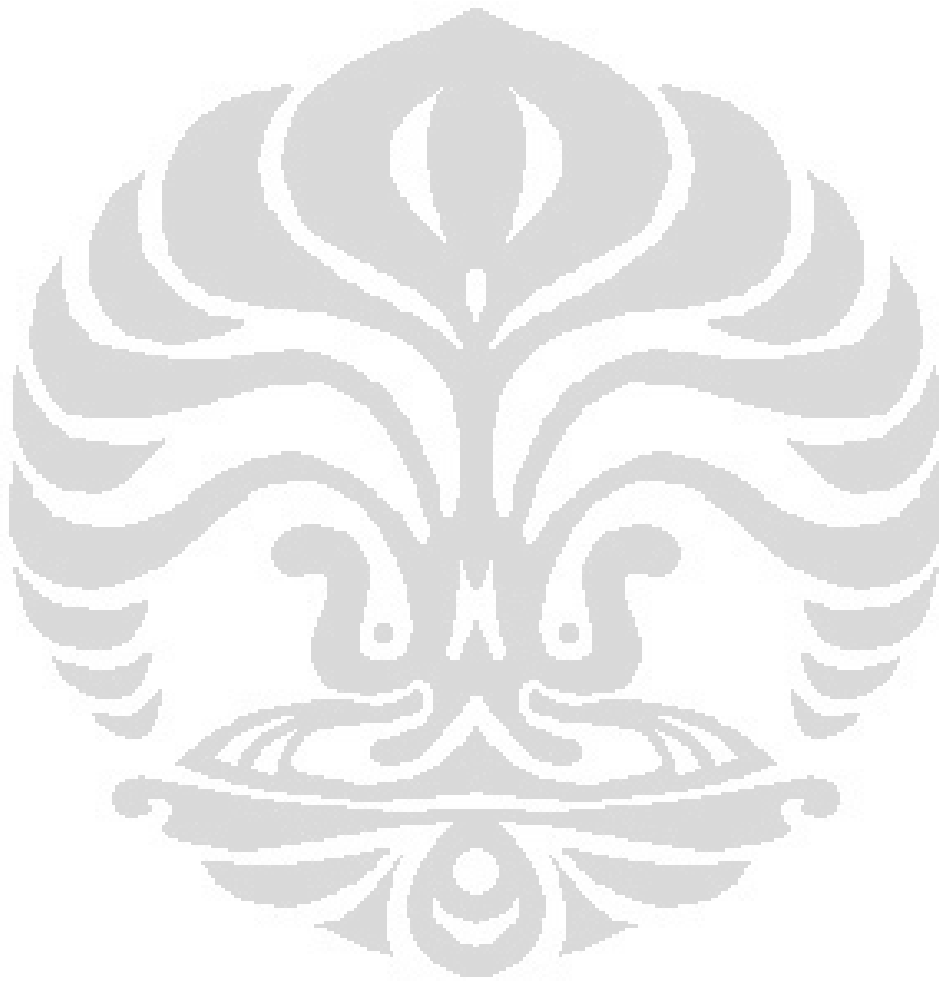
bertambah. Dari hasil tersebut, efisiensi penyalutan untuk senyawa karbohidrat menjadi negatif atau dapat dikatakan senyawa aktif tersebut tidak dapat tersalut dalam kasein. Hal ini disebabkan karena penyerapan zat aktif ke dalam kasein sudah maksimal sehingga membuat zat aktif lainnya tidak dapat ikut tersalut dalam kasein. Dengan kata lain, kapasitas penyerapan kasein telah maksimal dan jumlah efisiensi penyalutan terbesar yang memenuhi kapasitas zat aktif yang tersalut dalam kasein tersebut. Senyawa aktif yang memenuhi kapasitas tersebut adalah flavonoid dan kapasitas senyawa flavonoid yang tersalut dalam kasein sebesar 3239,69 μg per 3 mL. Untuk proses selanjutnya diharapkan dapat ditentukan besar volum dan massa yang tepat pada saat proses penyalutan ekstrak daun mahkota dewa dengan kasein sehingga didapatkan efisiensi penyalutan ekstrak yang tinggi dimana tidak hanya satu senyawa aktif saja yang dapat tersalut dalam kasein.

