

**UJI AKTIVITAS INHIBISI ENZIM α -GLUKOSIDASE DARI
EKSTRAK METANOL DAN FRAKSI-FRAKSI DAUN *Vitex*
trifolia Linn ASAL YOGYAKARTA SECARA *IN VITRO***

SKRIPSI

**Disusun untuk melengkapi syarat-syarat guna memperoleh Gelar
Sarjana Sains**



**Vera Lesmanawati
3325130979**

PROGRAM STUDI KIMIA

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

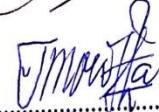
UNIVERSITAS NEGERI JAKARTA

2017

LEMBAR PENGESAHAN

Uji Inhibisi Enzim α -Glukosidase dari Ekstrak Metanol dan Fraksi-Fraksi
Daun *Vitex trifolia* Linn Asal Yogyakarta secara *In Vitro*

Nama Mahasiswa : Vera Lesmanawati
No. Registrasi : 3325130979
Program Studi : Kimia

	Nama	Tanda Tangan	Tanggal
Penanggung Jawab Dekan	: Prof. Dr. Suyono, M.Si 19671218 199303 1 005		21/08/2017
Wakil Penanggung Jawab Wakil Dekan I	: Dr. Muktiningsih N., M.Si 19640511 198903 2 001		21/08/2017
Ketua	: Drs. Suhartono, M.Kes 19550712 198303 1 001		14/08/2017
Sekretaris	: Dr. Moersilah, M.Si 19580523 199703 2 001		14/08/2017
Anggota Pengaji	: Dr. Setia Budi, M.Sc. 19790621 200501 1 001		14/08/2017
Pembimbing I	: Irma Ratna K., M.Sc.Tech 19721204 200501 2 001		14/08/2017
Pembimbing II	: Dr. Fera Kurniadewi, M.Si 19761231 200112 2 002		21/08/2017

Tanggal Lulus : Senin, 7 Agustus 2017

LEMBAR PERNYATAAN

Saya menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi dengan judul “ Uji Aktivitas Inhibisi Enzim α -Glukosidase dari Ekstrak Metanol dan Fraksi-Fraksi Daun *Vitex trifolia* Linn Asal Yogyakarta secara *In Vitro*” 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, kasidah 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, Agustus 2017



Vera Lesmanawati



Maka nikmat Tuhanmu yang manakah yang kamu dustakan? (QS: Ar-Rahman 13)

Alhamdulillah.. Alhamdulillah.. Alhamdulillahirobbil alamin...

Sujud syukurku kusembahkan kepada Allah SWT yang Maha Pengasih dan Maha Penyayang , atas takdirmu Engkau telah menjadikan ku manusia yang senantiasa beriman dan berilmu dalam menjalani kehidupan ini. Engkau memberikanku nikmat yang amat besar ini sehingga aku bisa sampai menapaki satu jejak dari awal perjuanganku dalam meraih cita-citaku yang insyaa Allah Engkau Ridhoi.

Untuk Bapak dan Mama Ku Tercinta

Kupersembahkan sebuah karya kecil ini untuk kalian yang kucintai, yang tiada pernah hentinya memberikannya doa, semangat, nasihat, kasih sayang, serta pengorbanannya yang tak akan pernah ku mampu untuk membalasnya sehingga aku selalu kuat dalam menjalani setiap ujian dan rintangan yang kuhadapi selama ini. Maafkan vera yang belum bisa menjadi suatu kebanggan untuk kalian, dengan semua pengorbanan dan perjuangan yang telah bapak dan mama lakukan. Vera berjanji jika suatu saat nanti vera akan memberikan hal-hal yang terbaik untuk kalian. Dan tak lupa kepada kakak-kakakku tercinta Ella dan Alex yang selalu mendoakan dan memberikan semangat kepadaku selama ini.

*Untuk Dosen Pembimbing ku Bu Irma dan Bu Fera serta seluruh Dosen Kimia
VNJ*

Terima Kasih yang sebesar-besarnya vera sampaikan untuk Ibu Irma dan Ibu Fera yang telah tulus dan ikhlas dalam membimbing serta meluangkan sebagian waktunya untuk mengajari vera banyak hal-hal yang bermanfaat, khususnya dalam menjalani kegiatan akademik dan mengajarkan banyak hal yang baru dan positif untuk saya. Semoga Allah senantiasa membalas seluruh kebaikan dan keikhlasan kalian selama ini.

