

**UJI INHIBISI ENZIM α -GLUKOSIDASE SECARA
IN VITRO EKSTRAK METANOL DAN FRAKSI-
FRAKSINYA DARI DAUN LABAN (*Vitex pinnata*
Linn.) ASAL BOGOR, JAWA BARAT**

SKRIPSI

**Disusun untuk memenuhi salah satu syarat memperoleh gelar
Sarjana Sains**



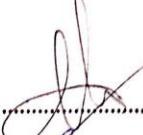
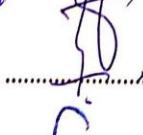
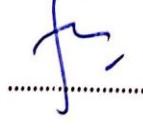
**Anisa Nopa Riyani
3325130972**

**PROGRAM STUDI KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS NEGERI JAKARTA
2017**

LEMBAR PENGESAHAN

Uji Inhibisi Enzim α -glukosidase Secara *In Vitro* Ekstrak Metanol dan Fraksi-fraksinya Dari Daun Laban (*Vitex pinnata* Linn) Asal Bogor, Jawa Barat

Nama Mahasiswa : Anisa Nopa Riyani
No. Registrasi : 3325130972
Program Studi : Kimia

	Nama	Tanda Tangan	Tanggal
Penanggung Jawab			
Dekan	: Prof. Dr. Suyono, M.Si NIP. 19671218 199303 1 005		21/8/2017
Wakil Penanggung Jawab			
Wakil Dekan I	: Dr. Muktiningsih N., M.Si NIP. 19640511 198903 2 001		21/8/2017
Ketua	: Dr. Yusmaniar, M.Si NIP. 19620626 199602 2 001		16/8/2017
Sekretaris	: Drs. Suhartono, M.Kes NIP. 19550712 198303 1 001		16/8/2017
Anggota Pengaji	: Arif Rahman, M.Sc NIP. 19790216 200501 1 003		15/8/2017
Pembimbing I	: Irma Ratna K., M.Sc.Tech. NIP. 19721204 200501 2 001		16/8/2017
Pembimbing II	: Dr. Fera Kurniadewi, M.Si NIP. 19761231 200112 2 002		21/8/2017
Tanggal Lulus	: Selasa, 8 Agustus 2017		

LEMBAR PERNYATAAN

Saya menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi dengan judul “**Uji Inhibisi Enzim α -glukosidase Ekstrak Metanol Dan Fraksi-Fraksinya Dari Daun Laban (*Vitex pinnata* Linn.) Asal Bogor, Jawa Barat**” yang disusun sebagai syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains dari Program Studi Kimia Universitas Negeri Jakarta adalah karya ilmiah saya dengan arahan dari dosen pembimbing.

Sumber informasi yang diperoleh dari penulis lain yang telah dipublikasikan yang disebutkan dalam teks skripsi ini, telah dicantumkan dalam Daftar Pustaka sesuai dengan norma, kaidah dan etika penulisan ilmiah.

Jika dikemudian hari ditemukan sebagian besar skripsi ini bukan hasil karya saya sendiri dalam bagian-bagian tertentu, saya bersedia menerima sanksi pencabutan gelar akademik yang saya sanding dan sanksi-sanksi lainnya sesuai dengan peraturan perundang-undangan yang berlaku.

Jakarta, 18 Agustus 2017



Anisa Nopa Riyani

LEMBAR PERSEMBAHAN

Bismillahirrahmanirrahim.....

Assalamu'alaikum wr.wb.....

Alhamdulillahirabbil'alamin....

Akhirnya saya dapat menyelesaikan apa yang telah saya mulai...

Puji dan syukur saya panjatkan kepada Allah SWT yang telah memberikan nikmat dan anugerah-Nya sehingga saya dapat menyelesaikan karya sederhana ini dengan baik. Bangga dan senang sekali rasanya dapat mempersembahkan karya ini untuk ayah Arifin dan Almh. mamah Zubaedah dan kakak serta orang-orang dibelakang saya yang telah mendukung dan mendoakan. Terima kasih karena telah memberikan cinta dan kasih sayang yang tulus sepanjang umur saya hingga saat ini hampir mencapai usia 22 tahun. Semoga saya dapat menjadi manusia yang berguna untuk orang-orang disekeliling maupun masyarakat luas diluar sana.

“karena sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan, sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan” (QS Asy-Syarh:5-6)

Saya yakin bahwa dibalik kesuksesan seseorang tidak luput dari peran orang lain dan ALLAH SWT yang senantiasa memberikan rahmat-Nya kepada orang-orang yang yakin akan kuasa-Nya...

Pada kesempatan ini saya ingin menyampaikan ucapan terima kasih kepada orang-orang yang terlibat selama pembuatan karya ini.

Ibu Irma Rtna Kartika, dan Ibu Fera Kurniadewi terima kasih atas kesempatan dan kepercayaan yang telah diberikan kepada saya untuk mengerjakan project penelitian ini. Terima kasih pula untuk bimbingan, arahan, dukungan moril maupun materil yang telah ibu berikan kepada saya sehingga saya dapat termotivasi untuk belajar lebih banyak lagi. Ada kalanya tindakan dan perbuatan saya yang kurang berkenan di hati ibu dan membuat ibu kecewa, maka dari lubuk hati yang paling dalam saya memohon maaf atas segala salah dan khilaf yang pernah saya lakukan.

Kepada kalian rekan-rekan sebidang penelitian, S.R.Ratih Pratiwi, Nurul Ariani, Vera Lesmanawati, terima kasih atas kerjasamanya karena kalian saya jadi lebih mengerti bagaimana untuk menjadi seseorang yang lebih bertanggung jawab dalam mengerjakan sesuatu dan berkerjasama dalam suatu tim. *See you on top, Guys!*

Kesayangan aku.... Teruntuk **Geta Putri Mentari**, teman yang paling bisa bikin ketawa ngakak, dan cuma Geta yang tau gimana caranya nenangin kalo Nopa lagi *bad mood*, Geta harus tau kalo Nopa sayang banget sama Geta.. **Linggar Adjie** (*padahal namanya Aji*) **Pangestu**, teman cowok satu ini yang paling deket, kaau tidak ada Geta, selain yang dicari Ratih yaaa pasti anak satu ini hahah... **Mutia Kanza** biasanya dipanggil acca, makasih yah acca udah hadir dalam hidup Nopa menjadi salah satu temen yang bisa ngajarin gimana caranya jadi perempuan yang mandiri.. **Ahmad Zaini Assidiqih**, yup ini temen cowok terdekat setelah linggar, zaini yang paling gentleman, sabar, lembut dan yang paling penting cowok terkulit putih diantara yang lain haha... Almh. Lena, Rio, Erlan, abang Bail, rafly, febri dan Brilly. Terima kasih kehadiran kalian yang selalu memberikan semangat dan motivasi agar diri ini menjadi pribadi yang lebih baik. Semoga tali ukhuwah kita akan tetap terjalin hingga Jannah-Nya. Amin yaa rabbal'alamin...

Teman-teman kimia 2013 terima kasih karena kalian saya lebih mengenal siapa diri saya dan selalu berkaca untuk menjadi pribadi yang lebih baik, kalian adalah kelurga saya ketika saya menjalani aktivitas di kampus, kalian luar biasa. *Sukses guys love you!!!*

Dedy Setiadi, tidak ada kata lain yang bisa Nopa ucapkan untuk Dedy karena berkat dukungan dalam segi materil maupun non materil yang telah dedy berikan kepada Nopa sehingga Nopa bisa terus berjalan menghadapi segala rintangan dan hambatan selama Nopa kuliah. Thank you so much!!!

S.R. Ratih Pratiwi, yup! Mungkin Allah udah atur jalannya sedemikian rupa sehingga Nopa bisa kenal dengan Ratih. Terima kasih atas pertemuan, perkenalan, dan persahabatannya yaahh... semoga Allah selalu menyatukan kita dalam keadaan apapun. Amiin yaa rabbal'alamin...

ABSTRAK

ANISA NOPA RIYANI. Uji Inhibisi Enzim α -Glukosidase Secara *In vitro* Ekstrak Metanol dan Fraksi-fraksinya dari Daun Laban (*Vitex pinnata* Linn.) Asal Bogor, Jawa Barat. Dibawah bimbingan IRMA RATNA KARTIKA, FERA KURNIADEWI.

Diabetes mellitus (DM) merupakan penyakit menahun yang ditandai dengan kadar glukosa darah melebihi normal. Penelitian ini dilakukan untuk mendapatkan ekstrak metanol dan fraksi-fraksi daun *Vitex pinnata* Linn serta uji inhibisi enzim α -glukosidase secara *in vitro* terhadap ekstrak dan fraksi-fraksi tersebut. Ekstrak metanol, dan fraksi etil asetat mengandung senyawa golongan flavonoid, fenolik, saponin, dan tanin. Fraksi etil asetat menghasilkan nilai IC₅₀ sebesar 13.096,963 ppm dan dikategorikan tidak aktif sebagai antidiabetes ketika dibandingkan dengan glukobay sebagai kontrol yang menghasilkan nilai IC₅₀ sebesar 0,325 ppm.

Kata Kunci: *Vitex pinnata* Linn, enzim α -glukosidase, inhibisi enzim α -glukosidase, *in vitro*

ABSTRACT

ANISA NOPA RIYANI. α -Glucosidase Enzyme Inhibition Test *In vitro* Methanol Extract and Its Fractions from Laban Leaf (*Vitex pinnata* Linn.) Origin Bogor, West Java. Under supervised by IRMA RATNA KARTIKA, FERA KURNIADEWI.

Diabetes mellitus (DM) is a chronic disease with blood glucose levels exceeding normal. This research was conducted to obtain methanol extract and fraction of *Vitex pinnata* Linn leaf and *in vitro* inhibition test of α -glucosidase to the extract and the fractions. Methanol extract, and ethyl acetate fraction containing flavonoids, phenolic, saponin, and tannin compounds. The ethyl acetate fraction yields an IC₅₀ value of 13,096,963 ppm and is categorized as inactivated as an antidiabetic when compared with glucobay as a control producing an IC₅₀ value of 0.325 ppm.

Keyword: *Vitex pinnata* Linn, α -glucosidase enzyme, inhibition of α -glucosidasem enzyme, *in vitro*

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT karena dengan rahmat, karunia, serta taufik dan hidayah-Nya penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Uji Inhibisi Enzim α -Glukosidase Secara *In vitro* Ekstrak Metanol dan Fraksi-fraksinya dari Daun Laban (*Vitex pinnata* Linn.) Asal Bogor, Jawa Barat”. Selama penulisan skripsi ini tidak sedikit hambatan yang dialami namun dapat terselesaikan dengan baik berkat doa, kerja keras, dan kesungguhan hati serta bantuan dari berbagai pihak sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.

Penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada Ibu Irma Ratna Kartika, M.Sc.Tech dan Ibu Dr. Fera Kurniadewi, M.Si. selaku dosen pembimbing yang telah meluangkan waktu untuk membimbing penulis dalam menyelesaikan skripsi ini, ibu Dr. Yusmaniar, M.Si selaku Ketua Program Studi Kimia yang telah memberikan arahan dan motivasi selama masa studi, seluruh dosen dan staf Program Studi Kimia FMIPA UNJ yang telah banyak membantu selama pembelajaran di perkuliahan ini, serta orang tua tercinta, Bapak Arifin dan Almh. Ibu Zubaedah, kakak Riska Aryani yang telah mendoakan dan memberikan dukungan, dan tidak lupa teman-teman Kimia 2013 yang senantiasa selalu mendukung dan memberikan semangat, motivasi, inspirasi, bantuan, dan pengalaman pertemanan yang luar biasa bagi penulis.

Penulis telah berusaha sebaik-baiknya untuk membuat skripsi ini sampai selesai. Namun, skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan, oleh karena itu penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun dari semua pihak dan semoga skripsi ini bermanfaat bagi penulis dan pembaca.

Jakarta, 2 Agustus 2017

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
ABSTRAK	i
ABSTRACT	ii
KATA PENGANTAR.....	iii
DAFTAR ISI.....	iv
DAFTAR GAMBAR.....	v
DAFTAR TABEL	vi
DAFTAR LAMPIRAN	vii
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Perumusan Masalah.....	2
C. Tujuan Penelitian.....	2
D. Manfaat Penelitian.....	2
BAB II KAJIAN PUSTAKA	3
A. Tumbuhan <i>Vitex pinnata</i> Linn	3
B. Metabolit Sekunder pada Tumbuhan Genus <i>Vitex</i>	4
C. Diabetes Mellitus.....	7
D. Enzim α -glukosidase	8
E. Uji Aktivitas Inhibisi Enzim α -glukosidase.....	10
F. Teknik Pemisahan.....	12
BAB III METODOLOGI PENELITIAN	15
A. Tempat dan Waktu Penelitian	15
B. Metode Penelitian.....	15
1. Alat dan Bahan	15
2. Prosedur Penelitian	15
C. Teknik Pengumpulan Data dan Analisa Data.....	20
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN.....	22
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	30
DAFTAR PUSTAKA	31

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Daun Laban (<i>Vitex pinnata</i> Linn)	4
Gambar 2. Struktur Senyawa Hasil Isolasi.	6
Gambar 3. Struktur Kimia Glukobay.....	9
Gambar 4. Reaksi Enzimatis α -glukosidase.....	10
Gambar 5. Hasil Uji Alkaloid	22
Gambar 6. Hasil Uji Flavonoid	23
Gambar 7. Hasil Uji Fenolik dan Tanin	23
Gambar 8. Hasil Uji Saponin	23
Gambar 9. Hasil Uji Steroid dan Terpenoid.....	24
Gambar 10. Perbandingan Wana <i>p</i> -nitrofenol Hasil Uji Inhibisi.....	25
Gambar 11. Grafik Persentase Inhibisi Enzim α -Glukosidase.....	27
Gambar 12. Grafik Persentase Inhibisi Enzim α -Glukosidase.....	27
Gambar 13. Grafik Persentase Inhibisi Enzim α - Glukosidase.....	28

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Prosedur Uji Inhibisi Enzim α -glukosidase	20
Tabel 2. Hasil Uji Fitokimia Ekstrak dan Fraksi	24
Tabel 3. Data Absorbansi dan Uji Inhibisi Enzim α -glukosidase	26
Tabel 4. Kategori Nilai IC ₅₀ Sebagai Zat Antidiabetes.....	28
Tabel 5. Nilai IC ₅₀ dari Fraksi Etil Asetat dan Glukobay.....	29

DAFTAR LAMPIRAN

Halaman

Lampiran 1. Bagan Kerja Ekstraksi Daun Laban (<i>Vitex pinnata Linn</i>).	35
Lampiran 2. Bagan Kerja Uji Fitokimia	38
Lampiran 3. Bagan Kerja Uji Inhibisi Enzim α -glukosidase	42
Lampiran 4. Perhitungan Persen Inhibsi	43
Lampiran 5. Perhitungan IC ₅₀	54
Lampiran 6. Sertifikat Uji Inhibisi Enzim α -glukosidase	55

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Diabetes Melitus (DM) merupakan suatu penyakit menahun yang ditandai dengan kadar glukosa darah melebihi normal dan gangguan metabolisme karbohidrat, lemak, dan protein yang disebabkan oleh kekurangan hormon insulin secara relatif maupun absolut (Nidhi, 2013). Umumnya dikenal dua tipe diabetes, yaitu diabetes tipe satu (tergantung insulin), dan diabetes tipe dua (tidak tergantung insulin). Kasus diabetes ini dilaporkan mengalami peningkatan di berbagai negara berkembang termasuk Indonesia.

Perkumpulan Endokrinologi (PERKENI) menyatakan bahwa jumlah penderita diabetes mellitus di Indonesia mencapai 9,1 juta orang pada tahun 2015. Indonesia menjadi peringkat ke-5 teratas diantara negara-negara dengan jumlah penderita diabetes melitus terbanyak dunia. WHO (*World Health Organisation*) memperkirakan jumlah penderita Diabetes Mellitus di Indonesia akan terus naik dari 4 juta penderita pada tahun 2000 menjadi sekitar 21,3 juta pada tahun 2030 (RISKESDAS 2013).

Diabetes melitus adalah suatu penyakit yang ditandai dengan penurunan sekresi atau resistensi insulin karena kelainan metabolik yang menyebabkan naiknya kadar glukosa darah (hiperglikemia) pada kondisi normal (Mun'im & Hanami, 2011). Pengobatan diabetes melitus dapat dilakukan secara medis dengan obat-obatan sintesis namun dengan efek samping bagi penderitanya seperti ketergantungan obat-obatan medis dan menambah penyakit baru, serta tingginya biaya pengobatan medis sehingga sulit dilakukan bagi penderita kalangan bawah, oleh karena itu, pengobatan tradisional dengan tanaman obat menjadi langkah alternatif untuk mengatasinya, karena diperoleh dengan mudah, dapat dipetik langsung untuk pemakaian segar atau dapat dikeringkan, dan ketersediaan tanamannya yang banyak (Wijayakusuma, 2007).