4.6. Hasil Pengukuran Distribusi Partikel

Pengukuran distribusi partikel nano dengan menggunakan *Particle Size Analyzer* (PSA) Delta™ Nano C dan dilakukan *running* pengukuran sebanyak dua kali. Pengukuran dilakukan pada larutan produk akhir yaitu larutan dengan nano mahkota dewa yang merupakan endapan hasil sentrifugasi yang telah ditambahkan buffer fosfat. Pada pengujian distribusi partikel ini diharapkan hasil partikel yang terbentuk berukuran nano. Pentingnya didapatkan hasil berupa partikel nano dikarenakan dengan produk berukuran nano, proses pengantaran obat menjadi lebih maksimal dan selektif pada area spesifik dalam tubuh serta meminimalisasikan terjadinya efek samping (Chen *et al.*, 2006).

Dari hasil pengukuran tersebut, didapatkan diameter partikel yang fluktuatif yaitu pada 99,4 nm dan 119,9 nm. Apabila di rata-rata ukuran partikel yang didapatkan yaitu 109,65 nm. Besar nilai diameter dengan perbedaan yang cukup jauh dari setiap proses pengukuran menandakan bahwa larutan dengan nanofood mahkota dewa (endapan hasil sentrifugasi yang telah ditambahkan buffer fosfat dan disonikasi) ternyata belum sepenuhnya homogen. Meskipun demikian, besar diameter yang dihasilkan dari pengukuran tersebut sudah berada dalam rentang partikel nano karena produk nanopartikel memiliki ukuran <1000

nm (Mohanraj and Chen, 2006). Percobaan yang telah dilakukan Supardi dengan proses penyalutan yang sama telah dilakukan pada ekstrak propolis, ukuran partikel yang dibentuk dari proses tersebut yaitu 316,1 nm (Supardi, 2011). Dengan proses yang sama, ukuran partikel ekstrak daun mahkota dewa lebih kecil dibandingkan ukuran partikel propolis. Dengan kata lain, ukuran partikel yang dibentuk akan berbeda-beda sesuai dengan jenis ekstrak yang digunakan.



BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

- a. Ekstrak Mahkota Dewa dapat dibuat menjadi produk nanofood dengan penyalut *casein micelle*.
- b. Kapasitas penyerapan kasein telah maksimal, senyawa aktif yang memenuhi kapasitas tersebut adalah flavonoid, kapasitas senyawa flavonoid yang tersalut dalam kasein sebesar 3239,69 μg per 3 mL.
- c. Produk nanofood mahkota dewa yang terbentuk memiliki rata-rata ukuran partikel yaitu 109,65 nm.
- d. Aktivitas antihiperlikemik dari ekstrak daun mahkota dewa bekerja efektif dalam menghambat enzim α -glukosidase.

Saran

- a. Dibutuhkan pengujian lebih lanjut untuk mengetahui efektifitas pelepasan aktifitas dari zat aktif yang terekapsulasi dalam tubuh.
- b. Dibutuhkan *treatment* tambahan untuk memotong protein kasein yang menyalutnya terlebih dahulu dalam pengujian antihiperlikemik pada ekstrak daun yang telah di-enkapsulasi dengan kasein.