Teruntuk Sahabatku, Ayu Lestari

Vera sangat bersyukur kepada Allah karena telah memberikan salah satu nikmatnya untukku yaitu menghadirkan ayu sebagai sahabat terbaik yang pernah vera miliki selama vera hidup, terima kasih karena telah memberikanku banyak kebaikan dan semangat sehingga vera bisa menjalani dan menghargai hidup ini dengan lebih baik dari sebelumnya. Terima kasih selama 4 tahun ini sudah mau menerima semua kekurangan yang vera miliki dan terima kasih karna banyak membantu vera salah satunya dalam menyelesaikan skripsi ini sebagai awal langkah kita untuk membanggakan orang tua kita, tetap semangat Ayu

^ ^
—

Dear Partner Penelitianku, Nurul, Nopa, dan Ratih

Terima Kasih vera ucapan untuk Nurul, Nopa, dan Ratih karena selama ini sudah banyak memberikan vera masukan dan membantu vera dalam menyelesaikan penelitian ini. Tanpa kalian, semuanya akan terasa berat untuk vera jalani, terima kasih untuk segala doa dan dukungan yang telah kalian berikan.

Untuk Keluarga Keduaku, CHEMS 2013

Terima Kasih untuk keluargaku yang luar biasa ini karena telah menjadikan vera salah satu orang yang paling bersyukur berada diantara orang-orang yang luar biasa seperti kalian, banyak hal yang kita lewati bersama dengan penuh canda, tawa, bahkan kesedihan. Namun semua itu terlewatkan dengan adanya ukhuwah yang terjalin kuat antara kita. Tak lupa vera sampaikan terima kasih dan rasa syukur vera untuk PECAH TELOR dan Sirius Girls, kalian membuat semua yang vera jalani selama ini terasa indah dan sempurna, makasih buat Ayu, Mei, Nurjay, dan Brilli yang sudah ikhlas menampung vera sebagai sahabat kalian, makasih juga buat Maryanti, Yuki, Adit, Nurul, Uyung, firoh, Tuti, Zentika, Hilda, Ilma, Tia, Delia, dan Pecah telor lainnya yang selama ini senantiasa selalu memberikan kebahagiaan untuk vera, aku bersyukur punya kalian semua. Semoga ukhuwah ini akan terus terjalin sampai kita sukses nanti yaaa...

ABSTRAK

VERA LESMANAWATI. Uji Aktivitas Inhibisi Enzim α -Glukosidase dari Ekstrak Metanol dan Fraksi-Fraksi Daun *Vitex trifolia* Linn Asal Yogyakarta secara *In Vitro*. Dibawah bimbingan IRMA RATNA KARTIKA, FERA KURNIADEWI

Diabetes Melitus merupakan penyakit metabolism yang menjadi salah satu penyakit serius di Indonesia, terutama diabetes melitus tipe 2. Pencegahan DM tipe 2 dapat dilakukan dengan menghambat enzim α -glukosidase sehingga absorpsi glukosa tertunda dan kadar glukosa darah dapat menurun. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas inhibisi enzim α -glukosidase dari ekstrak metanol, fraksi n-heksana, fraksi n-heksana : etil asetat, dan fraksi etil asetat daun *Vitex trifolia* L asal Yogyakarta. Uji aktivitas inhibisi enzim α -glukosidase dilakukan secara *in vitro* dengan menggunakan substrat *p*-nitrofenil- α -glukopiranosa dan mengukur absorbansi *p*-nitrofenol sebagai produk reaksi enzimatis pada panjang gelombang 410 nm. Hasil penelitian menunjukkan bahwa fraksi etil asetat mengandung senyawa golongan flavonoid dan saponin. Nilai IC₅₀ dari fraksi etil asetat yang dihasilkan adalah 691,8 ppm dan dikategorikan tidak aktif sebagai antidiabetes ketika dibandingkan dengan glukobay (sebagai kontrol) yang menghasilkan nilai IC₅₀ sebesar 0,3259 ppm.

Kata Kunci : Diabetes Melitust tipe 2, *Vitex trifolia* L, enzim α -glukosidase.

ABSTRACT

VERA LESMANAWATI. *In Vitro* test of Inhibition Activity α -Glukosidase enzyme from methanol extract and fractions of *Vitex trifolia* Linn Leaves from Yogyakarta. Under Supervised by IRMA RATNA KARTIKA, FERA KURNIADEWI

Diabetes Mellitus is a metabolic disorder that has become a serious disease in Indonesia, especially type 2 DM. Prevention of Type 2 diabetes could be done by inhibiting α -glucosidase enzymes so that resulting delayed of glucose absorption and glucose blood levels were decrease. The aim of this research is to know the activity of inhibition of α -glucosidase enzyme from methanol extract, n-hexane fraction, n-hexane fraction: ethyl acetate, and ethyl acetate fraction of *Vitex trifolia* L leaves from Yogyakarta. The α -glucosidase enzyme inhibition test was performed in vitro using a p-nitrophenyl- α -glucopyranoside substrate and measured the absorbance of *p*-nitrophenol as a product of enzymatic reaction at 410 nm wavelength. The results showed that the fraction of ethyl acetate contains compound of flavonoid and saponin group. The IC₅₀ value of the resulting ethyl acetate fraction was 691.8 ppm and was categorized as inactive as antidiabetic when compared with glucobay (as control) which resulted in an IC₅₀ value of 0.3259 ppm.