Beberapa tahun terakhir, metabolit sekunder tanaman telah banyak diteliti sebagai sumber agen obat (Krishnaraju *et al.*, 2005). Tanaman obat yang diketahui

berpotensi untuk antidiabetes adalah tumbuhan genus *vitex*. Penelitian sebelumnya telah diketahui potensi antidiabetes dari ekstrak etanol daun *Vitex negundo* pada tikus (Prassana Raja et al., 2012). Oleh karena itu, salah satu tumbuhan yang akan diuji inhibisi α -glukosidase pada penelitian ini adalah *Vitex pinnata* Linn.

B. Perumusan Masalah

Berdasarkan pembatasan masalah yang dikaji, maka dirumuskan sebagai berikut:

1. Bagaimana uji inhibisi enzim α -glukosidase terhadap ekstrak metanol dan fraksi-fraksinya (n-heksana, n-heksana:etil asetat, etil asetat) dari Daun Laban (*Vitex pinnata* Linn).
2. Apakah ekstrak metanol dan fraksi-fraksi daun Laban (*Vitex pinnata* Linn) mampu menghambat enzim α -glukosidase?

C. Tujuan Penelitian

1. Mendapatkan ekstrak metanol dan fraksi-fraksi (n-heksana, n-heksana:etil asetat, etil asetat) daun (*Vitex pinnata* Linn).
2. Menguji penghambatan aktivitas enzim α -glukosidase.
3. Mendapatkan nilai IC_{50} sampel yang paling aktif sebagai inhibitor enzim α -glukosidase.

D. Manfaat Penelitian

1. Memberikan informasi potensi tanaman *Vitex pinnata* Linn sebagai penghambat enzim α -glukosidase
2. Harapan agar tumbuhan *Vitex pinnata* Linn dapat menjadi salah satu tumbuhan yang digunakan untuk inhibitor enzim α -glukosidase.

BAB II

KAJIAN PUSTAKA

A. Tumbuhan *Vitex pinnata* Linn

Tumbuhan dengan genus *Vitex* memiliki 270 spesies yang tersebar di seluruh dunia, terutama di daerah tropis dan subtropis. Tumbuhan dari genus ini banyak digunakan sebagai obat tradisional di beberapa tempat oleh penduduk setempat. Secara tradisional, daun *Vitex trifolia* Linn digunakan untuk meredakan rematik, peradangan dan analgesic (Kulkarni, 2011). Bagian kulit batang dari tumbuhan *Vitex doniana* digunakan sebagai obat pereda pada saat menstruasi (Abdurahaman *et al.*, 2012), sementara daun *Vitex altissima* digunakan untuk bahan terapi penduduk di India (Satish *et al.*, 2012).

Salah satu spesies tanaman *Vitex* yang terdapat di Indonesia adalah *Vitex pinnata* yang disebut juga *Vitex pubescens* (dikenal dengan nama Laban). Penelitian sebelumnya telah berhasil menunjukkan adanya potensi aktivitas antioksidan yang diperoleh dari fraksi etil asetat daun *Vitex pinnata* (Yolanda, 2012). Tumbuhan *Vitex pinnata* ini tersebar di Bangladesh, Cambodia, India, Indonesia, Laos, Malaysia, Myanmar, Philippines, Sri Lanka, Thailand, Vietnam. *Vitex pinnata* mudah ditemukan pada habitat terbuka dan di daerah dekat sungai (Worldagroforestrycentre, 2013).

Pohon *Vitex pinnata* memiliki tinggi hingga 25-30 meter dan berdiameter sebesar 70 cm. Kulit batang bagian dalam berwarna hijau pucat menjadi kuning. Daunnya berbentuk elips dan lebanya 1,5-10 cm. Bunganya berwarna biru keputihan. Buahnya berukuran 5-8 mm dan pematang buahnya berwarna hitam (Worldagroforestrycentre, 2013). Bentuk daun dari *Vitex pinnata* terlihat pada gambar 1.

Tumbuhan laban tumbuh dengan baik biasanya di hutan sekunder, di tepi sungai dan sepanjang jalan termasuk di lahan marginal seperti daerah Imperta cylindrical. Tumbuhan Laban digunakan sebagai tumbuhan obat tradisional untuk pengobatan urticaria, maag, rhinitis dan limpanitis oleh masyarakat pedalaman (Heyne, 1987).



Gambar 1. Daun Laban (*Vitex pinnata Linn*)
(Worldagroforestrycentre, 2013)

Taksonomi dari tanaman Laban (*Vitex pinnata*) adalah sebagai berikut (Plantamor, 2013):

Kingdom	: Plantae (Tumbuhan)
Subkingdom	: Tracheobinta (Tumbuhan berpembuluh)
Super Divisi	: Spermatophyta (Tumbuhan Biji)
Divisi	: Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)
Class	: Magnoliopsida (berkeping dua/dikotil)
Sub class	: Asteridae
Ordo	: Lamiales
Famili	: Verbenaceae
Genus	: <i>Vitex</i>
Spesies	: <i>Vitex pinnata Linn</i>

Masyarakat menggunakan daunnya sebagai obat penyakit infeksi kulit, akarnya dapat meningkatkan sistem imunitas tubuh dan menjaga stamina tubuh. Akar tumbuhan Laban memiliki alleopati yang dapat membunuh ilalang secara alami (Wardeeanar *et al.*, 2011).

B. Metabolit Sekunder pada Tumbuhan Genus *Vitex*

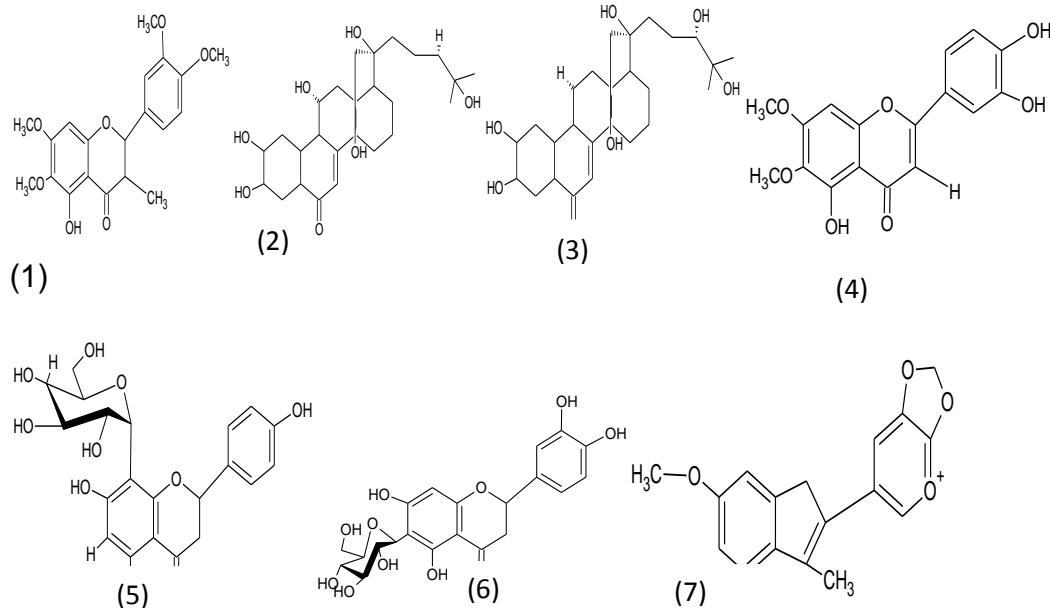
Metabolit sekunder menunjukkan sejumlah molekul yang memiliki peranan utama dalam perlindungan tanaman dari tekanan lingkungan atau dalam pengontrolan pertumbuhan tanaman (Harborne *et al.*, 1999). Berdasarkan hasil penelusuran literatur, metabolit sekunder pada tanaman genus *Vitex* adalah golongan flavonoid, terpenoid, steroid, lignin dan turunan fenolik.

Salah satu *Vitex* yang terdapat di Indonesia adalah *Vitex pinnata* (dikenal dengan Laban). Penelitian sebelumnya telah berhasil diperoleh aktivitas antioksidan dari fraksi etil asetat daun *Vitex pinnata* (Yolanda, 2012). Senyawa-senyawa metabolit sekunder banyak digunakan sebagai antioksidan, antiinflamasi, antipirutik, serta antimikroba terutama untuk golongan senyawa fenolik, flavonoid dan alkaloid. Penelitian lain telah dilakukan uji antidiabetes secara *in vivo* pada tumbuhan *Vitex negundo* Linn, efek Hipoglikemik daun *Vitex negundo* Linn menunjukkan bahwa kadar glukosa darah hewan meningkat pada tikus diabetes yang tidak diobati dibandingkan dengan nondiabetes. Kadar glukosa darah tikus diabetes kembali normal setelah setelah pemberian ekstrak etanol daun *Vitex negundo* Linn secara oral. Daun *Vitex negundo* Linn menunjukkan adanya senyawa metabolit sekunder fenolik dan flavonoid (Fatimatuz *et al.*, 2017).

Flavonoid adalah senyawa organik alami yang ada pada tumbuhan secara umum. Flavonoid alami banyak berperan dalam pencegahan diabetes dan komplikasinya (Jack, 2012). Flavonoid merupakan senyawa polar karena mempunyai gugus hidroksil atau gula, sehingga dapat larut dengan pelarut polar seperti etanol, metanol, butanol, aseton, dimetilsulfoksida, dan air (Markham, 1998). Sejumlah studi telah dilakukan untuk menunjukkan efek hipoglikemik dari flavonoid dengan menggunakan model eksperimen yang berbeda, hasilnya tanaman yang memiliki senyawa flavonoid telah terbukti mampu melawan penyakit diabetes meillitus, baik melalui kemampuan mengurangi penyerapan glukosa maupun dengan cara meningkatkan toleransi glukosa (Brahmachari, 2011).

Penelitian sebelumnya telah berhasil diisolasi senyawa-senyawa dalam tumbuhan *Vitex pinnata*, antara lain golongan ekdisteroid: 20-hidroksiekdison (1), turksteron (2), dan pinnasterone (3) yang menunjukkan aktivitas biologis yang rendah melalui tes pupa dengan larva lalat (Meena *et al.*, 2012). Bagian bunga *Vitex pinnata* mengandung senyawa golongan flavonoid yakni luteolin (4), iso-orientin (5), dan vitexin (6) (Meena and Patni, 2010). Senyawa luteolin dan iso-orientin menunjukkan aktivitas antioksidan yang tinggi. Bagian akar *Vitex pinnata* telah berhasil diisolasi senyawa cicerfuran (7) (Wardeean *et al.*, 2011). Senyawa

ini bermanfaat sebagai anti jamur, anti bakteri dan anti protozoa (Aslam *et al.*, 2009).



Gambar 2. Struktur senyawa hasil isolasi. (Kuuruzum-uz *et al.*, 2008; dan Wardenaar *et al.*, 2011).

Senyawa fenolik terdiri atas molekul-molekul besar dengan beragam struktur, karakteristik utamanya adalah cincin aromatik yang memiliki gugus hidroksil. Kebanyakan senyawa fenolik termasuk kedalam kelompok flavonoid (Pratt dan Hudson, 1990). Fenolik memiliki karakteristik antara lain kemampuan membentuk senyawa kelat dengan logam, mudah teroksidasi dan membentuk polimer (Pratt dan Hudson, 1990). Senyawa fenolik telah diketahui memiliki berbagai aktivitas biologis, seperti antioksidan melalui mekanisme sebagai pereduksi, penangkap radikal bebas, pengelat logam, peredam terbentuknya singlet oksigen serta pendonor elektron (Karadeniz *et al.*, 2005). Komponen fenolik merupakan kelompok molekul yang besar dan beragam, yang terdiri dari golongan aromatik pada metabolit sekunder tumbuh-tumbuhan. Fenolik dapat diklasifikasikan ke dalam komponen yang tidak larut seperti lignin, dan komponen yang larut seperti asam fenolik, fenilpropanoid, flavonoid dan kuinon (Harborne dan Williams, 2000).

C. Diabetes Melitus

Diabetes melitus adalah istilah kedokteran untuk sebutan penyakit yang di Indonesia dikenal dengan nama penyakit gula atau kencing manis. Penyakit ini merupakan sekumpulan gejala yang timbul pada seseorang ditandai dengan kadar glukosa darah melebihi normal (hyperglikemia) akibat tubuh kekurangan insulin baik absolut maupun relatif. Penyakit ini dapat terjadi pada semua lapisan umur dan bersifat menahun atau kronik.

Diabetes Melitus dibagi menjadi dua tipe yaitu diabetes tipe I dan diabetes tipe II. Diabetes melitus tipe I didefinisikan sebagai tipe diabetes yang bergantung pada insulin atau *Insulin Dependent Diabetes Mellitus* (IDDM), sedangkan Diabetes Melitus tipe II didefinisikan sebagai diabetes yang tidak bergantung pada insulin atau *Non Insulin Dependent Diabetes Mellitus* (NIDDM).

Penderita diabetes mellitus tipe I mengalami kerusakan sel pankreas yang menghasilkan insulin, akibatnya sel-sel β pankreas tidak dapat mensekresikan insulin atau hanya dapat mensekresikan dalam jumlah yang sedikit. Kerusakan pada sel-sel β pankreas disebabkan oleh peradangan pada pankreas. Akibat sel-sel β pankreas tidak dapat membentuk insulin atau insulin hanya ada dalam jumlah sedikit maka penderita diabetes melitus tipe I ini selalu bergantung pada insulin. Pengobatan Diabetes melitus tipe I dilakukan dengan memberikan insulin kepada penderita.

Penderita Diabetes Melitus tipe II tidak mengalami kerusakan sel-sel β pankreas tetapi insulin yang disekresikan jumlahnya menurun. Penurunan tersebut disertai defisiensi insulin hingga resistensi insulin (Murray, 2009). Diabetes Melitus tipe II biasanya disebabkan oleh obesitas atau kelebihan berat badan. Pengobatan Diabetes melitus tipe II dilakukan dengan pengaturan pola makan dan olahraga, namun dapat pula diobati dengan obat-obat antidiabetes.

Menurut Wijayakusuma (2007), selain Diabetes Melitus tipe I dan Diabetes Melitus tipe II terdapat satu tipe Diabetes Melitus lainnya, yaitu Diabetes Melitus yang terjadi pada saat kehamilan. Penyakit tersebut umumnya diderita oleh wanita hamil dan akan kembali normal setelah melahirkan. Seorang wanita hamil

membutuhkan insulin yang banyak untuk mempertahankan metabolisme karbohidrat.

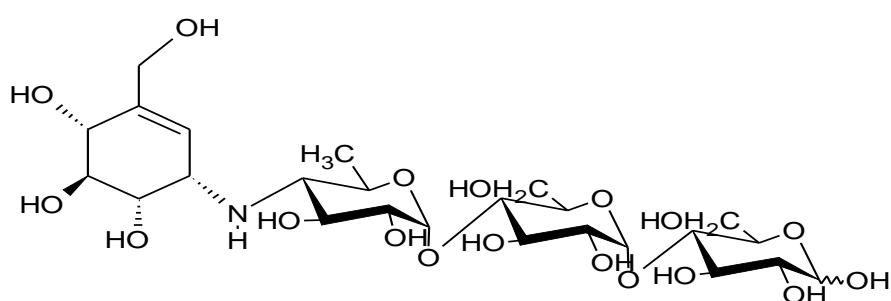
Menurut *Internasional Diabetes Federation (IDF)*, DM adalah penyakit kronis yang digambarkan sebagai keadaan kadar glukosa darah yang meningkat (hiperglikemia) yang berhubungan dengan kematian. Penyakit ini muncul ketika sel-sel beta di pankreas gagal menghasilkan hormon insulin yang cukup atau tubuh tidak dapat menggunakan insulin yang dihasilkan secara efektif. Seseorang dapat dikatakan DM bila didiagnosis dengan kriteria diagnostik DM dan gangguan toleransi glukosa yaitu: kadar glukosa darah sewaktu (plasma vena) ≥ 200 mg/dl, kadar glukosa darah puasa (plasma vena) ≥ 126 mg/dl, kadar glukosa plasma ≥ 200 mg/dl pada 2 jam sesudah beban glukosa 75 gram pada Test Toleransi Glukosa Oral (TTGO).