DAFTAR PUSTAKA

- Arini, S., Nurmawan, D., Alfiani, F. & Hertiani, T. 2003. Daya Antioksidan dan Kadar Flavonoid Hasil Ekstraksi Etanol-Air Daging Buah Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl.), Vol. 10, pp. 2-6
- Beckman Coulter, I. (2008). Delsa Nano Series. Retrieved Desember 24, 2011, from http://www.dafratec.com/pdf/catalogo_DelsaNano.pdf
- Chang C, Yang M, Wen H, Chern J .Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal Food Drug Analysis*, 10(2002)., pp. 178-182
- Chen, L., Remondetto, G. E., & Subirade, M. (2006). Food protein-based materials as nutraceutical delivery systems. *Trends in Food Science & Technology*, pp. 272-283.
- Community, T. G. D. 2011. Treatment for Diabetes [Online]. UK: Diabetes.co.uk. Available: <http://www.diabetes.co.uk/treatment.html> [Accessed 25 Mei 2011].
- Ghasemi, K., Ghasemi, Y., & Ebrahimzadeh, M. A. (2009). ANTIOXIDANT ACTIVITY, PHENOL AND FLAVONOID CONTENTS OF 13 CITRUS SPECIES PEELS AND TISSUES. *Pakistan Journal of Pharmacy Science.*, pp. 227-281.
- Faried, A., Kurnia, D., Faried, L. S., Usman, N., Miyazaki, T., Kato, H. & Kuwano, H. 2007. Anticancer effects of gallic acid isolated from Indonesian herbal medicine, *Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl, on human cancer cell lines. *International Journal of Oncology*, 30, pp. 605-613.
- Fessenden & Fessenden. *Kimia Organik edisi ketiga terjemahan Aloysius Hadyana Pudjaatmaka*. Erlangga. (1982)., pp. 436-438.
- Fitrial, Y., Astawan, M., Soekarto, S. S., Wiryawan, K. G., Wresdiyati, T. & Khairina, R. 2008. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Biji Teratai (*Nymphaea pubescens* Wild) Terhadap Bakteri Patogen Penyebab Diare. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan* 12., pp. 158-164.

- Hedge, J.E. and Hofreiter, B.T. (1962). In: Carbohydrate Chemistry, 17 (Eds. Whistler R.L. and Be Miller, J.N.), Academic Press, New York, pp. 17.
- IPTL. (n.d.). Ultra-Violet/Visible (UV/VIS) Spectrophotometry. Intertek Plastics Tecnology Laboratories: <http://www.ptli.com/testlopedia/tests/UV-VIS-SPEC.asp> [Accessed 2 Januari 2012]
- Kanazawa, K. 2010. Casein Nanoparticle. Japan patent application US 2010/0143424 A1.
- Khomsan, A. 2002. SUSU MINUMAN BERGIZI UNTUK PENINGKATAN KUALITAS SDM [Online]. Pacifik Link. Available: http://kolom.pacific.net.id/ind/ali_khomsan/artikel_ali_khomsan/susu_minuman_bergizi_untuk_peningkatan_kualitas_sdm.html [Accessed 25 Mei 2011].
- Kitts, D. D., DU, K., Shields, R. & Wong, P. Milk Protein [Online]. Available: <http://www.landfood.ubc.ca/courses/fnh/301/protein/pro-33.html>. [Accessed 14 April 2011].
- Koda-Kimble, M. A. 2008. Type 2 Diabetes: Managing Secondary Failure to Oral Agents. Available: <http://www.accp8.org> [Accessed 25 Mei 2011].
- Kumpulan.info. 2009. Mengenal Susu dan Manfaatnya. Available: <http://kumpulan.info/sehat/artikel-kesehatan/48-artikel-kesehatan/131-mengenal-susu-dan-manfaat.html> [Accessed 24 Mei 2011]
- Livney, Y. D. & Dalgleish, D. G. 2009. Casein Micelles for Nanoencapsulation of Hydrophobic Compounds. United States patent application US 2009/0311329 A1.
- Mathew, C. K., & Van Holde, K. E. (1996). Biochemistry. Menlo Park: The Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc., pp. 386.
- Mohanraj VJ & Y Chen. Nanoparticle-A Review. Tropical Journal of Pharmaceutical Research 5 (2006), pp. 561-573.
- Murray, R. K., Granner, D. K., Mayes, P. A., & Rodwell, V. W. (2003). Harper's Illustrated Biochemistry. London: McGraw-Hill., pp. 67-68.
- National Diabetes Information Clearinghouse. 2008. Diabetes Overview [Online]. Bethesda National Diabetes Information Clearinghouse (NDIC).