Keyword : Diabetes Melitustipe 2, *Vitex trifolia* L, α -glukosidase enzyme.

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis sampaikan kehadiran Tuhan Yang Maha Esa yang senantiasa memberikan kesehatan, rahmat, petunjuk, dan pertolongan-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul "Uji Aktivitas Inhibisi Enzim α -Glukosidase dari Ekstrak Metanol dan Fraksi-Fraksi Daun *Vitex trifolia* Linn Asal Yogyakarta secara *In Vitro*." Skripsi ini disusun untuk melengkapi syarat-syarat guna memperoleh gelar Sarjana Sains. Dalam penulisan skripsi ini tidak lepas dari hambatan dan kesulitan, namun berkat bimbingan, bantuan, nasihat, serta saran dari berbagai pihak, segala hambatan tersebut dapat teratasi dengan baik.

Terima kasih penulis ucapkan kepada Ibu Irma Ratna Kartika, M.Sc.Tech. dan Ibu Dr. Fera Kurniadewi, M.Si. selaku dosen pembimbing I dan pembimbing II yang telah memberikan bimbingan, masukan, dan saran. Terima kasih pula kepada Ibu Irma Ratna Kartika, M.Sc.Tech. selaku Dosen Pembimbing Akademik yang selalu memberikan saran dan arahan terkait akademik. Di samping itu, penulis sampaikan terimakasih kepada Koordinator Program Studi Kimia yaitu Ibu Dr. Yusmaniar, M. Si., yang telah memberikan arahan serta saran dalam bidang akademik serta seluruh bapak, ibu dosen serta seluruh laboran di laboratorium Jurusan Kimia UNJ yang telah memberikan ilmu yang bermanfaat kepada penulis.

Ungkapan terima kasih disampaikan kepada Ayah, Ibu, Sahabat, serta Keluarga atas segala doa, dukungan, dan kasih sayangnya. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada teman-teman Kimia angkatan 2013 atas bantuan dan dukungannya. Semoga skripsi ini bermanfaat bagi penulis dan pembaca.

Jakarta, Juli 2017

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
ABSTRAK	i
ABSTRACT	ii
KATA PENGANTAR	iii
DAFTAR ISI.....	iv
DAFTAR GAMBAR.....	vi
DAFTAR TABEL	vii
DAFTAR LAMPIRAN	viii
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Perumusan Masalah	3
C. Tujuan Penelitian	3
D. Manfaat Penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
A. Tumbuhan <i>Vitex trifolia</i> Linn	4
B. Fitokimia Genus <i>Vitex</i>	6
C. Diabetes Melitus Tipe 2	8
D. Uji aktivitas penghambatan enzim α -glukosidase	9
E. Teknik Pemisahan	11
BAB III METODE PENELITIAN	13
A. Tempat dan Waktu Penelitian	13
B. Metode Penelitian	13
C. Alat dan Bahan	13
F. Prosedur Penelitian	14
1. Preparasi Sampel	14
2. Ekstraksi Daun Legundi (<i>Vitex trifolia</i> L)	14
3. Partisi Ekstrak Metanol Daun Legundi (<i>Vitex trifolia</i> L)	14
4. Uji Fitokimia	15
5. Uji Aktivitas α -Glukosidase secara In Vitro.....	19
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	22
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	31
DAFTAR PUSTAKA	32
LAMPIRAN	37

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Daun <i>Vitex trifolia</i>	5
Gambar 2. Struktur Kimia Hasil Isolasi	7
Gambar 3. Struktur Kimia Akarbosa	10
Gambar 4. Persamaan Reaksi <i>p</i> -nitrofenil- α -D-glukopiranosida	11
Gambar 5. Persamaan Reaksi Uji Alkaloid.....	15
Gambar 6. Persamaan Reaksi Uji Flavonoid	16
Gambar 7. Persamaan Reaksi Uji Fenolik	16
Gambar 8. Persamaan Reaksi Uji Tanin	17
Gambar 9. Persamaan Reaksi Uji Saponin	17
Gambar 10. Persamaan Reaksi Uji Steroid	18
Gambar 11. Persamaan Reaksi Uji Terpenoid	18
Gambar 12. Interaksi Senyawa Flavonoid dengan Enzim	23
Gambar 13. Perbandingan Warna <i>p</i> -nitrofenol Hasil Uji Inhibisi	24
Gambar 14. Grafik Hubungan Aktivitas Inhibisi Enzim α -Glukosidase	27
Gambar 15. Grafik Hubungan Aktivitas Inhibisi Enzim α -Glukosidase	27
Gambar 16. Grafik Hubungan Aktivitas Inhibisi Enzim α -Glukosidase	28