D. Enzim α -glukosidase

Enzim merupakan polimer biologis yang dapat mengkatalisis reaksi kimia dalam tubuh. Enzim merupakan katalis yang spesifik terhadap substrat maupun reaksi yang dikatalisis karena memiliki sisi aktif dan kerja yang khas. Enzim α -glukosidase adalah kelompok enzim yang secara spesifik mengurai disakarida dan karbohidrat kompleks dengan ikatan α -glikosida menjadi D-glukosa. Enzim α -glukosidase terdapat di dinding usus halus. Enzim α -glukosidase dapat dikelompokkan berdasarkan substratnya yaitu maltase, sukrose, dan isomaltase. Maltase berperan sebagai penghidrolisis maltose, sukrose sebagai penghidrolisis sukrosa dan isomaltase sebagai katalis pemecahan maltotriosa. Enzim ini dapat meningkatkan kadar glukosa darah, sehingga untuk mencegah naiknya glukosa darah maka dibutuhkan suatu inhibitor enzim α -glukosidase. Obat yang tergolong sebagai agen penghambat enzim α -glukosidase adalah akarbosa. Penggunaan akarbosa dikontraindikasikan pada pasien dengan *short-bowel syndrom* atau inflamasi di usus besar. Hal ini dikarenakan penghambatan enzim α -glukosidase oleh akarbosa menimbulkan efek samping pada sistem gastrointestinal seperti diare, pembentukan gas berlebihan di lambung dan usus (Dipiro *et al.*, 2005). Efek samping akibat terapi dengan akarbosa dapat dikurangi dengan pemberian

dosis dimulai dari dosis rendah, kemudian ditingkatkan secara bertahap (Linn *et al.*, 2009)

Glukobay merupakan produk mikroba alami yang berasal dari proses fermentasi mikroorganisme *Actinoplanes* strain SE 50. Glukobay merupakan pseudotetasakarida dengan strukturnya yang menyerupai tetrasakarida (Gambar 3).

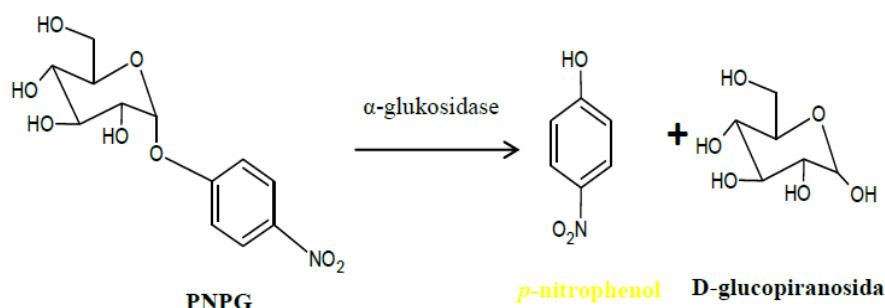


Gambar 3. Struktur Kimia Glukobay (Pharmaffiliates, 2015).

Glukobay memiliki ikatan nitrogen diantara unit glukosa pertama dan kedua. Gugus nitrogen penting untuk afinitas dan stabilitas akarbose terhadap enzim α -glukosidase. Akarbose bekerja sebagai penghambat kompetitif dengan menghalangi reaksi enzimatik khususnya karena adanya gugus nitrogen pada senyawa tersebut (Goldstein, 2008). Akarbose berfungsi sebagai inhibitor α -glukosidase yang berarti menghambat kerja enzim α -Glukosidase (Tjokoprawiro, 2007). Penghambatan enzim ini menyebabkan lambatnya pencernaan karbohidrat, karena senyawa karbohidrat sedikit terurai menjadi glukosa maka penyerapan glukosa oleh usus halus juga berkurang. Penggunaan akarbose sebagai obat antihiperglikemia oral dimulai dengan dosis 25 mg satu kali sehari, kemudian ditingkatkan menjadi 50 mg tiga kali sehari, dan dapat ditingkatkan menjadi 100 mg tiga kali sehari jika diperlukan. Peningkatan dosis secara bertahap tersebut dapat dilakukan sampai dosis maksimum 200 mg tiga kali sehari. Obat ini harus diberikan segera pada saat makanan utama untuk mencapai efek yang maksimal. Hal ini perlu dilakukan karena akarbose merupakan penghambat kompetitif dan sudah harus ada bersamaan dengan karbohidrat pada saat kerja enzimatik di usus halus (Sudoyo dkk, 2006). Glucobay ditujukan terutama untuk mengatasi kenaikan glukosa darah sesudah makan.

E. Uji Aktivitas Inhibisi Enzim α -glukosidase

Uji aktivitas penghambatan enzim α -glukosidase dengan reaksi enzimatis dilakukan secara *in vitro* dan pengukurannya dilakukan secara spektrofotometri. Enzim α -glukosidase akan mengkatalisis hidrolisis *p*-nitrofenil- α -glukospiranosida menjadi glukosa dan *p*-nitrofenol yang memiliki warna kuning dengan persamaan reaksi pada gambar 4.



Gambar 4. Reaksi Enzimatis α -glukosidase (Sugiwati *et al.*, 2009)

Prinsip uji penghambatan enzim α -glukoisdase adalah perubahan warna substrat setelah terjadi reaksi enzimatis (Gambar 4). Perubahan warna tersebut selanjutnya dapat diukur absorbansinya dengan alat spektrofotometer *double beam* pada panjang gelombang maksimum p-nitrofenol yang berwarna kuning yaitu 410 nm. Semakin banyak intensitas warna kuning yang muncul menandakan bahwa semakin banyak *p*-nitrofenol yang terbentuk akibat pemecahan *p*-nitrofenil- α -glukopiranosa oleh enzim α -glukosidase. Apabila ekstrak tanaman yang digunakan sebagai sebagai inhibitor kompetitif memiliki kemampuan menghambat aktivitas α -glukoisdase oleh maka *p*-nitrofenol yang dihasilkan akan berkurang karena ikatan glikosidik pada *p*-nitrofenil- α -glukopiranosa tidak terputus ditandai dengan rendahnya intensitas warna kuning yang muncul (Sugiwati *et al.*, 2009).

Glukobay mengikat enzim secara reversibel dan kompetitif. Setelah terhidrolisis substrat akan menjadi α -D-glikopiranosa dan *p*-nitrofenol yang berwarna kuning. Warna kuning yang dihasilkan menjadi indikator kemampuan

inhibitor untuk menghambat kerja α -glukosidase, sehingga warna kuning larutan yang dihasilkan akan lebih pudar dibandingkan larutan tanpa inhibitor (Sugiwati, 2005).

Aktivitas inhibitor α -glukosidase dapat diitung dengan rumus:

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{c-s}{c} \times 100\%$$

Keterangan:

s = absorbansi sampel (BS-KS)

c = absorbansi kontrol (DMSO), (kontrol-blangko)

Nilai IC₅₀ dapat dihitung dengan menggunakan persamaan regresi Linear, log konsentrasi sampel sebagai sumbu x dan % inibisi sebagai sumbu y. berdasarkan persamaan: y= a+bx dapat dihitung nilai IC₅₀ dengan menggunakan rumus:

$$IC_{50} = \frac{50-a}{b}$$

Sebagai kontrol positif digunakan akarbosa dengan konsentrasi 0,100 ppm; 0,500 ppm; 1,000 ppm; 5,000 ppm; dan 10,00 ppm

Enzim yang biasa digunakan pada pengujian penghambatan aktivitas α -Glukosidase berasal dari beberapa sumber yang berbeda, diantaranya: mamalia (usus tikus), bakteri (*Bacillus stearothermophilus*), ragi (*Saccharomyces*), dan tanaman (Sofawati, 2012). Inhibisi terhadap enzim α -glukosidase menyebabkan penghambatan absorpsi glukosa. Senyawa yang dapat menghambat enzim α -glukosidase disebut inhibitor α -glukosidase (IAG). Senyawa IAG banyak digunakan untuk pengobatan pada pasien diabetes tipe 2. Obat ini bekerja secara kompetitif di dalam saluran pencernaan yang dapat memperlambat penyerapan glukosa sehingga dapat menurunkan hiperglikemia setelah makan.

Suatu penelitian menyebutkan bahwa konsumsi 100 mg akarbosa sebanyak tiga kali sehari mampu mengurangi 26% progresi pasien diabetes pada masa *Impaired Glucose Tolerance*, yaitu kondisi metabolisme antara keadaan darah normal dan diabetes. Inhibitor merupakan bagian modulator enzim yang memberikan efek negatif terhadap kerja katalis enzim. Berdasarkan efeknya terhadap enzim, inhibitor diklasifikasikan menjadi inhibitor reversible dan

inhibitor irreversible. Berdasarkan tempat kerjanya di enzim, inhibitor dapat diklasifikasikan menjadi inhibitor yang memodifikasi enzim secara kimiawi dan inhibitor yang mempengaruhi parameter kinetik enzim. Inhibitor dibagi menjadi dua kelas berdasarkan pengaruh pada parameter kinetika, yakni inhibitor yang dipengaruhi oleh peningkatan konsentrasi substrat dan tidak dipengaruhi oleh peningkatan konsentrasi substrat (Murray *et al.*, 2003).

F. Tehnik Pemisahan

Tujuan dari teknik pemisahan adalah untuk memisahkan komponen yang akan ditentukan berada dalam keadaan murni, tidak tercampur dengan komponen-komponen lainnya. Ada 2 jenis teknik pemisahan:

1. Pemisahan kimia adalah suatu teknik pemisahan yang berdasarkan adanya perbedaan yang besar dari sifat-sifat fisika komponen dalam campuran yang akan dipisahkan.
2. Pemisahan fisika adalah suatu teknik pemisahan yang didasarkan pada perbedaan-perbedaan kecil dari sifat-sifat fisika antara senyawa-senyawa yang termasuk dalam suatu golongan (Mulja dan Suharman, 1995).

Ekstraksi merupakan pemisahan suatu zat yang diinginkan dalam hal ini senyawa yang memiliki aktivitas untuk menghambat enzim α -glukosidase berdasarkan perbedaan kelarutan zat dalam beberapa pelarut. Ekstraksi pada sampel bahan alam (tumbuhan) yang sering digunakan yaitu dengan metode maserasi, perkolasii, dan sokletasi. Metode ekstraksi maserasi memanfaatkan difusi dan osmosis untuk menarik keluar senyawa yang terkandung pada sel tumbuhan menggunakan pelarut organik. Maserasi sering digunakan karena proses yang mudah dan relatif aman untuk memisahkan senyawa yang rentan terhadap pemanasan. Sebelum ekstraksi dilakukan, biasanya serbuk tumbuhan dikeringkan lalu dihaluskan dengan derajat kehalusan tertentu, kemudian diekstraksi dengan salah satu cara diatas. Ekstraksi dengan metoda sokletasi dapat dilakukan secara bertingkat dengan berbagai pelarut berdasarkan kepolarannya, misalnya: n-heksana, eter, benzena, kloroform, etil asetat, etanol, methanol, dan air untuk mengekstrak metabolit sekunder yang masuk dalam golongan senyawa

yang bersifat polar sseperti flavonoid, alkaloid, kalkon, dan hidrokalkon digunakan pelarut-pelarut polar seperti air, metanol, etanol, dan etil asetat, ekstraksi dianggap selesai bila tetesan ekstrak yang terakhir memberikan reaksi negatif terhadap pereaksi alkaloida dan untuk mendapatkan larutan ekstrak yang pekat biasanya pelarut ekstrak diuapkan dengan menggunakan alat rotary evaporator (Harborne, 1987).

Menurut prosesnya ekstraksi dapat dibagi menjadi dua yaitu ekstraksi kontinue dimana pelarut yang sama digunakan secara berulang-ulang sampai proses ekstraksi selesai dan biasanya alat yang digunakan adalah alat soklet. Ekstraksi yang kedua adalah ekstraksi bertahap yaitu ekstraksi selalu digunakan pelarut yang baru sampai ekstraksi selesai dan yang biasa digunakan adalah corong pisah. Tekniknya cukup dengan penambahan pelarut yang tidak bercampur dengan pelarut yang pertama melalui corong pisah, kemudian dilakukan pengocokan sampai terjadi kesetimbangan konsentrasi pada kedua pelarut. Setelah didiamkan beberapa saat akan terbentuk dua lapisan. Kesempurnaan ekstraksi tergantung banyaknya ekstraksi yang dilakukan.

Cara-cara kromatografi dapat digolongkan sesuai dengan sifat-sifat dari fasa diam, yang dapat berupa zat padat atau zat cair. Jika fasa diam berupa zat padat disebut kromatografi serapan, jika berupa zat cair atau gas maka ada empat macam sistem kromatografi, yaitu:

1. Fasa gerak cair-fasa diam padat (kromatografi serapan)
 - a. Kromatografi Lapis Tipis

Metode kromatografi lapis tipis merupakan teknik yang sering digunakan karena memiliki beberapa kelebihan, yaitu penggunaanya mudah, mengasilkan pemisahan yang baik, sensitivitas tinggi, hanya membutuhkan waktu yang singkat, dan harganya terjangkau (Touchstone & Dobbins, 1983). Pada kromatografi lapis tipis, harga Rf adalah cara yang sesuai untuk menunjukkan posisi zat dalam pengembang kromatogram.

Harga Rf tersebut dapat dihitung dengan perbandingan sebagai berikut :

$$Rf = \frac{\text{Jarak yang ditempuh komponen}}{\text{jarak tempuh eluen}}$$

Harga Rf yang diperoleh pada kromatografi lapisan tipis tidak tetap jika dibandingkan dengan yang diperoleh pada kromatografi kertas. Oleh karena itu pada lempeng yang sama disamping kromatogram dari zat yang diperiksa perlu dibuat kromatogram dari zat pembanding kimia, lebih baik dengan kadar yang berbeda-beda. Perkiraan identifikasi diperoleh dengan pengamatan 2 bercak dengan harga Rf dan ukuran yang lebih kurang sama (DepKes RI, 1995).

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

A. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Penelitian Kimia FMIPA UNJ Jakarta Timur dan Laboratorium Pusat Biofarmaka Tropika Bogor. Waktu penelitian dari bulan November 2016 hingga April 2017.

B. Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen yang meliputi maserasi dan partisi cair-cair dengan menggunakan pelarut dan kromatografi (kromatografi lapis tipis). Pengujian aktivitas antidiabetes dengan menggunakan metode inhibisi α -glukosidase.

1. Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah alat-alat gelas yang sering digunakan yaitu, neraca analitik, blender, *rotary evaporator*, *magnetic stirrer*, spektrofotometer UV-Vis, lampu UV, peralatan kromatografi lapis tipis, jarum ose, *petri disk*, inkubator, *laminar air flow*, *microplate reader* (*Epoch Microplate Spectrophotometer*) dan mikro pipet. Bahan-bahan yang digunakan adalah daun Laban (*Vitex pinnata Linn*) kering yang diperoleh dari LIPI Kebun Raya Bogor, Jawa Barat. akuades, berbagai pelarut dengan kualifikasi teknis yang sudah didestilasi (MeOH, n-heksana, n-heksana:etil asetat (1:1), dan EtOAc). Uji antidiabetes menggunakan enzim α -glukosidase, p-nitrofenil- α -D-glukopiranosa (p-NPG), larutan buffer fosfat pH 7, serum bovine albumin, akarbosa, dimetilsulfoksida (DMSO), HCl 2N, dan Na₂CO₃. Bahan-bahan yang dipakai untuk uji fitokimia adalah kloroform, amoniak, larutan H₂SO₄ 2M, preaksi-preaksi (Dragendorf, Mayer, dan Wagner), etanol 30%, asam asetat anhidrat, H₂SO₄ pekat, FeCl₃ 1%, dan etanol 30%.

2. Prosedur Penelitian

1) Preparasi Simplisia

Daun Laban (*Vitex Pinnata Linn*) kering diperoleh dari LIPI Kebun Raya Bogor, pengumpulan simplisia dilakukan pada bulan desember

tahun 2016 sebanyak 8,00 kilo gram daun *Vitex pinnata Linn.* Daun yang telah diperoleh kemudian dikering anginkan. Simplisia dikeringkan untuk mencegah terjadinya pembusukan serta mematikan jaringan tumbuhan agar tidak terjadi hidrolisis pada senyawa yang terkandung pada simplisia oleh enzim (Harborne, 1897). Simplisia yang telah dikeringkan kemudian dihaluskan menggunakan blender sampai berbentuk serbuk. Serbuk daun yang telah dihasilkan ditimbang serta dicatat berat bersihnya dan disimpan dalam wadah yang bersih dan tertutup rapat.

2) Ekstraksi Daun Laban (*Vitex pinnata* Linn)

Ekstraksi dilakukan dengan maserasi. Serbuk daun dimaserasi dengan menggunakan pelarut metanol. Hasil ekstrak yang diperoleh diuapkan menggunakan *rotary vacum evaporator* pada suhu 30-40°C sehingga diperoleh ekstrak metanol 3 gram.

3) Fraksinasi

Ekstrak metanol daun Laban (*Vitex pinnata* Linn) yang diperoleh selanjutnya difraksinasi menggunakan pelarut dengan tingkat kepolaran yang berbeda dan tidak saling bercampur. Fraksinasi ini menggunakan tiga pelarut diantaranya pelarut non polar n-Heksana, pelarut semi polar dengan campuran pelarut n-heksana:etil asetat (1:1) dan pelarut polar etil asetat. Ekstrak metanol kental daun yang tersisa kemudian dipartisi cair-cair dengan pelarut n-heksana, dan dilakukan tiga kali pengulangan dari masing-masing wadah tersebut. Lapisan metanol difraksinasi kembali dengan pelarut n-heksana:etil asetat (1:1) pada fraksinasi ini dilarutkan dalam air untuk menghasilkan dua lapisan larutan. Lapisan metanol kemudian difraksinasi kembali dengan pelarut etil asetat lalu dengan air untuk menghasilkan dua lapisan larutan. Setelah itu hasil fraksi yang terkumpul dipekatkan dengan *rotary vacuum evaporator* sampai kental dan kemudian dikeringkan sehingga menghasilkan fraksi kering sebanyak 3 gram.