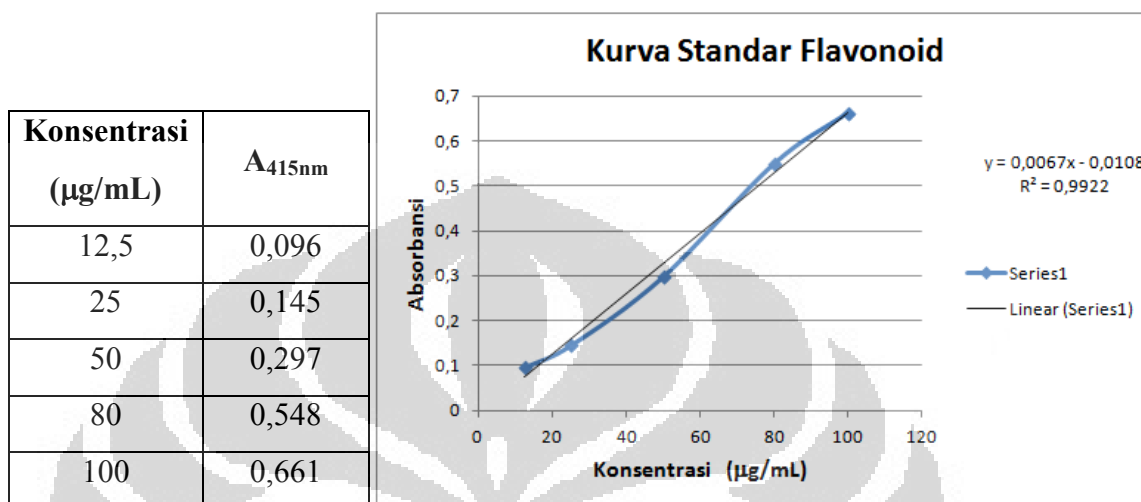
- Available: <http://diabetes.niddk.nih.gov/dm/pubs/overview/> [Accessed 24 Mei 2011].
- Oliviany, W., W, C. E. & Pratama, G. B. 2009. Pemanfaatan Efek Kombinasi Ekstrak Biji Buah Alpukat (*Persea americana*) Dengan Ekstrak Rumput Laut (*Eucheuma spinosum*) Dalam Menurunkan Kadar Glukosa Darah Pada Diabetes Melitus. Semarang: Universitas Diponegoro., pp. 14.
- Park, Y. W., Juárez, M., Ramos, M. & Haenlein, G. F. W. 2007. Physico-chemical characteristics of goat and sheep milk. *Small Ruminant Research*, Vol. 68, pp. 88-113.
- Pinzon, R. 2011. Diabetes di Indonesia [Online]. Yogyakarta: Wordpress. Available: <http://sehat-bebaspenyakit.com/search/data-kasus-diabetes-di-indonesia/> [Accessed 24 Mei 2011].
- Rachmiwi 2008. Proses pengepakan susu perah. <http://multiply.com> [Accessed 25 Mei 2011]
- Roy, N., Mondal, S., Laksar, R. A., Basu, S., Mandal, D. & Begum, N. A. 2010. Biogenic synthesis of Au and Ag nanoparticles by Indian propolis and its constituents. *Colloids and Surface B: Biointerfaces*, pp. 317-325.
- Sahu, Abisek, Naresh Kasoju, & Utpal Bora. *Fluorescen Study of the Curcumin – Casein Micelle Complexation and Its Application as a Drug Nanocarrier to Cancer Cells*. *Biomacromolecules* Vol.9 (2008)., pp. 2905-2912.
- Semo, Efrat, Ellina Kesselman, Dganit Danino, Yoav D.Livney . Casein micelle as a natural nano-capsular vehicle for nutraceuticals, *Food Hydrocolloids* 21 (2007), pp. 936-942.
- Shapira, A., Markman, G., Assaraf, Y. G. & Livney, Y. D. Beta-casein-based nanovehicles for oral delivery of chemotherapeutic drugs: drug-protein interactions and mitoxantrone loading capacity. *Nanomedicine*, Vol. 6, pp. 547-55.
- Sugiwati, S. 2005. Aktivitas Antihiperqlikemik Dari Ekstrak Buah Mahkota Dewa [*Phaleria Macrocarpa* (Scheff.) Boerl.] Sebagai Inhibitor Alfa-Glukosidase in vitro dan in vivo pada Tikus Putih. Bogor: Institut Pertanian Bogor. pp. 2.