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Taksonomi <i>Vitex trifolia</i> L.....	5
Tabel 2. Prosedur uji aktivitas inhibisi α -glukosidase	20
Tabel 3. Hasil Uji Fitokimia Ekstrak dan Fraksi	22
Tabel 4. Hasil Data Absorbansi dan Aktivitas Inhibisi Enzim α -Glukosidase	25
Tabel 5. Hasil Data Absorbansi dan Aktivitas Inhibisi Enzim α -Glukosidase	25
Tabel 6. Kategori Nilai IC ₅₀ sebagai Zat Antidiabetes.	28
Tabel 7. Nilai IC ₅₀ Fraksi Etil Asetat dan Glukobay.	28

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Bagan Kerja Ekstraksi Daun Legundi (<i>Vitex trifolia</i> Linn).....	38
Lampiran 2. Bagan Kerja Ekstraksi Daun Legundi (Lanjutan)	39
Lampiran 3. Bagan Kerja Uji Alkaloid	40
Lampiran 4. Bagan Kerja Uji Fenolik dan Flavonoid	41
Lampiran 5. Bagan kerja Uji Saponin	42
Lampiran 6. Bagan kerja Uji Steroid dan Terpenoid	43
Lampiran 7. Bagan Uji Fitokimia Uji Tanin	44
Lampiran 8. Bagan Kerja Uji Aktivitas Penghambatan Enzim α -Glukosidase ..	45
Lampiran 9. Perhitungan Aktivitas Penghambatan	46
Lampiran 10. Perhitungan Nilai IC ₅₀	59
Lampiran 11. Hasil Uji Fitokimia	60
Lampiran 12. Sertifikat Uji Aktivitas Penghambatan Enzim α -Glukosidase	62
Lampiran 13. Sertifikat Uji Aktivitas Penghambatan Enzim α -Glukosidase	63

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Diabetes Melitus (DM) merupakan penyakit yang disebabkan oleh adanya gangguan metabolisme yang ditandai dengan meningkatnya kadar glukosa dalam darah (hiperglikemia) yang terjadi akibat insensitivitas sel terhadap insulin atau resistensi insulin. Penyakit ini dapat disebabkan dari faktor genetik serta faktor lingkungan dan mengakibatkan komplikasi penyakit kronis (Dipiro *et al.*, 2015). Internasional Diabetes Federation pada tahun 2013 menyatakan bahwa Indonesia menempati urutan ke-7 dunia dengan jumlah penderita 8,5 juta (Anonim, 2013). Terdapat dua jenis penyakit diabetes melitus yang paling banyak ditemukan pada masyarakat Indonesia, yaitu diabetes melitus tipe I atau *insulin dependent diabetes mellitus* (IDDM) dan diabetes melitus tipe II atau *noninsulin dependent diabetes mellitus* (NIDDM). Diabetes melitus tipe I terjadi akibat adanya kerusakan sel-sel β pankreas yang disebabkan oleh adanya kelainan autoimun, sedangkan Diabetes melitus tipe II ditandai oleh terjadinya resistensi insulin dan berkurangnya sekresi insulin sehingga akan terjadi hiperglikemia (Triplitt *et al.*, 2008). Oleh karena itu, penderita Diabetes melitus tipe II harus melakukan terapi secara rutin untuk mengontrol terjadinya kenaikan kadar glukosa darah dan mencegah adanya komplikasi (Tahrani & Barnet, 2010). Salah satu agen terapi antidiabetes tipe II yang banyak digunakan yaitu berupa inhibitor enzim α -glukosidase yang berperan dalam menghambat hidrolisis karbohidrat secara berlebihan yang terjadi dalam dinding usus halus (Shinde *et al.*, 2008).