4) Uji Fitokimia

Pengujian Fitokimia menggunakan beberapa pereaksi, yaitu diantaranya pereaksi Dragendorf, pereaksi Mayer, dan pereaksi Wagner. Adapun pembuatan larutan pereaksi dilakukan menurut Depkes RI 1989.

a. Larutan Pereaksi Dragendorf

Pembuatan pereaksi Dragendorf untuk pereaksi kualitatif, sebanyak 0,5 g bismut (III) nitrat ditimbang dan dilarutkan dalam 20 mililiter asam nitrat pekat. Wadah lain ditimbang sebanyak 27,2 gram kalium iodida lalu dilarutkan dalam 50 mililiter air suling, kemudian kedua larutan dicampurkan dan didiamkan sampai memisah sempurna. Larutan yang jernih diambil dan diencerkan dengan air suling sampai 100 mililiter. Pembuatan pereaksi Dragendorf untuk pereaksi penyemprot, larutan A: Sebanyak 0,85 gram bismutsubnitrat dilarutkan dalam campuran 40 mililiter air suling dengan 10 mililiter asam asetat. Larutan B: Sebanyak 8 gram kalium iodide dilarutkan dalam 20 mililiter air suling. Larutan penyemprot: masing-masing 5 mililiter larutan A dan larutan B dicampur dengan 20 mililiter asam asetat glasial dan dilarutkan dengan air hingga tanda batas 100 mililiter.

b. Larutan Pereaksi Meyer

Sebanyak 4 gram kalium iodida ditimbang dan dilarutkan dalam air suling, ditambahkan iodium sebanyak 2 gram dan dilarutkan dengan air suling sampai tanda batas 100 ml.

c. Larutan Pereaksi Wagner

Sebanyak 2,5 gram iodon dan 2 gram kalium iodida dilarutkan dengan 10 mililiter akuades dan kemudian diencerkan dengan akuades menjadi 200 mililiter dalam labu ukur. Pereaksi ini berwarna coklat.

1) Uji Alkaloid

Uji alkaloid dilakukan dengan menggunakan metode Culvenor dan Fitzgerald. Sebanyak 0,5 gram ekstrak dan fraksi ditambahkan 2 mililiter kloroform dan 0,5-1 mililiter $H_2 SO_4$ 2 N kemudian dikocok

sampai terbentuk 2 lapisan. Lapisan asam (atas) dipipet dan diteteskan pada plat tets. Uji dilakukan dengan menambahkan dua tetes pereaksi Dragendorf.

2) Uji Flavonoid

Uji Flavonoid dilakukan dengan menggunakan pereaksi Wilstatter/Sianidin. Sebanyak 2 gram ekstrak dan fraksi dimasukkan kedalam tabung reaksi dan ditambah dengan 0,5 mililiter asam klorida pekat dan 3-4 pita logam Mg. Adanya flavonoid ditandai dengan warna merah, jingga dan hijau tergantung pada struktur flavonoid yang terkandung dalam sampel tersebut.

3) Uji Fenolik

Uji fenolik dilakukan dengan menggunakan pereaksi FeCl_3 1 persen. Adanya senyawa fenolik ditunjukkan dengan terbentuknya warna hijau kehitaman.

4) Uji Saponin

Uji Saponin dilakukan dengan cara, sebanyak 1 gram ekstrak metanol dan fraksi-fraksi ditambah air secukupnya dan dipanaskan selama 5 menit. Setelah itu didinginkan dan dikocok kuat. Adanya saponin ditandai dengan timbulnya busa selama 10 menit dan ditambah dengan 1 tetes asam klorida pekat busa tetap stabil.

5) Uji Steroid dan Terpenoid

Uji steroid dan terpenoid dilakukan dengan meneteskan ekstrak atau fraksi pada plat tetes dan kemudian dikeringkan. Selanjutnya kedalam plat tetes ditambahkan 2-3 tetes anhidrida asam asetat dan diaduk., lalu ditambahkan 1-2 tetes asam sulfat pekat. Adanya senyawa terpenoid ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah-ungu. Bila terdapat steroid dan terpenoid secara bersamaan akan terbentuk warna merah dengan biru-ungu berbentuk cincin di tengah-tengah.

6) Uji Tanin

Uji tanin dilakukan dengan cara, 10 gram ekstrak dan fraksi ditambah air, lalu dididihkan selama beberapa menit, kemudian

disaring. Filtrat ditambah FeCl_3 1 persen. Jika terbentuk warna biru atau hitam kehijauan, maka positif mengandung tanin.

5) Uji Aktivitas α -glukosidase Secara *In Vitro*

Uji inhibisi α -glukosidase dilakukan sesuai dengan prosedur (Sugiwati *et al.*, 2009) yang telah dimodifikasi. Pengujian terhadap daya hambat aktivitas enzim α -glukosidase menggunakan substrat p-nitrofenil- α -D-glukopiranosa (p-NPG) dan enzim α -glukosidase. Larutan enzim dibuat dengan melarutkan 1.0 miligram enzim α -glukosidase dalam larutan buffer fosfat (pH 7) yang mengandung 200 miligram serum bovin albumin. Sebelum digunakan enzim diencerkan 25 kali dengan buffer fosfat pH 7.

Ekstrak metanol, fraksi n-Heksana, fraksi n-heksana:etil asetat, dan fraksi etil asetat dengan variasi konsentrasi yang telah ditentukan yaitu 25 ppm, 50 ppm, 100 ppm, dan 200 ppm dilakukan dengan menggunakan larutan enzim dan larutan substrat (p-NPG). Prinsip uji ini adalah penentuan aktivitas penghambatan berdasarkan kemampuan sampel menghambat reaksi katalis hidrolisi p-nitrofeil- α -D-glukopiranosa menjadi α -D- glukopiranosa oleh enzim α -glukosidase. Reaksi tersebut ditunjukkan dengan perubahan warna dari tidak berwarna menjadi kuning. Sampel dengan kemampuan penghambatan yang tinggi akan menghasilkan warna larutan yang semakin cerah, sebanding dengan kemampuan aktivitas penghambatan yang tinggi. S_0 digunakan sebagai koreksi terhadap absorbansi ekstrak. Penghentian reaksi enzim substrat dilakukan dengan penambahan Na_2CO_3 200 mM. Prosedur uji aktivitas penghambatan α -glukosidase terlihat pada tabel 2. Larutan kemudian diukur absorbansinya pada 410 nm. Percobaan dilakukan secara triplo.

Tabel 1. Prosedur Uji Inhibisi Enzim α -glukosidase

	Blangko	C	S0	S1
Ekstrak (μ L)	-	-	1	1
DMSO (μ L)	1	1	-	-
Buffer (μ L)	49	49	49	49
Substrat(μ L)	25	25	25	25
Inkubasi 37°C selama 5 menit				
Buffer (μ L)	25	-	25	-
Enzim (μ L)	-	25	-	25
Inkubasi 37°C selama 15 menit				
Na ₂ CO ₃	100	100	100	100
Ket:	Blangko	= Campuran tanpa adanya ekstrak dan enzim		
	C	= Campuran tanpa ekstrak dan buffer		
	S ₀	= Campuran dengan ekstrak		
	S ₁	= Campuran dengan enzim dan ekstrak		

Tablet Glukobay (akarbosa) digunakan sebagai kontrol positif. Glucobay dilarutkan dalam buffer dan HCl 2 N (1:1) dengan konsentrasi 0,000 ppm; 0,100 ppm; 0,500 ppm; 1,000 ppm; 5,000 ppm; dan 10,000 ppm. Larutan diambil sebanyak 1 μ L dan dimasukkan kedalam campuran reaksi seperti dalam sampel ekstrak.

Hasil pengukuran absorbansi p-nitrofenol dapat digunakan untuk perhitungan aktivitas inhibitor α -glukosidase dengan rumus:

$$\text{Inhibisi (\%)} = \frac{C - S}{C} \times 100\%$$

Keterangan: S = Absorbansi sampel (S₁-S₀)

C= Absorbansi Kontrol (DMSO), (Blanko-K)

C. Teknik Pengumpulan Data dan Analisis Data

Teknik pengumpulan data dalam penelitian ini yaitu mencatat dan memperhatikan setiap perlakuan yang dilakukan dalam penelitian ini meliputi preparasi sampel hingga uji aktivitas enzim α -glukosidase. Sedangkan, untuk

analisa data berdasarkan hasil pengukuran absorbansi p-nitrofenol dapat digunakan untuk perhitungan aktivitas inhibitor α -glukosidase dengan rumus:

$$\% \text{ inhibisi} = [1 - (\text{Abs sampel}/\text{Abs kontrol})] \times 100 \%$$

Abs sampel dapat dihitung melalui absorbansi sampel (S_1) dikurang dengan absorbansi kontrol untuk sampel (S_0). Sedangkan Abs kontrol dapat dihitung melalui absorbansi blangko pada masing-masing konsentrasi sampel (K) dikurangi dengan absorbansi log kontrol blangko.

Hasil absorbansi kemudian diplotkan ke dalam sebuah grafik dengan sumbu X yaitu log konsentrasi sampel dan sumbu Y yaitu persen inhibisi. Berdasarkan dari grafik tersebut maka akan di dapat persamaan regresi liniernya:

$$Y = a + bx$$

Nilai besaran konsentrasi ekstrak dan fraksi yang memiliki kemampuan menghambat aktivitas enzim α -glukosidase sebesar 50%, dinyatakan dengan rumus IC_{50} yaitu:

$$IC_{50} = \frac{50-a}{b}$$

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah maserasi, yaitu metode untuk pembuatan ekstrak dengan pembuatan pelarut yang disertai dengan pengadukan atau pengocokan yang dilakukan pada suhu ruang (Departemen Kesehatan RI, 2000). Sampel daun *Vitex pinnata* Linn yang digunakan untuk maserasi adalah sebanyak 2 kg dengan memakai pelarut metanol. Maserasi dilakukan selama 3x24 jam agar semua senyawa yang terkandung dalam sampel daun *Vitex pinnata* Linn dapat terekstrak oleh pelarut metanol. Fraksinasi dilakukan sebanyak tiga kali yaitu fraksi n-heksana, fraksi n-heksana:etil asetat dan fraksi etil asetat, kemudian ekstrak metanol dan ketiga fraksi tersebut diuji penghambatan aktivitasnya terhadap enzim α -glukosidase.

Uji fitokimia dilakukan sebagai uji pendahuluan dan untuk mengidentifikasi adanya golongan senyawa yang terkandung pada sampel daun *Vitex pinnata* Linn. Hasil uji alkaloid dari daun *Vitex pinnata* Linn menghasilkan filtrat berwarna kuning dan tidak terbentuknya endapan cokelat, sehingga dapat disimpulkan bahwa daun *Vitex pinnata* Linn tidak mengandung alkaloid.



Gambar 5. Hasil Uji Alkaloid

Adanya flavonoid ditandai dengan warna merah, jingga, kuning dan hijau tergantung pada struktur flavonoid yang terkandung dalam sampel tersebut. Sampel fraksi etil asetat dan ekstrak metanol menunjukkan hasil positif ketika terbentuknya warna kuning hingga kehijauan.



Gambar 6. Hasil Uji Flavonoid

Adanya senyawa fenolik dan tanin ditunjukkan dengan terbentuknya warna hijau kehitaman. Sampel menunjukkan hasil positif ketika terbentuknya warna hijau kehitaman.



Gambar 7. Hasil Uji Fenolik dan Uji Tanin

Hasil uji saponin menunjukkan bahwa fraksi etil asetat dan ekstrak metanol menghasilkan uji positif.



Gambar 8. Hasil Uji Saponin

Semua sampel tidak membentuk warna merah-ungu, sehingga dapat disimpulkan bahwa semua sampel tidak mengandung steroid dan terpenoid.



Gambar 9. Hasil Uji Steroid dan Terpenoid

Tabel 2. Hasil Uji Fitokimia Ekstrak dan Fraksi

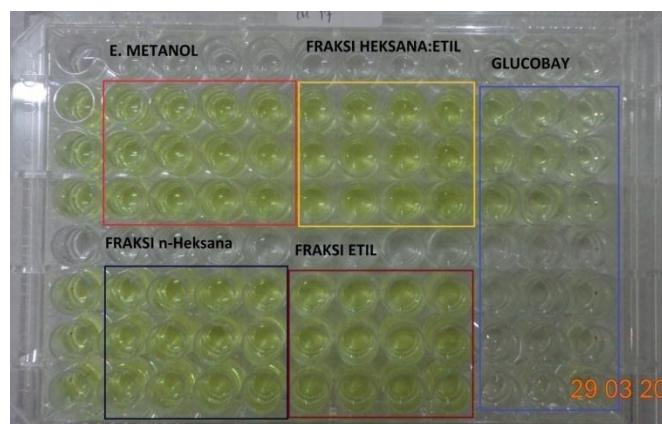
Sampel	Alkaloid	Flavonoid	Fenolik	Saponin	Steroid	Terpenoid	Tanin
Ekstrak metanol	-	+	+	+	-	-	+
Fraksi n-heksana	-	-	+	-	-	-	+
Fraksi H:E	-	-	+	-	-	-	+
Fraksi etil asetat	-	+	+	+	-	-	+

Berdasarkan tabel 2 menunjukkan adanya kandungan golongan senyawa flavonoid dalam ekstrak metanol dan fraksi etil asetat.

Selanjutnya dilakukan uji penghambatan aktivitas enzim α -glukosidase secara *in vitro* terhadap ekstrak metanol dan fraksi-fraksinya. Sebagai pembanding digunakan glukobay yang merupakan agen antidiabetik komersial yang bekerja dengan cara menghambat kerja enzim α -glukosidase. Pengujian inhibisi enzim α -glukosidase dilakukan menggunakan p-nitrofenil- α -D-glukopiranosa sebagai substrat. Enzim α -glukosidase menghidrolisis p-nitrofenil- α -D-glukopiranosa menjadi D-glukopiranosida dan p-nitrofenil yang berwarna kuning. Penghambatan

ditentukan berdasarkan absorbansi p-nitrofenol yang terbentuk, semakin tinggi kemampuan ekstrak tanaman menghambat enzim α -glukosidase, maka akan semakin berkurang p-nitrofenol yang terbentuk.

Hasil uji inhibisi enzim α -glukosidase menunjukkan bahwa glukobay memiliki kemampuan menghambat aktivitas enzim α -glukosidase yang lebih baik dibanding ekstrak metanol dan fraksi etil asetat.



Gambar 10. Perbandingan warna p-nitrofenol hasil uji inhibisi enzim α -glukosidase terhadap ekstrak metanol, fraksi n-heksana, fraksi n-heksana:etil asetat, fraksi etil asetat dan glukobay.

Pengukuran absorbansi p-nitrofenol dan standar glukobay dilakukan menggunakan spektrofotometri dengan *microplate reader*. Konsentrasi sampel yang dibuat bervariasi yaitu 25 ppm, 50 ppm, 100 ppm, dan 200 ppm. Persamaan regresi linier antara log konsentrasi ekstrak dan daya inhibisi digunakan untuk menentukan nilai IC₅₀. Aktivitas enzim α -glukosidase yang dapat dihambat sebesar 50% oleh inhibitor disebut dengan IC₅₀. Penghambatan enzim α -glukosidase semakin baik jika nilai IC₅₀ semakin kecil (Mohan *et al.*, 2013). Pengukuran absorbansi dilakukan pada panjang gelombang 410 nm. Panjang gelombang tersebut digunakan berdasarkan panjang gelombang maksimum yang diperoleh. Hasil pengukuran penghambatan aktivitas ekstrak metanol dan fraksi dapat dilihat pada tabel 3. Hasil pengukuran absorbansi p-nitrofenol dapat digunakan untuk perhitungan enzim α -glukosidase dengan rumus:

$$\text{Inhibisi (\%)} = \frac{C - S}{C} \times 100\%$$

Keterangan: S = Absorbansi sampel (S_1-S_0)

C= Absorbansi Kontrol (DMSO), (Blangko-K)

Tabel 3 dan gambar 11 menunjukkan data konsentrasi ekstrak metanol, fraksi n-heksana, fraksi n-heksana:etil asetat dan fraksi etil asetat nilai absorbansinya masing-masing.