- Sugiwati, S., Setiasih, S. & Afifah, E. 2009. Antihyperglycemic Activity Of The Mahkota Dewa [*Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl.] Leaf Extracts As An Alpha-Glucosidase Inhibitor. *MAKARA KESAHATAN*, Vol. 13, pp. 74-78.
- Sundari, I. 2010. Identifikasi Senyawa Dalam Ekstrak Etanol Biji Buah Merah (*Pandanus conoideus* Lamk.). Surakarta: Universitas Sebelas Maret., pp. 23-44.
- Supardi, Tony. 2011. Pembuatan Nanofood Propolis Menggunakan Penyalut Casein Micelle. Depok: Universitas Indonesia., pp. 15-45.
- Supriyono. 2011. *Phaleria macrocarpa* [Online]. Hubpages. Available: <http://hubpages.com/hub/Phaleria-Macrocarpa> [Accessed 18 Februari 2011].
- Syariefa. 2003. Mahkota Dewa CS Versus Kanker dan Tumor. Majalah Trubus. Bogor. Pp. 4-5
- Syukri, Y. & Saepudin 2008. Aktivitas Penghambatan Kejadian Kanker Ekstrak Buah Mahkota Dewa (*Phaleria Macrocarpa* Boerl.) pada Mencit yang Diinduksi 7,12-Dimetilbenz(A)Antrasen. Vol. 5, pp. 10-14.
- Wahyuningsih, M. S., Mubarika, S., & Wahyuono, S. (n.d.). PENGARUH PHALERIN HASIL ISOLASI DARI DAUN *Phaleria macrocarpa* (Scheff) Boerl TERHADAP EKSPRESI PROTEIN p53 SEL EVSA-T IN VITRO, pp. 1-6.
- Wikipedia. 2011. Milk [Online]. Wikipedia. Available: <http://en.wikipedia.org/wiki/Milk> [Accessed 23 Mei 2011].
- Wild, S., Roglic, G., Green, A., Sicree, R. & King, H. 2004. Global Prevalence of Diabetes. Estimates for the year 2000 and projections for 2030 [Online]. Available: [http:// www.who.int](http://www.who.int), Vol. 5. [Accessed 24 Mei 2011].

LAMPIRAN A

Penentuan Kadar Flavonoid

Standar pengujian yang digunakan adalah Quercetin.



Sampel	$A_{415\text{nm}}$	Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Volume akhir larutan (mL)	Total Flavonoid (μg)
Ekstrak daun	1,713	2.572,836	3	7.718,508
<i>Supernatan</i>	0,086	144,478	31	4.478,818

Contoh perhitungan konsentrasi total flavonoid:

$$y = 0,0067x - 0,0108$$

y = absorbansi sampel

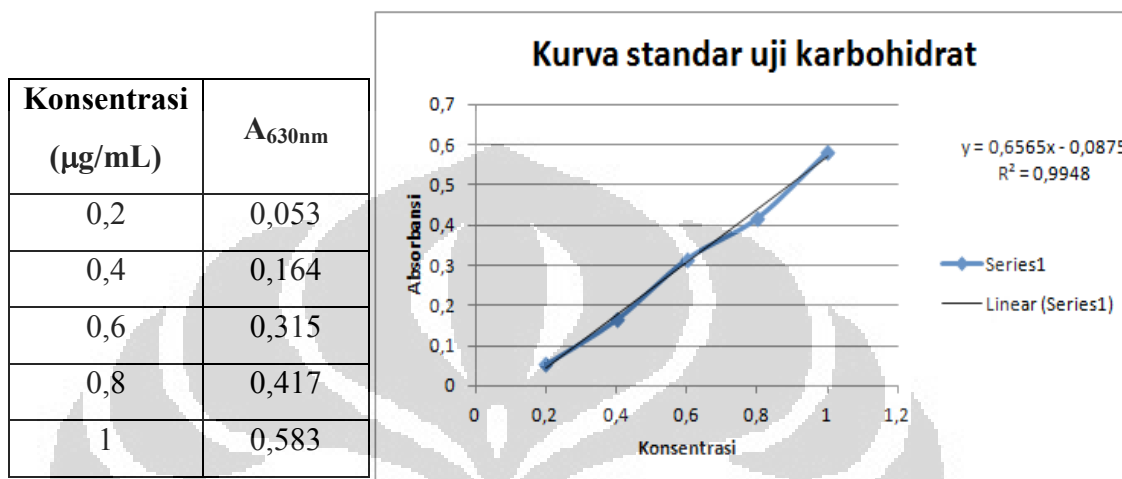
x = konsentrasi sampel

Konsentrasi sampel dapat ditentukan dengan memasukkan nilai absorbansi yang didapatkan ke dalam persamaan linear dari standar uji. Selanjutnya dapat ditentukan kadar flavonoid yang terdapat dalam sampel dengan cara mengalikan konsentrasi sampel dengan volume akhir larutan.

LAMPIRAN B

Penentuan Kadar Karbohidrat

Standar pengujian yang digunakan adalah Anthrone.



Sampel	$A_{630\text{nm}}$	Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Volume akhir larutan (mL)	Total Karbohidrat (μg)
Ekstrak daun	1,457	117,631	3	352,894
Supernatan	0,247	25,476	31	789,756

Contoh perhitungan konsentrasi total flavonoid:

$$y = 0,6565x - 0,0875$$

y = absorbansi sampel

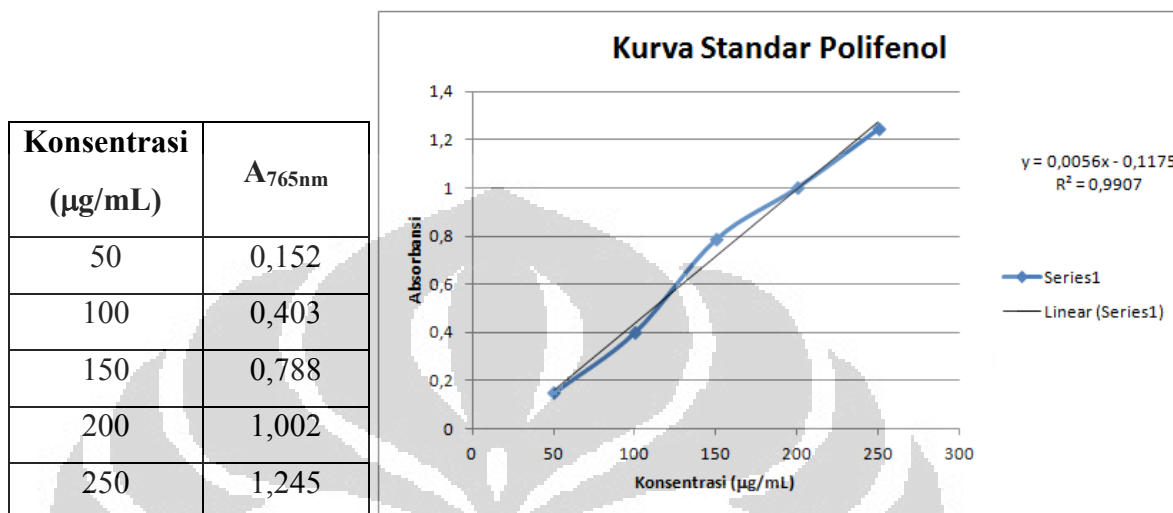
x = konsentrasi sampel

Konsentrasi sampel dapat ditentukan dengan memasukkan nilai absorbansi yang didapatkan ke dalam persamaan linear dari standar uji. Selanjutnya dapat ditentukan kadar karbohidrat yang terdapat dalam sampel dengan cara mengalikan konsentrasi sampel dengan volume akhir larutan.