Terapi antidiabetes dapat berupa obat antidiabetes oral. Obat yang biasa digunakan antara lain akarbosa dan miglitol yang menghambat enzim α -glukosidase dan α -amilase. Namun, penggunaan obat antidiabetes oral memiliki keterbatasan yaitu menimbulkan efek samping dan harganya cukup mahal. Inhibitor enzim α -glukosidase alami yang berasal dari bahan alam dapat dimanfaatkan menjadi pendekatan terapi untuk penderita diabetes melitus tipe II

karena memiliki efek samping yang sedikit dan harganya lebih terjangkau dibandingkan dengan obat antihiperglikemik sintesis (Sudha *et al.*, 2011). Sehingga perlu dilakukan penelitian tentang potensi tanaman obat Indonesia yang memiliki aktivitas sebagai antihiperglikemik. Berdasarkan penelitian Kumar *et al* (2011) menyatakan bahwa senyawa – senyawa yang terkandung dalam tumbuhan yang dapat menghambat enzim α -glukosidase yang termasuk kedalam senyawa metabolit sekunder adalah flavonoid, alkaloid, fenolik, dan terpenoid. Senyawa flavonoid diduga dapat berpotensi dalam menghambat enzim α -glukosidase (Li *et al.*, 2009). Hal ini telah dibuktikan bahwa senyawa luteolin yang merupakan senyawa turunan dari flavonoid dapat menghambat enzim α -glukosidase (Pereira *et al.*, 2011). Salah satu tanaman yang mengandung flavonoid ialah genus *Vitex* yang banyak tersebar di Indonesia.

Vitex trifolia merupakan salah satu spesies *Vitex* yang terdapat di Indonesia yang dikenal dengan nama lokal tanaman legundi. Tumbuhan ini dapat ditemukan di beberapa daerah yakni di Aceh, Lombok, Sumbawa, dan Yogyakarta. *Vitex trifolia* merupakan tanaman tropis dengan tinggi maksimum mencapai 6 meter (Orwa *et al.*, 2009). Tanaman ini di Indonesia biasa digunakan sebagai obat asma dan alergi (Hanudin dkk, 2015). Penelitian di India menyebutkan bahwa bagian akar tanaman dari *Vitex trifolia* biasa digunakan sebagai obat antidiabetes secara tradisional di India (Tiwari *et al.*, 2013). Berdasarkan penelitian Pusparini (2016) menyebutkan adanya kandungan metabolit sekunder dari daun *Vitex trifolia* Linn asal Yogyakarta yaitu golongan fenolik dan terpenoid dari ekstrak metanol. Penelitian lain menyebutkan adanya metabolit sekunder dari daun *Vitex trifolia* asal India yaitu adanya flavonoid, terpenoid, dan tanin (Sao *et al.*, 2016).

Adanya senyawa bioaktif seperti flavonoid dan fenolik yang terkandung dalam daun *Vitex trifolia* yang diduga memiliki potensi sebagai agen penghambat enzim α -glukosidase, dimungkinkan tanaman tersebut memiliki aktivitas sebagai penghambat enzim α -glukosidase. Selain itu, penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa ekstrak metanol tanaman *Vitex negundo* menghasilkan aktivitas hipoglikemik yang diinduksikan pada mencit yang terkena diabetes (Prasanna *et al.*, 2012). Penelitian terhadap tanaman *Vitex trifolia* perlu dilakukan melalui

pendekatan genus dengan tanaman *Vitex negundo* yang memiliki potensi sebagai antidiabetes.

Penelitian ini akan dilakukan untuk menguji aktivitas penghambatan dari ekstrak metanol, fraksi n-heksana, fraksi campuran n-heksana-etil asetat, dan fraksi etil asetat dari daun legundi (*Vitex trifolia* Linn) asal Yogyakarta terhadap aktivitas enzim α -glukosidase. Prinsip uji ini yaitu penentuan aktivitas penghambatan terhadap enzim α -glukosidase berdasarkan kemampuan suatu sampel (baik ekstrak maupun fraksi) dalam menghambat reaksi katalisis hidrolisis *p*-nitrofenil α -D-glukopiranosa oleh enzim α -glukosidase menghasilkan *p*-nitrofenil yang berwarna kuning. Sampel dengan kemampuan penghambatan yang tinggi akan menghasilkan warna larutan *p*-nitrofenol yang semakin memudar.

B. Perumusan Masalah

Perumusan masalah pada penelitian ini adalah sebagai berikut: “Apakah ekstrak metanol dan fraksi- fraksi dari daun *Vitex trifolia* Linn memiliki aktivitas dalam menghambat enzim α -glukosidase dan bagaimana aktivitas penghambatan enzim α -glukosidase pada ekstrak metanol, fraksi n-heksana, fraksi n-heksana-etil asetat, dan fraksi etil asetat dari daun *Vitex trifolia* Linn”.

C. Tujuan Penelitian

Berdasarkan perumusan masalah yang telah diuraikan di atas, maka penelitian ini bertujuan untuk memperoleh data uji aktivitas inhibisi enzim α -glukosidase dan mengetahui profil fitokimia dari ekstrak metanol dan fraksi n-heksana, fraksi campuran etil asetat dan n-heksana, dan fraksi etil asetat, daun *Vitex trifolia* Linn asal Yogyakarta.

D. Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan memberikan informasi baru mengenai potensi ekstrak metanol dan fraksi zat terlarut dari pelarut n-heksana, campuran etil asetat dan n-heksana, dan etil asetat dari daun *Vitex trifolia* Linn sebagai antihiperglikemia.

BAB II

KAJIAN PUSTAKA

A. Tumbuhan *Vitex trifolia* Linn.

Genus *Vitex* terdiri dari 270 spesies yang banyak tersebar di seluruh dunia. Genus *Vitex* tersebut ada yang terdiri dari jenis pohon dan semak yang tumbuh di daerah tropis, sub-tropis, dan terdapat beberapa spesies dapat ditemukan di daerah yang beriklim sedang (Meena *et al.*, 2011). Banyak spesies dari tanaman genus ini telah digunakan sebagai obat tradisional. *Vitex trifolia* adalah salah satu spesies yang sangat banyak digunakan oleh penduduk Pasifik untuk menyembuhkan berbagai penyakit (Matsui *et al.*, 2009). *Vitex* yang berada di Indonesia adalah *Vitex trifolia* yang dikenal dengan nama lokal pohon galumi atau legundi (Orwa *et al.*, 2009). Tanaman ini merupakan tanaman kecil yang ditemukan di pegunungan Himalaya, sebagian besar wilayah India, Ghat barat, dan Andaman. *Vitex trifolia* juga ditemukan di beberapa negara seperti Sri Lanka, Cina, Filipina, Indonesia, Australia Utara, New Caledonia, dan Perancis Polinesia serta dilaporkan bahwa ditemukan juga di Afrika Timur dan Hawaii (Kok, 2007)

Vitex trifolia dapat tumbuh hingga tinggi 6 meter dengan cabang berbentuk segiempat. Letak daunnya saling berseberangan, tangkai daunnya panjang, dan 3-5 daun yang bentuknya hampir menyerupai elips semuanya dihubungkan pada satu cabang ranting dengan panjang antara 3 sampai 12 cm. Ujung bunganya berwarna ungu yang terdiri dari 5 cuping pada kelopak bunga; cuping yang tengah lebih besar daripada yang lain. Empat benang sarinya muncul hingga keluar mahkota bunganya. Buahnya memiliki panjang 5-6 mm yang berwarna hitam atau hitam kebiruan ketika matang (Kannathasan *et al.*, 2011). Daun *Vitex trifolia* memiliki nama daerah yaitu: di Sumatera: gendarasi (Palembang), Jawa: lagondi (sunda), legundi (jawa), langghundi (Madura); Nusa Tenggara: galumi (Sumbawa), sangari (Bima); Sulawesi: dunuko (Buol), lanra (Makasar), lawarani (Bugis); Maluku: ai tuban (Ambon); Melayu: lagundi (Heyne, 1987)



Gambar 1. Daun *Vitex trifolia* (Laxmikant, 2012)

Tabel 1. Taksonomi *Vitex trifolia* L. (ITIS, 2014)

Tingkatan	Nama Spesifik dan Nama Umum
Kingdom	Plantae- Tumbuhan
Divisi	Tracheobionta - Tumbuhan berpembuluh
Class	Magnoliopsida- Dikotil
Order	Lamiales
Family	Verbenaceae – Famili Verbena
Genus	<i>Vitex</i> - <i>chastetree</i>
Species	<i>Vitex trifolia</i> L. – <i>simpleleaf chastetree</i>

Daun tanaman *Vitex trifolia* sudah digunakan secara medis untuk rematik, inflamasi, analgesik, antikonvulsan, dan obat penenang. Selain itu, memiliki aktivitas insektisida, sitotoksik, dan fungisidal. Daunnya menunjukkan aktivitas penghambatan pertumbuhan terhadap *Mycobacterium tuberculosis*. Akarnya digunakan untuk antimetik, ekspektoran dan tonik. Buah dari tanaman ini juga sudah digunakan untuk *cephalic* dan peluruh haid (Kulkarni, 2011). Berdasarkan hasil penelitian skrining fitokimia yang telah dilakukan, ekstrak metanol daun dan batang *Vitex trifolia* L asal India ditemukan mengandung senyawa metabolit sekunder flavonoid, fenol, saponin, glikosida, tannin, terpenoid, dan xantoprotein. Selain itu, pada ekstrak n-heksana dari daun dan batang *Vitex trifolia* juga ditemukan senyawa metabolit sekunder diantaranya fenolik, terpenoid dan xantoprotein (Murugan dan Mohan, 2012).