Tabel 3. Data Absorbansi p-nitrofenol dan Uji Inhibisi Enzim α -glukosidase Oleh Ekstrak dan Fraksi

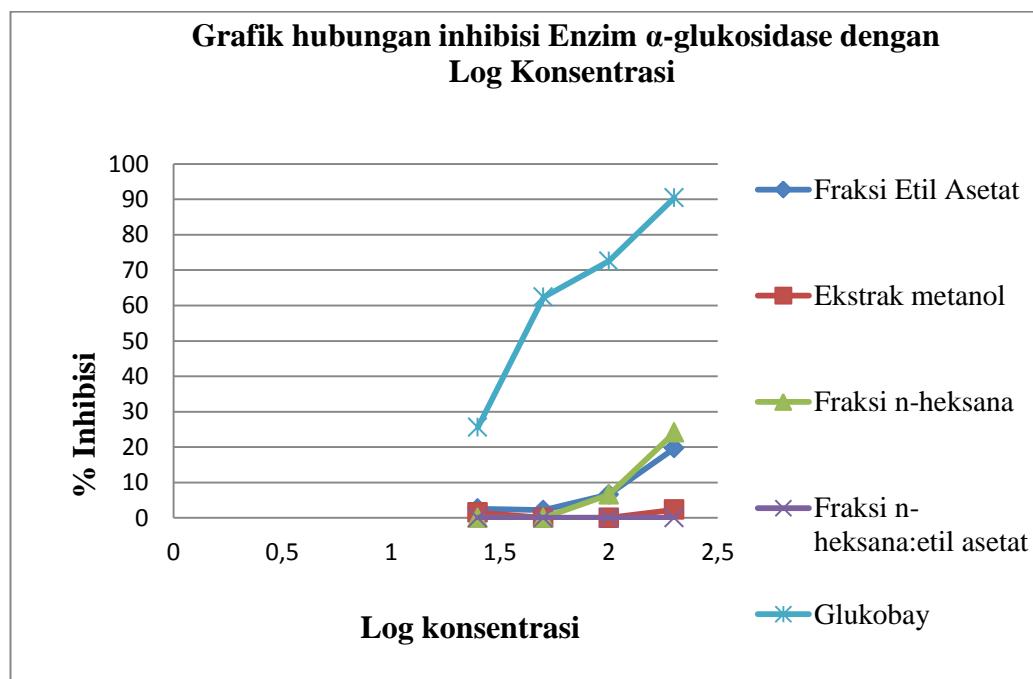
	Konsentrasi (ppm) K(-)	Absorbansi						Aktivitas Inhibisi (%)			Rata-rata % Inhibisi
		Absorbansi		Abs Terkoreksi			Rata-rata Absorbansi	A1	A2	A3	
Ekstrak Metanol	0	0.045	0.977	0.98	0.965	0.977	0.935	0.92	0.944		
	25	0.051	0.994	0.996	0.953	0.943	0.945	0.902	0.93	-3	-1.957
	50	0.053	1.042	1.08	1.06	0.989	1.027	1.007	1.00766667	-1.228	-9.84
	100	0.062	1.038	1.063	1.042	0.976	1.001	0.98	0.98566667	0.102	-7.059
	200	0.071	1.052	0.972	0.958	0.981	0.901	0.887	0.923	-0.409	3.636
Fraksi n-heksana	0	0.047	0.977	0.98	0.965	0.93	0.933	0.918	0.927		
	25	0.05	0.964	0.999	0.968	0.914	0.949	0.918	0.927	1.72	-1.715
	50	0.052	1.031	1.012	1.006	0.979	0.96	0.954	0.96433333	-5.269	-2.894
	100	0.058	0.93	0.926	0.917	0.872	0.868	0.712	0.81733333	6.237	6.967
	200	0.068	0.782	0.78	0.753	0.714	0.712	0.685	0.70366667	23.226	23.687
Fraksi n-heksana : etil asetat	0	0.046	0.913	0.921	0.869	0.867	0.875	0.823	0.855		
	25	0.053	1.001	0.991	0.995	0.948	0.938	0.942	0.94266667	-9.343	-7.2
	50	0.059	1.074	1.091	1.094	1.015	1.032	1.035	1.02733333	-17.07	-17.943
	100	0.075	1.101	1.129	1.126	1.026	1.054	1.051	1.04366667	-18.339	-20.457
	200	0.092	1.02	1.069	0.998	0.928	0.977	0.906	0.937	-7.036	-11.657
Fraksi Etil Asetat	0	0.05	0.935	0.921	0.935	0.885	0.871	0.885	0.88033333		
	25	0.05	0.919	0.892	0.913	0.869	0.842	0.863	0.858	1.808	3.33
	50	0.052	0.901	0.92	0.919	0.849	0.868	0.867	0.86133333	4.068	0.344
	100	0.058	0.894	0.865	0.882	0.836	0.807	0.824	0.82233333	5.537	7.348
	200	0.071	0.78	0.777	0.778	0.709	0.706	0.707	0.70733333	19.887	18.944
Akarbosa	0	0.045	0.554	0.549	0.566	0.509	0.504	0.521	0.51133333		
	0.1	0.045	0.421	0.427	0.428	0.376	0.382	0.383	0.38033333	26.13	24.206
	0.5	0.045	0.232	0.239	0.241	0.187	0.194	0.196	0.19233333	63.261	61.508
	1	0.047	0.182	0.194	0.186	0.135	0.147	0.139	0.14033333	73.477	70.833
	5	0.047	0.095	0.096	0.096	0.048	0.049	0.049	0.04866667	90.57	90.278
	10	0.047	0.075	0.079	0.077	0.028	0.032	0.03	0.03	94.499	93.651
										94.242	93.9465

Absorbansi kontrol (DMSO) yaitu 0,977 dan absorbansi sampel ekstrak daun *Vitex pinnata* Linn dengan konsentrasi 25 ppm yaitu 0,943. Hasil perhitungan inhibisi yaitu:

$$\text{Inhibisi (\%)} = \frac{0,977 - 0,943}{0,977} \times 100\% = 3,480\%$$

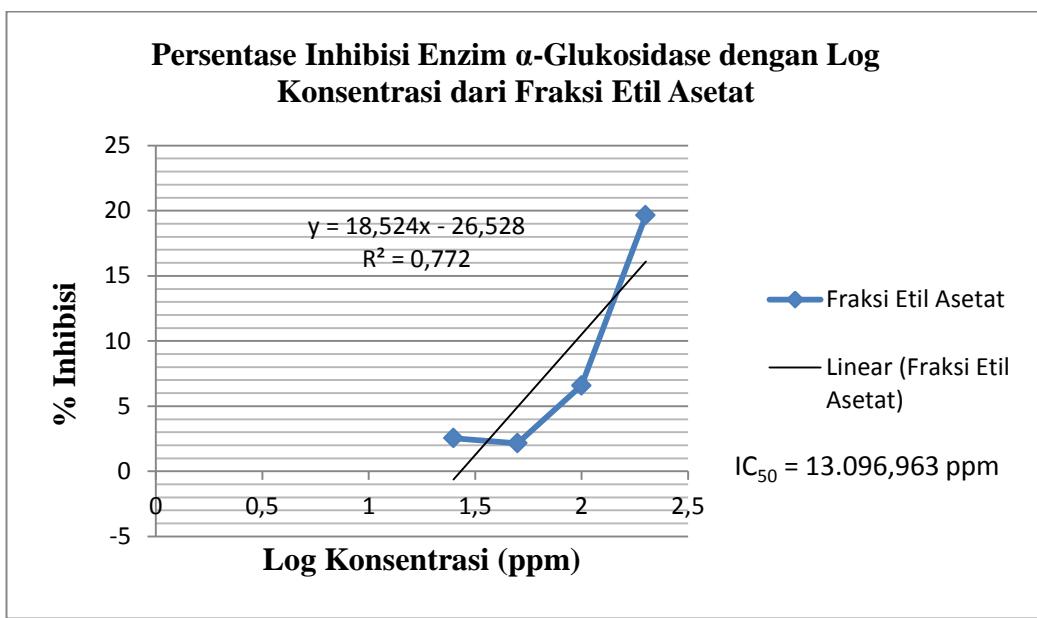
Perhitungan inhibisi enzim α -glukosidase lebih lanjut ditampilkan pada lampiran 4. Sampel fraksi etil asetat menghasilkan nilai absorbansi yang semakin kecil dengan meningkatnya konsentrasi. Nilai absorbansi yang kecil menandakan kemampuan sampel untuk menghambat kerja enzim dalam menghidrolisis substrat semakin kuat, sehingga semakin sedikit *p*-nitrofenol yang terbentuk yang membuat larutan tetap tidak berwarna.

Gambar 11 menunjukkan persentase dari glukobay dengan semua sampel daun *Vitex pinnata* Linn.



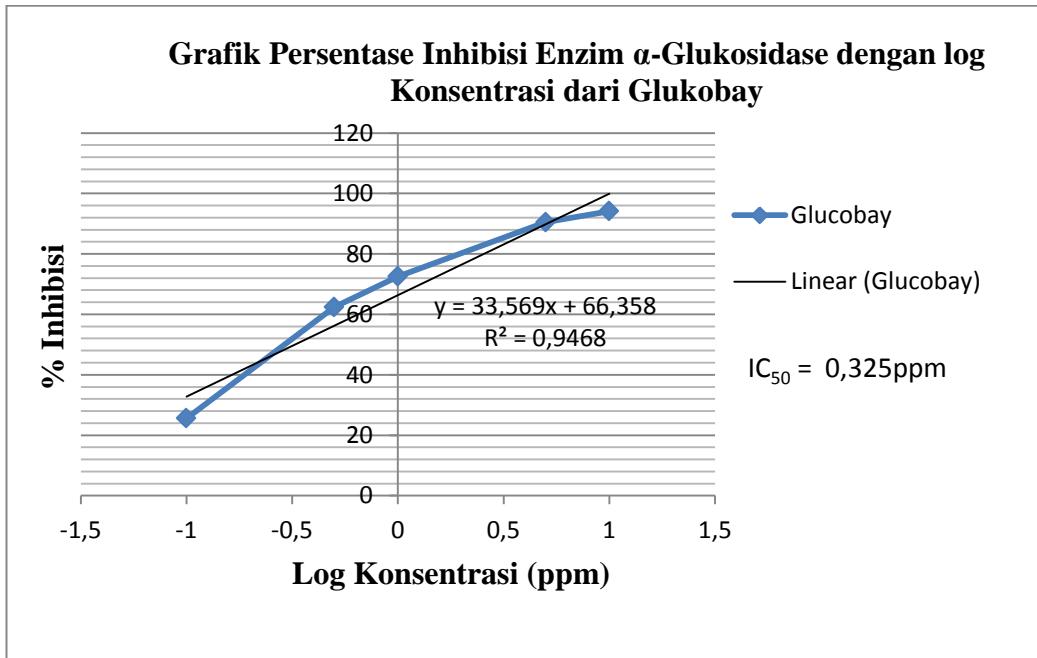
Gambar 11. Grafik Persentase Inhibisi Enzim α -glukosidase dengan Log Konsentrasi Semua Sampel

Berdasarkan grafik tersebut bahwa fraksi etil asetat menunjukkan sampel yang paling mirip dengan glukobay. Regresi linier dihasilkan berdasarkan korelasi log konsentrasi sampel dengan persen inhibisi untuk menghitung IC₅₀, seperti yang disajikan pada gambar 12.



Gambar 12. Grafik Persentase Inhibisi Enzim α -glukosidase dengan Log Konsentrasi Etil Asetat

Berdasarkan gambar 12 diperoleh persamaan regresi linier $y = 18.52x - 26.52$ dan diperoleh nilai IC_{50} fraksi etil asetat adalah 13.096,963 ppm. Perhitungan nilai IC_{50} dijabarkan pada lampiran 5.



Gambar 13. Grafik Persentase Inhibisi Enzim α -glukosidase dengan Log Konsentrasi Glukobay.

Berdasarkan gambar 13 didapatkan persamaan regresi linier $y = 33,569x + 66,36$ dan nilai IC₅₀ sebesar 0,325 ppm dan glukobay dapat dikatakan sangat aktif dalam menghambat enzim α -glukosidase karena memiliki nilai IC₅₀ kurang dari 11 ppm. Hal ini Sesuai dengan tabel 4 yang menunjukkan kategori golongan senyawa sebagai antidiabetes menurut Darmawan (2010).

Tabel 4. Kategori Nilai IC₅₀ Sebagai Zat Antidiabetes

Nilai IC ₅₀	Kategori
< 11 ppm	Sangat aktif sebagai antidiabetes
11-100 ppm	Aktif sebagai antidiabetes
>100 ppm	Tidak aktif sebagai antidiabetes

Nilai IC₅₀ berdasarkan persamaan regresi linier dari grafik antara persentase aktivitas antidiabetes dengan konsentrasi fraksi etil asetat dan glukobay yaitu:

Tabel 5. Nilai IC₅₀ dari Fraksi Etil Asetat dan Glukobay

Sampel	Nilai IC ₅₀	Kategori
Fraksi Etil Asetat	13.096,963 ppm	Tidak aktif sebagai Antidiabetes
Glukobay	0,325 ppm	Sangat aktif sebagai antidiabetes

Banyak penelitian telah membuktikan bahwa senyawa fitokimia memiliki kemampuan untuk menghambat aktivitas enzim α -glukosidase, seperti senyawa flavonoid (Wang *et al.*, 2010). Penelitian sebelumnya telah dilakukan Meena and Patni (2010) isolasi bagian akar tumbuhan *Vitex pinnata* Linn yaitu luteolin yang kaya akan gugus hidroksi (-OH) yang merupakan gugus farmakor dari glukobay yang telah digunakan sebagai obat antidiabetes oral sintetik. Informasi peran gugus hidroksi (-OH) dimana interaksi antara alfa glukosidase dari gula bit dengan glukobay menunjukkan adanya interaksi yang terbentuk antara glukobay dengan sisi aktif enzim melalui ikatan hidrogen yang melibatkan atom O, N, dan H.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian diperoleh kesimpulan yaitu:

1. Uji fitokimia menunjukkan adanya senyawa flavonoid, fenolik, saponin dan tanin pada ekstrak metanol dan fraksi etil asetat.
2. Uji penghambatan enzim α -glukosidase menunjukkan bahwa fraksi etil asetat daun *Vitex pinnata* Linn menghasilkan nilai IC₅₀ sebesar 13.096,963 ppm dan dikategorikan tidak aktif sebagai antidiabetes.

B. Saran

Penelitian ini merupakan studi awal dan perlu dilakukan penelitian lebih lanjut, seperti isolasi, karakterisasi, dan uji secara *in vivo* pada senyawa aktif sehingga tanaman *Vitex pinnata* Linn dapat dikembangkan sebagai obat penyakit Diabetes Melitus tipe 2.