LAMPIRAN C

Penentuan Kadar Polifenol

Standar pengujian yang digunakan adalah Asam Galat.



Sampel	$A_{765\text{nm}}$	Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Volume akhir larutan (mL)	Total Polifenol (μg)
Ekstrak daun	1,846	8.765,625	3	26.296,875
Supernatan	0,508	2.792,411	31	86.564,741

Contoh perhitungan konsentrasi total flavonoid:

$$y = 0,0056x - 0,1175$$

y = absorbansi sampel

x = konsentrasi sampel

Konsentrasi sampel dapat ditentukan dengan memasukkan nilai absorbansi yang didapatkan ke dalam persamaan linear dari standar uji. Selanjutnya dapat ditentukan kadar polifenol yang terdapat dalam sampel dengan cara mengalikan konsentrasi sampel dengan volume akhir larutan.

LAMPIRAN D

Hasil Pengujian Aktivitas Antihiperlikemik

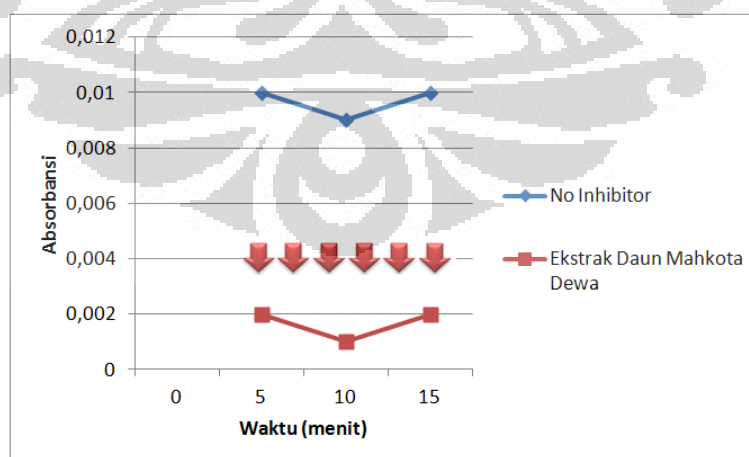
Hasil pengukuran absorbansi yang digunakan adalah absorbansi sampel dengan inhibitor dan tanpa inhibitor pada range waktu yang telah ditentukan.

Jenis Sampel	5 menit	10 menit	15 menit
No Inhibitor	0,01	0,009	0,01
Ekstrak	0,04	0,039	0,04

Dari absorbansi tersebut selanjutnya dikurangi dengan absorbansi dari serapan untuk sampel dengan inhibitor sehingga didapatkan absorbansi yang menjadi data uji aktivitas. Absorbansi sampel serapan yang didapat yaitu 0,038