B. Fitokimia Genus *Vitex*

Tanaman *Vitex trifolia* Linn banyak tumbuh di daerah asia pasifik seperti India, bagian tanaman seperti daun dan bunga berpotensi sebagai terapi dalam sistem pengobatan di daerah India (Bhattacharjee and De, 2005). Ekstrak metanol dari tanaman ini dilaporkan memiliki aktivitas antioksidan.

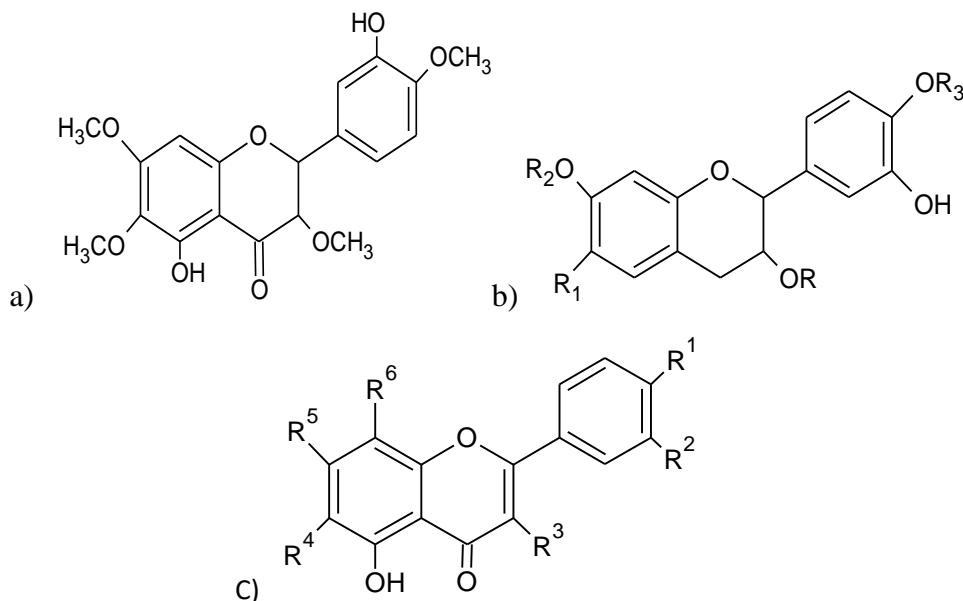
Li *et al.* (2005) berhasil mengisolasi enam senyawa flavonoid dari tumbuhan *V. trifolia* yaitu persikogenin, artemetin, luteolin, penduletin, viteksikarpin dan krisosplenol-D, yang selanjutnya di uji terhadap proliferasi sel kanker tsFT210 pada tikus. Keenam senyawa flavonoid tersebut mampu menghambat proliferasi sel kanker, dengan mekanisme penghambatan siklus sel dan menginduksi apoptosis. Sementara itu, Wang *et al.* (2005) menguji salah satu senyawa aktif *V. Trifolia* yaitu viteksikarpin (Gambar 2) terhadap berbagai sel kanker manusia yaitu A2780, HCT-15, HT-1080 dan K562. Viteksikarpin paling efektif menghambat proliferasi sel kanker K562, dan diduga mempunyai mekanisme aksi menginduksi apoptosis pada sel kanker tersebut melalui jalur apoptosis yang diatur oleh mitokondria. Penemuan tersebut diperkuat oleh Li *et al.* (2005), enam flavonoid yang diisolasi dari *V. trifolia* yaitu persikogenin, artemetin, luteolin, penduletin, viteksikarpin dan krisosplenol-D.

Flavonoid umumnya terdapat pada tumbuhan sebagai glikosida. Gugusan gula bersenyawa pada satu atau lebih grup hidroksil fenolik. Flavonoid terdapat pada seluruh bagian tanaman, termasuk pada buah, daun, dan akar. Manfaat flavonoid bagi manusia antara lain dalam dosis kecil flavon bekerja sebagai stimulan pada jantung, hesperidin mempengaruhi pembuluh darah kapiler, dan flavon terhidroksilasi bekerja sebagai diuretik dan antioksidan pada lemak (Sirait, 2007).

Flavonoid diduga dapat berperan sebagai agen antidiabetes. Flavonoid alami banyak memainkan peran penting dalam pencegahan diabetes dan komplikasinya (Jack, 2012). Flavonoid merupakan senyawa polar karena mempunyai gugus hidroksil atau gula, sehingga dapat larut dalam pelarut polar seperti etanol, metanol, butanol, aseton, dimetilsulfoksida, dan air. Sejumlah penelitian telah

dilakukan untuk menunjukkan adanya efek hipoglikemik dari flavonoid dengan menggunakan model eksperimen yang berbeda, tanaman yang mengandung flavonoid telah terbukti memberi efek yang baik bagi penyakit diabetes melitus, baik melalui kemampuan mengurangi penyerapan glukosa maupun dengan cara meningkatkan toleransi glukosa (Brahmachari, 2011).