DAFTAR PUSTAKA

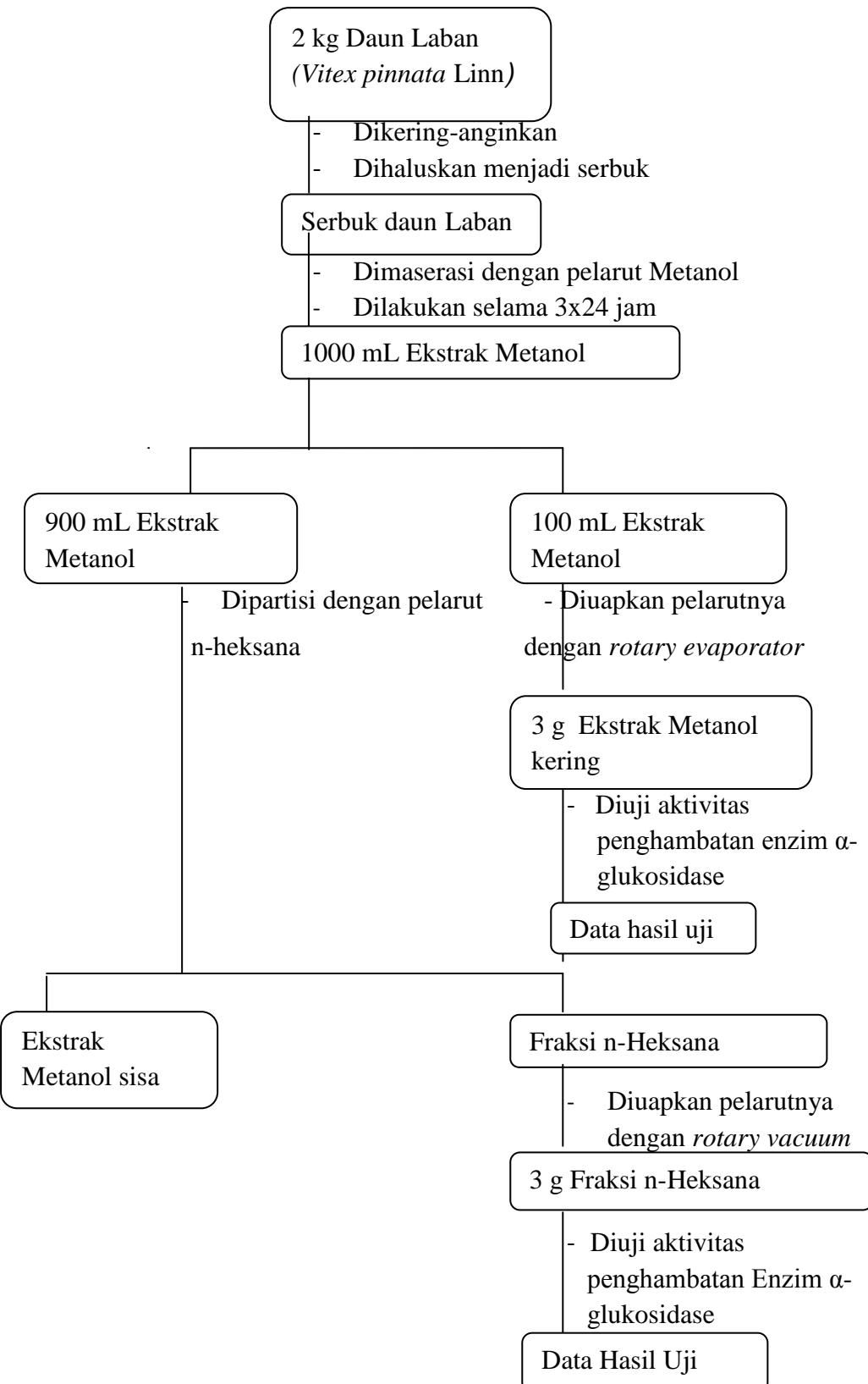
- Abdurahaman, F. I., Tijjani, M. A., Khan, I. Z., Sandabe U. K. 2012. Anti-Inflammatory, Anticonvulsant, and Antipyretic Properties of Ethanolic Extract of *Vitex doniana* Sweet Stem Bark. *International Research Journal of Pharmacy*, 3 (4): 289-290.
- Aslam, M., Tan, C.K., Prayitno, A. 2009. *Farmasi Klinis (Clinical Pharmacy), Menuju Pengobatan Rasional dan Penghargaan Pilihan Pasien*. Jakarta: Elex Media Komputindo.
- Brahmachari, G. 2011, Bio-Flavonoids With Promosing Antidiabetic Potentials: A Critical Survey, *Research Signpost* (4): 187-212
- Darmawan, A. 2010. Isolasi, Karakterisasi, dan Elusidasi Senyawa Bioaktif Antidiabetes dari Daun Cocor Bebek (*Kalanchoe pinnata* (Lam.) Pers.) *JIEB* 23(9): 17-20.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1995. *Materia Medika Indonesia Volume VI*. Jakarta: Departemen Kesehatan Indonesia RI, 333-337.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2000, *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*, Jakarta.
- Dipiro, J. T., Talbert, R. L., Yee, G.C., Matzke, G.R., Wells, B.G., Posey, L.M. 2005. *Pharmacotherapy: A Pathophysiologic Approach*. New York: McGraw-Hill Companies, Inc.
- Fatimatuz, Z.F., Amirul, I., Mahmudul, H., Mahmud, H.M., Ashraduzzaman., Shahnaz.K. 2017. Antioxidant and Antidiabetic Properties of *Vitex negundo* L. Leaves. *American Journal of Life Science* 5,21-26
- Goldstein, B. J. 2008. *Type 2 Diabetes: Principles and Practice (2nd Ed)*. USA: Informa Healthcare.
- Harborne, J. B. 1987. *Metode Fitokimia*. Bandung: ITB.
- Harborne, J.B. & Baxter, H. & Moss, G.P. 1999, *Phytochemical Dictionary: Handbook of Bioactive Compounds From Plants*, 2nd Ed, Taylor and Francis, London.
- Harborne, J. B., & Williams, C. A. 2000. *Advances in Flavonoid Research Since 1992, Phytochemistry*, 55, 481-504.
- Heyne, K. 1987. *Tumbuhan Berguna Indonesia*, Badan Litbang Kehutanan Jakarta, Jilid III, p.1390-1443.

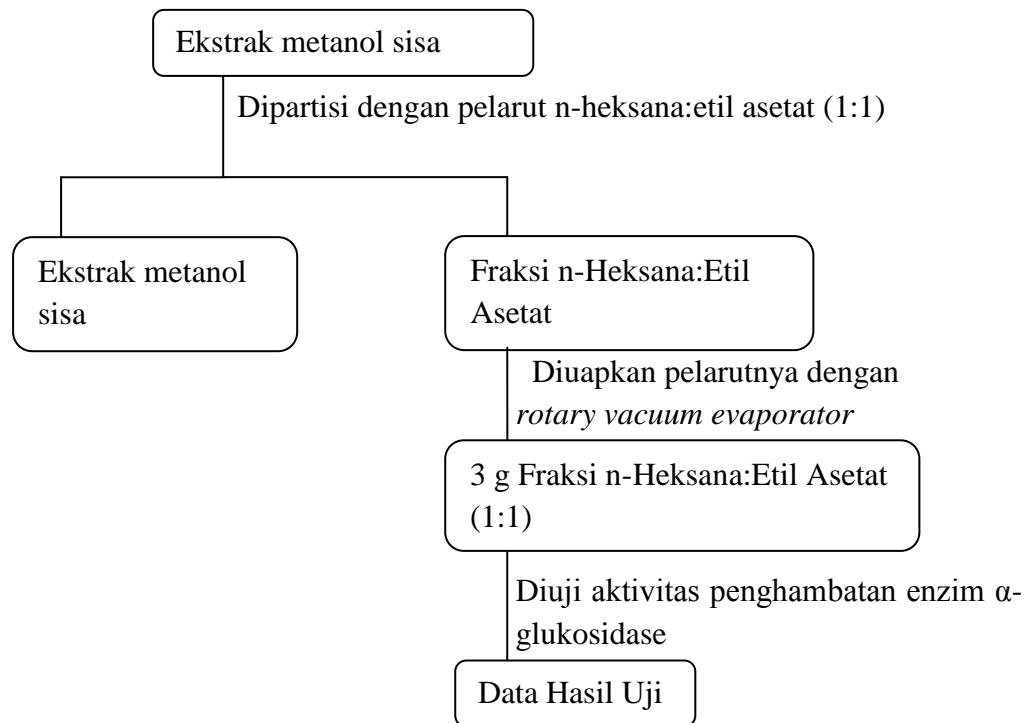
- Jack. 2012, *Synthesis of Antidiabetic Flavonoids and Their Derivative*. Medical Research page 180.
- Karadeniz, f., Burudurlu, H.S., Koca, N., and Soyer, Y. 2005. *Antioxidant Activity of selected Fruits and Vegetables Grown in Turkey*, *Turk. J. Agric. For.*, 29, 279-303.
- Kim T.W., Seo J.N., Suh Y.H., Park H.J., Kim J.H., Kim J.Y. 2006. Involvement of Lymphocytes in Dextran Sulfate Sodium-induced Experimental Colitis. *World J. Gastroenterol.* 12(2):302-305
- Krishnaraju, A. V., Rao., & Sundraraju, A. 2005, Assesment of Bioactivity of Indian Medicinal Plants Using Brine Shrimp (*Altenaria salania*) Lethality Assay, *Internasional Journal Applied Science and Engineering* 2, 125-134.
- Kulkarni, L, A. 2011. Pharmacological Review *Viex trifolia Linn (Verbaeaceae)*. *Pharmacologyonline* 3: 858-863.
- KuruÜ zü m-Uz, A., Strö ch, K., Demirezer, L., Zeeck, A. 2008. Antioxidant Potency of Flavonoids from *Vitex agnus-castus* L. Growing in Turkey. *FABAD J. Pharm. Sci.*, 33 (11-16).
- Lee, S.S., Lin, H.C., Chen C.K. 2008. Acylated Flavonol Monorhamnosides, α -glukosidase Inhibitors, from *Machilus philippinensis*. *Phytochemistry* 69: 2347-2353.
- Linn, W., Wofford, M., O'Keefe, M., Pose, L. 2009. *Pharmacotherapy in Primary Care*. New York: McGraw-Hill.
- Luo, L., Wang, R., Wang, X., Ma, Z., & Li, N. 2012. Compounds from *Angelica keiskei* with NQO1 induction, DPPH Scavenging and Alpha Glukosidase Inhibitory Activities. *Food Chemistry* 131, 992-998.
- Manaharan, T., Appleton, D., Cheng, H., & Palanisamy, U. 2011. Flavonoids Isolated from *Syzygium aqueum* Leaf Extract as Potential Antihyperglycemic agents. *Food Chemistry*. 6: 197-199
- Markham, K.R. 1998. *Cara Mengidentifikasi Favonoid*, diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata, 15, Penerbit ITB, Bnadung.
- Meena and Patni. 2010. *Isolasi dan Identifikasi Flavonoid Quercetin from Citrullus colocynthis (Linn.) Schrad*, Jurnal penelitian. University of Rajashtan India. (24 Juli 2017).
- Meena, A. K., Niranjan, U.S., Rao, M. M., Padhi, M, M., Babu, R. 2012. A Review of the Important Chemical Consistuens and Medicinal Uses of Vitex genus. *Asian Journal of Tradisional Medicines* 6 (2). 202-205

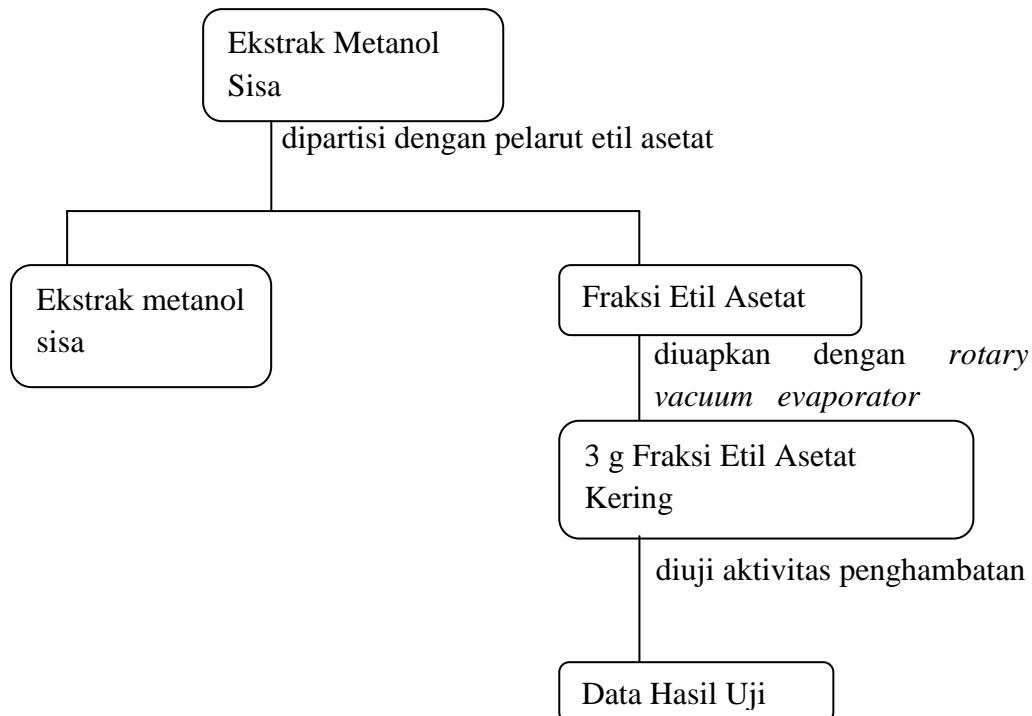
- Mohan, C., Long, K.D., and Mutneja, M. 2013, *An Introduction to Inhibitors and Their Biological Applications*, EMD Millipore.
- Mulja, M., Suharman, 1995. *Analisis Instrumen*, Cetakan 1, 26-32, Airlangga University Press, Surabaya.
- Mun'im, A., dan Hanami, E. 2011. *Fitoterapi Dasar*, PT. Dian Rakyat, Jakarta
- Murray K. R. 2009. *Harper's Illustrated Biochemistry*. Ed ke-26. London: Longe Medical Pub.
- Murray, R., Granner, D., Mayes, P., and Rodwell, V. 2003. *Illustrated Biochemistry 26 th ed*, New York: Mc Graw Hill.
- Nidhi, M. 2013. Haemotological ang Hypoglycemic Potential *Antethum Gravelons* Seeds Extract in Normal and Diabetic Swiss Abino Mice. *Vet World*, 8,502-507.
- Pharmaffilates. 2015. *Acarbose* (<http://pharmaffilates.com/impurities/35/acarbose>) (9 Juli 2017).
- Plantamor. 2013. *Antidesma bunius* (L.) Spreng, (<http://plantamor.com>) (2 Agustus 2017).
- Pratt, D.E dan Hudson, B.J.F. 1990. *Natural Antioxidant Not Exploited Commercially*. Elsevier Applied science, London.
- Prasanna Raja, Sivakumar, P., Riyazullah, V. M. S. 2012. *Antidiabetic Potensial of Aqueous and Etanol Leaf Ekstracts of Vitex negundo*. India: Departement of Pharmaceutical Chemistry, Sri Lakshmi Narasimha College of Pharmacy, Palluru, Chitov Dist – 517132, AP; 4(2): 38-40
- Riset Kesehatan Dasar (RISKESDAS). 2013. *Pedoman Pewawancara Petugas Pengmpul Data*. Jakarta: Badan Litbangkes, Depkes RI.
- Satish, S., Janakiraman, N., Johnson, M. 2012. Phytochemical Analysis of *Vitex altissima L.* using UV-VIS, FTIR and GC-MS. *International Jurnal of Pharmaceutical Sciences and Drug Research*; 4(1): 56-62.
- Sofawati, D. 2012. *Uji Aktivitas Antidiabetes Fraksi-fraksi Buah Ketapang (*Terrminalla catappa L.*) dengan metode Penghambatan Aktivitas Glukosidase dan Identifikasi Golongan Senyawa Kimia dari Fraksi yang Aktif*. Skripsi. Depok: Universitas Indonesia.
- Sudoyo, A., Setiyohadi,B., Alwi,I.K.M., dan Setiati, S. 2006. *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam edisi IV jilid III*. Jakarta: Pusat Penerbitan Departemen Ilmu Penyakit Dalam FKUI, 1862.

- Sugiwati S. 2005. *Aktivitas Anti Hiperglikemik dari Ekstrak Buah Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa* (Scheff) Boerl.) sebagai inhibitor α -Glukosidase In vitro dan In vivo pada Tikus Putih* (tesis). Bogor: Program Pasca Sarjana Institut Pertanian Bogor.
- Sugiwati, S., Setiasih, S., & Afifah, E. 2009. Antihyperglicemic Activity of the Mahkota Dewa [*Phaleria macrocarpa* (scheff.) boerl.] Leaf Extracts as an alpha-glucosidase Inhibitor. *Makara Kesehatan*, 13, 2, 74-78.
- Tjokroprawiro, A. 2007. *Diabetes Mellitus*. PT. Gramedia Pustaka Umum, Jakarta.
- Touchstone, J. C., Dobbins, M. F. 1983. *Practice of Thin Layer Cromatography* Atlas. New York: Springer-verlag, 51; 54; 74; 163-164; 188; 212; 225; 240; 299; 304.
- Wang, H., Du, Y.J., Song, H.C. 2010. α -Glukosidase and α -Amylase Inhibitor Activities of Guava Leaves. *Food Chem* 123: 6-13.
- Wardenaar, E., Jayuska, A., Yanti, H. 2011. *Karakterisasi Senyawa Cicerfuran dari Fraksi Etil Asetat Ekstrak Akar Kayu Laban (Vitex pubescens Vahl)*. Serpong: Universitas Tanjung Pura.
- Wijayakusuma H. 2007. *Bebas Diabetes Mellitus Ala Hembing*, Jakarta: Puspa Swara.
- Worldagroforestrycentre. 2013. *Vitex pinnata*. <http://www.Worldagroforestrycentre.org/sea/Products/AFDbases/AF/asp/SpeciesInfo.asp?SpID=17970>. (9 Oktober 2016).
- Yolanda, V. M. 2012. Profil NMR dan Uji Antioksidan Ekstrak Metanol Daun Laban (*Vitex pinnata*) dan Fraksi-fraksinya. [Skripsi]. Jakarta : Universitas Negeri Jakarta.

Lampiran 1. Bagan Kerja Ekstraksi Daun Laban (*Vitex pinnata Linn*).