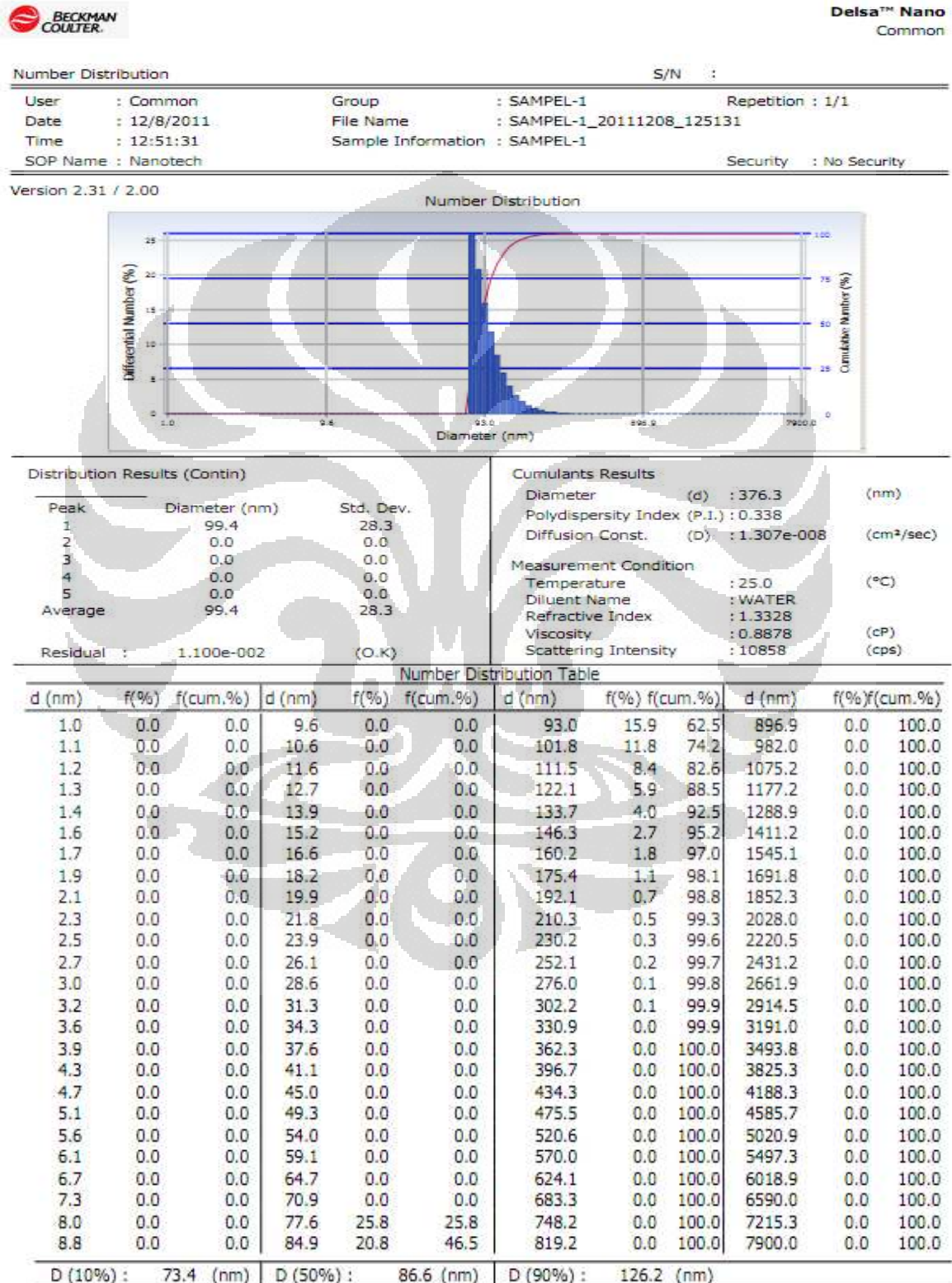
Jenis Sampel	5 menit	10 menit	15 menit
No Inhibitor	0,01	0,009	0,01
Ekstrak	0,002	0,001	0,002

Data yang telah dikurangi dengan absorbansi serapan selanjutnya digambarkan ke dalam grafik yang menghubungkan absorbansi (%) dan waktu untuk melihat efektivitas dari inhibisi yang terjadi.



LAMPIRAN E

Hasil Pengukuran Distribusi Partikel Menggunakan *Particle Size Analyzer* (PSA)

1. *Running pertama*

LAMPIRAN F

Hasil Pengukuran Distribusi Partikel Menggunakan *Particle Size Analyzer* (PSA)

2. *Running* kedua