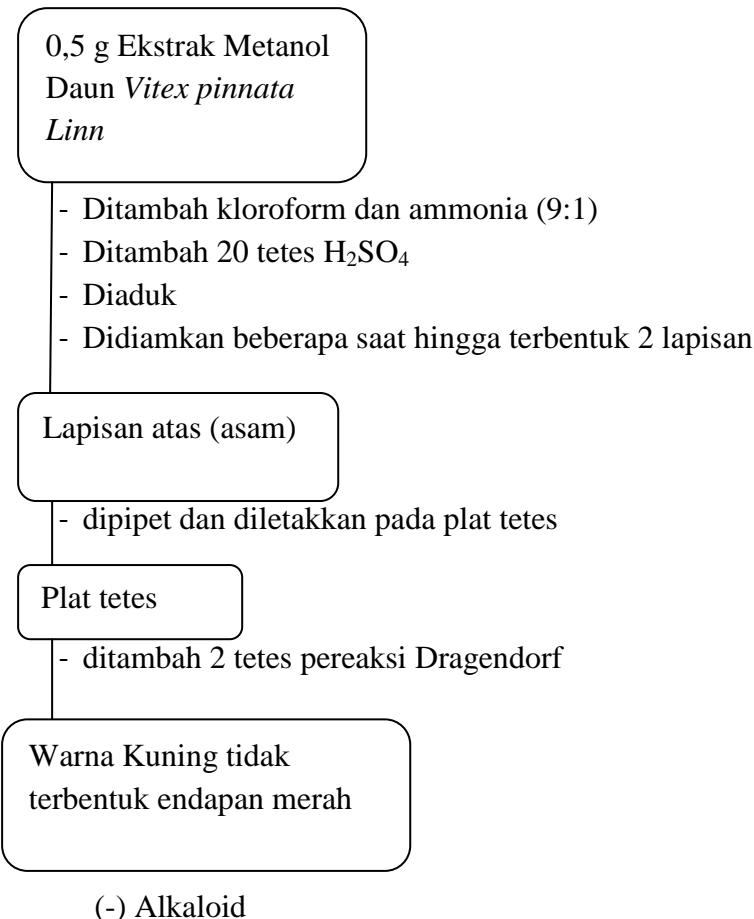


Lampiran 1. Bagan Kerja Ekstraksi Daun Laban (*Vitex pinnata* Linn) Lanjutan.

Lampiran 1. Bagan Kerja Ekstraksi Daun Laban (*Vitex pinnata* Linn) Lanjutan

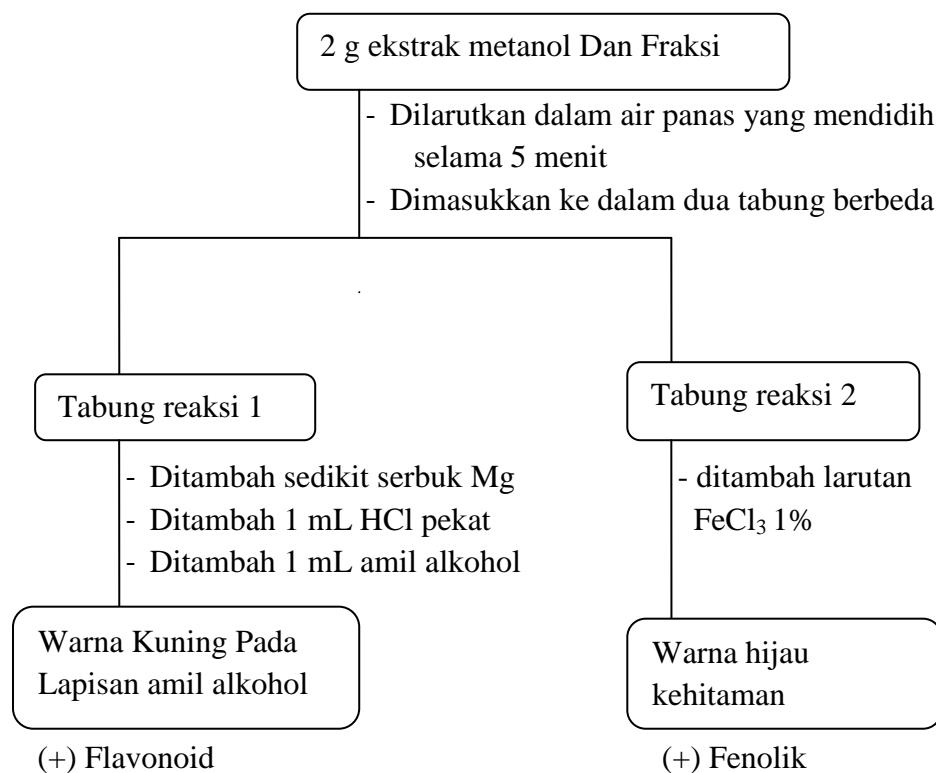
Lampiran 2. Bagan Kerja Uji Fitokimia

1. Uji Alkaloid



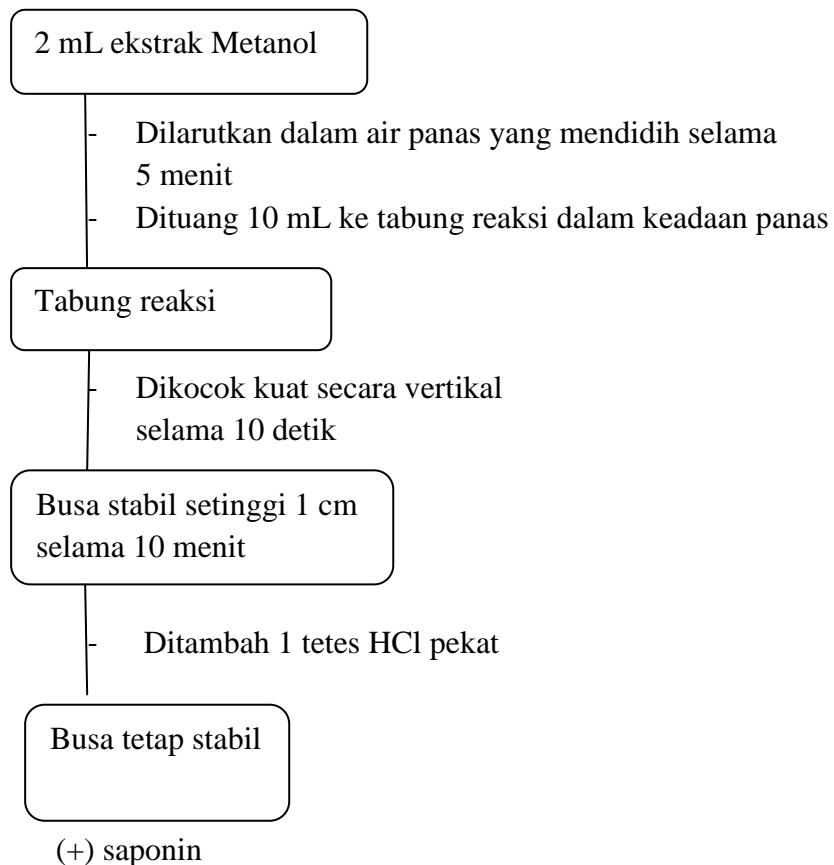
Lampiran 2. Bagan Uji Fitokimia (Lanjutan)

2. Uji Fenolik dan Flavonoid



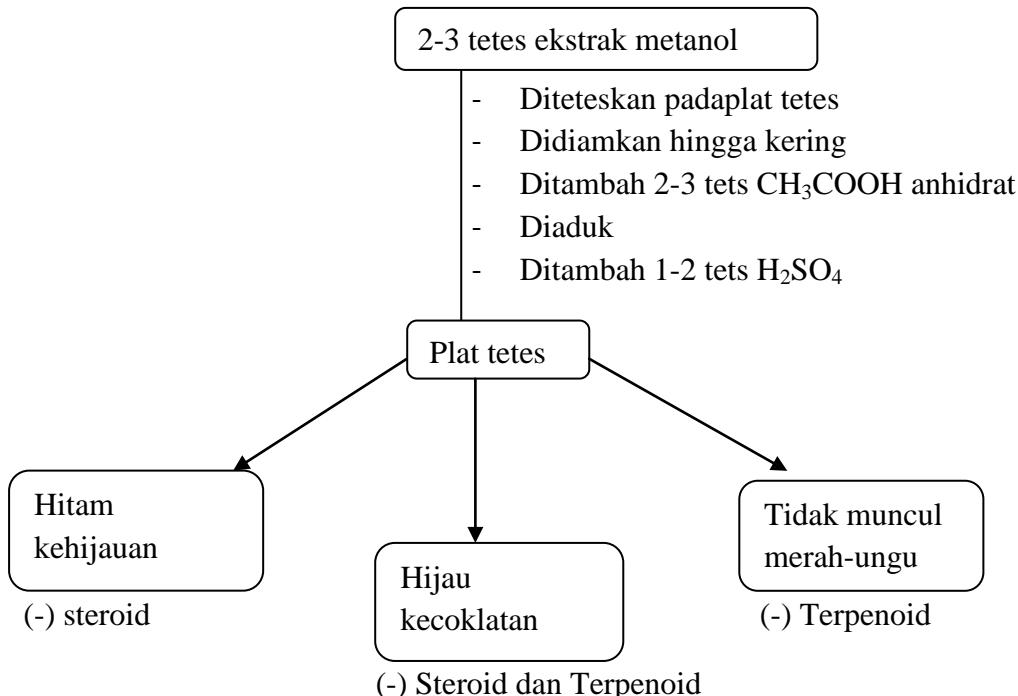
Lampiran 2. Bagan Kerja Uji Fitokimia (Lanjutan)

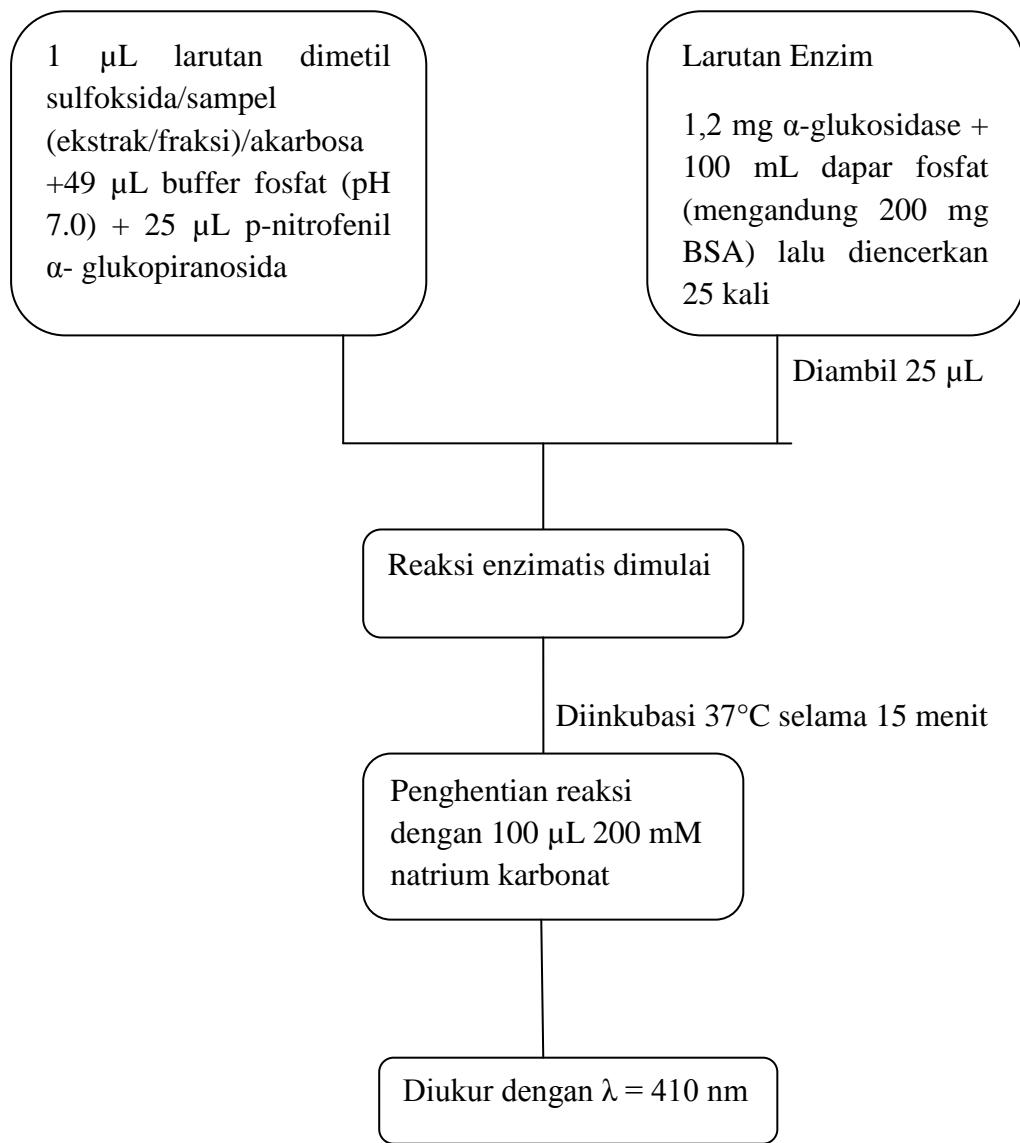
3. Uji Saponin



Lampiran 2. Bagan Kerja Uji Fitokimia (Lanjutan)

4. Uji Terpenoid dan Steroid



Lampiran 3. Bagan Kerja Uji Inhibisi Enzim α -glukoisdase

Lampiran 4. Perhitungan persen inhibsi

a. Ekstrak Metanol Daun

- Konsentrasi 25 ppm (U1)

$$\begin{aligned}\text{Inhibisi (\%)} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\ &= \frac{0,977 - 0,943}{0,977} \times 100\% \\ &= 3,480\end{aligned}$$

- Konsentrasi 25 ppm (U2)

$$\begin{aligned}\text{Inhibisi (\%)} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\ &= \frac{0,935 - 0,945}{0,935} \times 100\% \\ &= -1,070\end{aligned}$$

- Konsentrasi 25 ppm (U3)

$$\begin{aligned}\text{Inhibisi (\%)} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\ &= \frac{0,92 - 0,902}{0,92} \times 100\% \\ &= 1,957\end{aligned}$$

- Konsentrasi 50 ppm (U1)

$$\begin{aligned}\text{Inhibisi (\%)} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\ &= \frac{0,977 - 0,989}{0,977} \times 100\% \\ &= -1,228\end{aligned}$$

- Konsentrasi 50 ppm (U2)

$$\begin{aligned}\text{Inhibisi (\%)} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\ &= \frac{0,935 - 1,027}{0,935} \times 100\% \\ &= -9,840\end{aligned}$$

- Konsentrasi 50 ppm (U3)

$$\begin{aligned}\text{Inhibisi (\%)} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\ &= \frac{0,92 - 1,007}{0,92} \times 100\% \\ &= -9,457\end{aligned}$$

- Konsentrasi 100 ppm (U1)

$$\begin{aligned}\text{Inhibisi (\%)} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\ &= \frac{0,977 - 0,976}{0,977} \times 100\% \\ &= 0,102\end{aligned}$$

- Konsentrasi 100 ppm (U2)

$$\begin{aligned}\text{Inhibisi (\%)} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\ &= \frac{0,935 - 1,001}{0,935} \times 100\% \\ &= -7,059\end{aligned}$$

- Konsentrasi 100 ppm (U3)

$$\begin{aligned}\text{Inhibisi (\%)} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\ &= \frac{0,92 - 0,98}{0,92} \times 100\% \\ &= -6,522\end{aligned}$$

- Konsentrasi 200 ppm (U1)

$$\begin{aligned}\text{Inhibisi (\%)} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\ &= \frac{0,977 - 0,981}{0,977} \times 100\% \\ &= -0,409\end{aligned}$$

- Konsentrasi 200 ppm (U2)

$$\begin{aligned}\text{Inhibisi (\%)} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\ &= \frac{0,935 - 0,901}{0,935} \times 100\% \\ &= 3,636\end{aligned}$$

- Konsentrasi 200 ppm (U3)

$$\begin{aligned}\text{Inhibisi (\%)} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\ &= \frac{0,92 - 0,887}{0,92} \times 100\% \\ &= 3,587\end{aligned}$$

b. Fraksi n-Heksana

- Konsentrasi 25 ppm (U1)

$$\begin{aligned}\text{Inhibisi (\%)} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\ &= \frac{0,93 - 0,914}{0,93} \times 100\% \\ &= 1,720\end{aligned}$$

- Konsentrasi 25 ppm (U2)

$$\begin{aligned}\text{Inhibisi (\%)} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\ &= \frac{0,933 - 0,949}{0,933} \times 100\% \\ &= -1,715\end{aligned}$$

- Konsentrasi 25 ppm (U3)

$$\begin{aligned}\text{Inhibisi (\%)} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\ &= \frac{0,918 - 0,918}{0,918} \times 100\% \\ &= 0,000\end{aligned}$$

- Konsentrasi 50 ppm (U1)

$$\begin{aligned}\text{Inhibisi (\%)} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\ &= \frac{0,93 - 0,979}{0,93} \times 100\% \\ &= -5,269\end{aligned}$$

- Konsentrasi 50 ppm (U2)

$$\begin{aligned}\text{Inhibisi (\%)} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\ &= \frac{0,933 - 0,96}{0,933} \times 100\% \\ &= -2,894\end{aligned}$$

- Konsentrasi 50 ppm (U3)

$$\begin{aligned}\text{Inhibisi (\%)} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\ &= \frac{0,918 - 0,954}{0,918} \times 100\% \\ &= -3,922\end{aligned}$$

- Konsentrasi 100 ppm (U1)

$$\begin{aligned}\text{Inhibisi (\%)} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\ \text{Inhibisi (\%)} &= \frac{0,93 - 0,872}{0,93} \times 100\% \\ \text{Inhibisi (\%)} &= 6,237\end{aligned}$$

- Konsentrasi 100 ppm (U2)

$$\begin{aligned}\text{Inhibisi (\%)} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\ \text{Inhibisi (\%)} &= \frac{0,933 - 0,868}{0,933} \times 100\% \\ \text{Inhibisi (\%)} &= 6,967\end{aligned}$$

- Konsentrasi 100 ppm (U3)

$$\begin{aligned}\text{Inhibisi (\%)} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\ \text{Inhibisi (\%)} &= \frac{0,918 - 0,859}{0,918} \times 100\% \\ \text{Inhibisi (\%)} &= 6,427\end{aligned}$$

- Konsentrasi 200 ppm (U1)

$$\begin{aligned}\text{Inhibisi (\%)} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\ \text{Inhibisi (\%)} &= \frac{0,93 - 0,714}{0,93} \times 100\% \\ \text{Inhibisi (\%)} &= 23,226\end{aligned}$$

- Konsentrasi 200 ppm (U2)

$$\begin{aligned}\text{Inhibisi (\%)} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\ \text{Inhibisi (\%)} &= \frac{0,933 - 0,712}{0,933} \times 100\% \\ \text{Inhibisi (\%)} &= 23,687\end{aligned}$$

- Konsentrasi 200 ppm (U3)

$$\begin{aligned}\text{Inhibisi (\%)} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\ \text{Inhibisi (\%)} &= \frac{0,918 - 0,685}{0,918} \times 100\% \\ \text{Inhibisi (\%)} &= 25,381\end{aligned}$$

c. Fraksi n-heksana:etil asetat

- Konsentrasi 25 ppm (U1)

$$\begin{aligned}\text{Inhibisi (\%)} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\ &= \frac{0,867 - 0,948}{0,867} \times 100\% \\ &= -9,434\end{aligned}$$

- Konsentrasi 25 ppm (U2)

$$\begin{aligned}\text{Inhibisi (\%)} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\ &= \frac{0,875 - 0,938}{0,875} \times 100\% \\ &= -7,200\end{aligned}$$

- Konsentrasi 25 ppm (U3)

$$\begin{aligned}\text{Inhibisi (\%)} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\ &= \frac{0,823 - 0,942}{0,823} \times 100\% \\ &= -14,459\end{aligned}$$

- Konsentrasi 50 ppm (U1)

$$\begin{aligned}\text{Inhibisi (\%)} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\ &= \frac{0,867 - 1,015}{0,867} \times 100\% \\ &= -17,070\end{aligned}$$

- Konsentrasi 50 ppm (U2)

$$\begin{aligned}\text{Inhibisi (\%)} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\ &= \frac{0,875 - 1,032}{0,875} \times 100\% \\ &= -17,943\end{aligned}$$

- Konsentrasi 50 ppm (U3)

$$\begin{aligned}\text{Inhibisi (\%)} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\ &= \frac{0,823 - 1,035}{0,823} \times 100\% \\ &= -25,759\end{aligned}$$

- Konsentrasi 100 ppm (U1)

$$\begin{aligned}\text{Inhibisi (\%)} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\ &= \frac{0,867 - 1,026}{0,867} \times 100\% \\ &= -18,339\end{aligned}$$

- Konsentrasi 100 ppm (U2)

$$\begin{aligned}\text{Inhibisi (\%)} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\ &= \frac{0,875 - 1,054}{0,875} \times 100\% \\ &= -20,457\end{aligned}$$

- Konsentrasi 100 ppm (U3)

$$\begin{aligned}\text{Inhibisi (\%)} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\ &= \frac{0,823 - 1,051}{0,823} \times 100\% \\ &= -27,704\end{aligned}$$

- Konsentrasi 200 ppm (U1)

$$\begin{aligned}\text{Inhibisi (\%)} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\ &= \frac{0,867 - 0,928}{0,867} \times 100\% \\ &= -7,036\end{aligned}$$

- Konsentrasi 200 ppm (U2)

$$\begin{aligned}\text{Inhibisi (\%)} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\ &= \frac{0,875 - 0,977}{0,875} \times 100\% \\ &= -11,657\end{aligned}$$

- Konsentrasi 200 ppm (U3)

$$\begin{aligned}\text{Inhibisi (\%)} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\ &= \frac{0,823 - 0,906}{0,823} \times 100\% \\ &= -10,085\end{aligned}$$

d. Fraksi Etil Asetat

- Konsentrasi 25 ppm (U1)

$$\begin{aligned}\text{Inhibisi (\%)} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\ &= \frac{0,885 - 0,869}{0,885} \times 100\% \\ &= 1,808\end{aligned}$$

- Konsentrasi 25 ppm (U2)

$$\begin{aligned}\text{Inhibisi (\%)} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\ &= \frac{0,871 - 0,842}{0,871} \times 100\% \\ &= 3,330\end{aligned}$$

- Konsentrasi 25 ppm (U3)

$$\begin{aligned}\text{Inhibisi (\%)} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\ &= \frac{0,885 - 0,863}{0,885} \times 100\% \\ &= 2,486\end{aligned}$$

- Konsentrasi 50 ppm (U1)

$$\begin{aligned}\text{Inhibisi (\%)} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\ &= \frac{0,885 - 0,849}{0,885} \times 100\% \\ &= 4,068\end{aligned}$$

- Konsentrasi 50 ppm (U2)

$$\begin{aligned}\text{Inhibisi (\%)} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\ &= \frac{0,871 - 0,868}{0,871} \times 100\% \\ &= 0,344\end{aligned}$$

- Konsentrasi 50 ppm (U3)

$$\begin{aligned}\text{Inhibisi (\%)} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\ &= \frac{0,885 - 0,867}{0,885} \times 100\% \\ &= 2,034\end{aligned}$$

- Konsentrasi 100 ppm (U1)

$$\begin{aligned}\text{Inhibisi (\%)} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\ &= \frac{0,885 - 0,836}{0,885} \times 100\% \\ &= 5,537\end{aligned}$$

- Konsentrasi 100 ppm (U2)

$$\begin{aligned}\text{Inhibisi (\%)} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\ &= \frac{0,871 - 0,807}{0,871} \times 100\% \\ &= 7,348\end{aligned}$$

- Konsentrasi 100 ppm (U3)

$$\begin{aligned}\text{Inhibisi (\%)} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\ &= \frac{0,885 - 0,824}{0,885} \times 100\% \\ &= 6,893\end{aligned}$$

- Konsentrasi 200 ppm (U1)

$$\begin{aligned}\text{Inhibisi (\%)} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\ &= \frac{0,885 - 0,709}{0,885} \times 100\% \\ &= 19,887\end{aligned}$$

- Konsentrasi 200 ppm (U2)

$$\begin{aligned}\text{Inhibisi (\%)} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\ &= \frac{0,871 - 0,706}{0,871} \times 100\% \\ &= 18,944\end{aligned}$$

- Konsentrasi 200 ppm (U3)

$$\begin{aligned}\text{Inhibisi (\%)} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\ &= \frac{0,885 - 0,707}{0,885} \times 100\% \\ &= 20,113\end{aligned}$$

e. Akarbosa

- Konsentrasi 0,100 ppm (U1)

$$\begin{aligned}\text{Inhibisi (\%)} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\ &= \frac{0,509 - 0,376}{0,509} \times 100\% \\ &= 26,130\end{aligned}$$

- Konsentrasi 0,100 ppm (U2)

$$\begin{aligned}\text{Inhibisi (\%)} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\ &= \frac{0,504 - 0,382}{0,504} \times 100\% \\ &= 24,206\end{aligned}$$

- Konsentrasi 0,100 ppm (U3)

$$\begin{aligned}\text{Inhibisi (\%)} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\ &= \frac{0,521 - 0,383}{0,521} \times 100\% \\ &= 26,488\end{aligned}$$

- Konsentrasi 0,500 ppm (U1)

$$\begin{aligned}\text{Inhibisi (\%)} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\ &= \frac{0,509 - 0,187}{0,509} \times 100\% \\ &= 63,261\end{aligned}$$

- Konsentrasi 0,500 ppm (U2)

$$\begin{aligned}\text{Inhibisi (\%)} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\ &= \frac{0,504 - 0,194}{0,504} \times 100\% \\ &= 61,508\end{aligned}$$

- Konsentrasi 0,500 ppm (U3)

$$\begin{aligned}\text{Inhibisi (\%)} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\ &= \frac{0,521 - 0,196}{0,521} \times 100\% \\ &= 62,380\end{aligned}$$

- Konsentrasi 1,000 ppm (U1)

$$\begin{aligned}\text{Inhibisi (\%)} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\ \text{Inhibisi (\%)} &= \frac{0,509 - 0,135}{0,509} \times 100\% \\ \text{Inhibisi (\%)} &= 73,477\end{aligned}$$

- Konsentrasi 1,000 ppm (U2)

$$\begin{aligned}\text{Inhibisi (\%)} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\ \text{Inhibisi (\%)} &= \frac{0,504 - 0,147}{0,504} \times 100\% \\ \text{Inhibisi (\%)} &= 70,833\end{aligned}$$

- Konsentrasi 1,000 ppm (U3)

$$\begin{aligned}\text{Inhibisi (\%)} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\ \text{Inhibisi (\%)} &= \frac{0,521 - 0,139}{0,521} \times 100\% \\ \text{Inhibisi (\%)} &= 73,321\end{aligned}$$

- Konsentrasi 5,000 ppm (U1)

$$\begin{aligned}\text{Inhibisi (\%)} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\ \text{Inhibisi (\%)} &= \frac{0,509 - 0,048}{0,509} \times 100\% \\ \text{Inhibisi (\%)} &= 90,570\end{aligned}$$

- Konsentrasi 5,000 ppm (U2)

$$\begin{aligned}\text{Inhibisi (\%)} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\ \text{Inhibisi (\%)} &= \frac{0,504 - 0,049}{0,504} \times 100\% \\ \text{Inhibisi (\%)} &= 90,278\end{aligned}$$

- Konsentrasi 5,000 ppm (U3)

$$\begin{aligned}\text{Inhibisi (\%)} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\ \text{Inhibisi (\%)} &= \frac{0,521 - 0,049}{0,521} \times 100\% \\ \text{Inhibisi (\%)} &= 90,595\end{aligned}$$

- Konsentrasi 10,000 ppm (U1)

$$\text{Inhibisi (\%)} = \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

$$\text{Inhibisi (\%)} = \frac{0,509 - 0,028}{0,509} \times 100\%$$

$$\text{Inhibisi (\%)} = 94,499$$

- Konsentrasi 10,000 ppm (U2)

$$\text{Inhibisi (\%)} = \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

$$\text{Inhibisi (\%)} = \frac{0,504 - 0,032}{0,504} \times 100\%$$

$$\text{Inhibisi (\%)} = 93,651$$

- Konsentrasi 10,000 ppm (U3)

$$\text{Inhibisi (\%)} = \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

$$\text{Inhibisi (\%)} = \frac{0,521 - 0,03}{0,521} \times 100\%$$

$$\text{Inhibisi (\%)} = 94,242$$

Lampiran 5. Perhitungan IC₅₀

1. Sampel Fraksi Etil Asetat

Persamaan regresi linier pada grafik $y = 18,52x - 26,52$

$$50 = 18,52x - 26,52$$

$$x = \frac{50+26,52}{18,52} = 4,117$$

$$x = 13.096,963 \text{ ppm}$$

2. Kontrol Glucobay

Persamaan regresi linier pada grafik $y = 33,56x + 66,35$

$$50 = 33,56x + 66,35$$

$$x = \frac{50-66,35}{33,56} = -0,487$$

$$x = 0,325 \text{ ppm}$$

Lampiran 6. Sertifikat Uji Inhibisi Enzim α -glukosidase



LABORATORIUM PUSAT STUDI BIOFARMAKA

LPPM - INSTITUT PERTANIAN BOGOR

Jl. Taman Kencana No. 03 Bogor 16151

Telp/Fax: +62-251-8373561/ +62-251-8347525;

website: www.biofarmaka.or.id; Email: bfarmaka.lub@gmail.com

No : 135/I3.11.7/LPSB/17

Bogor, 06 April 2017

Lampiran : 1 halaman

Perihal : Laporan Hasil Uji

Kepada Yth.

Anisa Nopa Riyani

Universitas Negeri Jakarta

Jl Kemayoran Tengah II Rt 006 Rw 07 Jakarta Barat

Dengan hormat,

Berdasarkan formulir permohonan analisis order no 021/III, maka bersama ini kami sampaikan hasil uji analisis laboratorium untuk sampel:

Nama sampel: Ekstrak Metanol, Fraksi n Heksan, Fraksi Heksan : Etil Asetat, dan Fraksi Etil Asetat

Jenis analisis: Inhibisi Enzim α -Glukosidase IC₅₀

Demikian surat ini kami sampaikan semoga dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Atas kerjasamanya diucapkan terima kasih.

Hormat kami,

Laboratorium Pusat Studi Biofarmaka

LPPM IPB

PUSAT STUDI
BIOFARMAKA LPPM IPB

Rudi Heryanto, MSi

Manajer Teknis

Lampiran 6. Lanjutan



LABORATORIUM PUSAT STUDI BIOFARMAKA
LPPM - INSTITUT PERTANIAN BOGOR
Jl. Taman Kencana No. 03 Bogor 16151
Telp/Fax: +62-251-8373561/ +62-251-8347525;
website: www.biofarmaka.or.id; Email: bfarmaka.lub@gmail.com

LAPORAN HASIL UJI

No. (sertifikat) 405.017/LPSB IPB/III/17

No Order	: 021/III
Nama / Instansi	: Anisa Nopa Riyani / Universitas Negeri Jakarta
Alamat	: Jl Kemayoran Tengah II Rt 006 Rw 07 Jakarta Barat
Jenis analisis	: Inhibisi Enzim a-Glukosidase IC ₅₀
Tanggal Terima	: 09 Maret 2017
Tanggal pengujian	: 29 Maret 2017

Nama Sampel	Identitas & keadaan sampel	Parameter	Hasil	Satuan	Teknik Analisis
Ekstrak Metanol	Padatan	Inhibisi Enzim a-Glukosidase IC ₅₀	Tidak Aktif*	ppm	Spektrofotometri
Fraksi n Heksan	Padatan	Inhibisi Enzim a-Glukosidase IC ₅₀	>200	ppm	Spektrofotometri
Fraksi Heksan : Etil Asetat	Padatan	Inhibisi Enzim a-Glukosidase IC ₅₀	Tidak Aktif*	ppm	Spektrofotometri
Fraksi Etil Asetat	Padatan	Inhibisi Enzim a-Glukosidase IC ₅₀	>200	ppm	Spektrofotometri
Glukobay	Padatan	Inhibisi Enzim a-Glukosidase IC ₅₀	0.33	ppm	Spektrofotometri

Keterangan:
 *Tidak memberikan penghambatan pada konsentrasi yang diuji terhadap aktivitas enzim a-Glukosidase

Bogor, 06 April 2017

Manajer Teknis,

Rudi Heryanto,
 MSi
 NIP. 19760428 200501 1002

Rudi Heryanto

PUSAT STUDI
 BIOFARMAKA
 LPPM IPB

DAFTAR RIWAYAT HIDUP



Anisa Nopa Riyani. Lahir di Jakarta pada tanggal 11 November 1995. Anak terakhir dari pasangan Arifin dan Zubaedah. Memiliki semangat yang tinggi, serta antusias terhadap hal maupun tantangan yang baru. Penulis menyelesaikan pendidikan formal di SD Negeri Kemayoran 11 Pagi pada tahun 2001-2007, SMP Negeri 59 Jakarta Pusat pada tahun 2007-2010, SMA Negeri 15 Jakarta Utara pada tahun 2010-2013, dan diterima di Program Studi Kimia FMIPA Universitas Negeri Jakarta pada tahun 2013 melalui jalur SNMPTN undangan. Selama perkuliahan penulis aktif dalam kegiatan organisasi kelas. Penulis pernah melakukan kunjungan ke beberapa industri, seperti PT. Coca Cola Amatil Indonesia, PT. Sari Roti, PT. Krakatau Steel Indonesia, PT. Semen Gresik Indonesia. Penulis pernah menjadi asisten dosen praktikum Kimia Analisis Instrumen, Praktikum Kinetika Kimia, dan Praktikum Struktur dan Fungsi Biomolekul.

Penghargaan yang pernah diterima oleh penulis selama kuliah yaitu penerima Hibah Dana Program Kreativitas Mahasiswa (PKM) DIKTI tahun 2014 dalam bidang Kewirausahaan.