Mekanisme lain dari flavonoid yang menunjukkan efek hipoglikemik yaitu mengurangi penyerapan glukosa dan mengatur aktivitas ekspresi enzim yang terlibat dalam metabolisme karbohidrat (Brahmachari, 2011). Ada beberapa mekanisme kerja obat hipoglikemik oral, yaitu meningkatkan sekresi insulin (golongan sulfonilurea), meningkatkan kepekaan reseptor insulin sehingga absorpsi glukosa di jaringan perifer meningkat, serta menghambat penguraian polisakarida menjadi monosakarida. Ho dan Bray (1999) mengungkapkan bahwa mekanisme penghambatan dari flavonoid terhadap enzim α -glukosidase adalah melalui ikatan hidrosilasi dan substitusi pada cincin B. Prinsip penghambatan tersebut melalui penundaan hidrolisis karbohidrat dan absorpsi glukosa dan menghambat katalisis sukrosa menjadi glukosa.



Gambar 2. Struktur kimia a). Viteksikarpin (Ikawati, 2001), b). 3,4-dimethoxy quercetin 7-O-glukopuranosida (Mohamed *et al.*, 2012) dan c) Luteolin -7-O- β -glukoronopiranosida (El-Kousy *et al.*, 2013)

B. Diabetes Melitus Tipe 2 (*Non-Insulin-Dependent Diabetes Melitus*)

Diabetes melitus adalah gangguan metabolismik yang ditandai dengan peningkatan kadar glukosa dalam darah (hiperglikemia). Hal ini disebabkan oleh adanya gangguan metabolisme karbohidrat, lemak, dan protein yang terjadi karena adanya kelainan sekresi insulin (sensitivitas) yang mengakibatkan komplikasi kronis termasuk mikrovaskuler dan makrovaskular (Hasan *et al.*, 2013). Berdasarkan data International Diabetes Federation (IDF) pada tahun 2013 menunjukkan bahwa lebih dari 382 juta orang di dunia menderita diabetes melitus. Indonesia merupakan salah satu negara dengan penderita diabetes yang berumur 20-79 tahun terbanyak dengan menempati posisi ke-7 dunia dengan jumlah penderita sebanyak 8,5 juta jiwa (IDF, 2013).

Berbeda dengan diabetes mellitus Tipe 1, pada penderita diabetes Tipe 2 ini umumnya dapat dideteksi jumlah insulin yang cukup yang berada dalam darah, disamping kadar glukosa yang meningkat. Diabetes mellitus Tipe 2 bukan disebabkan oleh resistensi insulin, dimana kurangnya sekresi insulin, hal ini dikarenakan sel-sel sasaran insulin yang tidak mampu merespon insulin secara normal. Diabetes Tipe 2 merupakan salah satu tipe diabetes yang lebih banyak penderitanya dibandingkan dengan Diabetes Tipe 1. Terapi farmakologi dengan obat modern pada penderita diabetes melitus terdiri atas obat antidiabetes oral, injeksi insulin, dn lain-lain. Obat – obat antidiabetes oral terutama ditujukan untuk membantu penanganan terhadap pasien diabetes melitus tipe 2. Pemilihan dan pemakaian obat antidiabetes oral yang digunakan harus memperhatikan tingkat keparahan diabetes serta kondisi pasien secara umum. Obat – obat antidiabetes oral diataranya yaitu :

1. Golongan sulfonilurea

Mekanisme dari obat golongan sulfonilurea adalah merangsang sekresi insulin dari sel – sel β langerhans didalam pankreas.

2. Golongan Biguanida

Mekanisme kerja obat golongan biguanida adalah menurunkan produksi glukosa dalam kelenjar hati, serta meningkatkan sensitivitas jaringan terhadap insulin.

3. Golongan Tiazolidindion

Mekanisme kerja dari obat golongan Tiazolidindion adalah berfungsi memperbaiki sensitivitas insulin dengan mengaktifkan gen-gen tertentu yang terlibat dalam sintesa lemak dan metabolisme karbohidrat. contoh : rosiglitazone

4. Golongan penghambat enzim α -glukosidase

Mekanisme kerja obat golongan penghambat enzim α -glukosidase adalah dengan menghambat kerja enzim α -glukosidase dalam menghidrolisis karbohidrat kompleks menjadi glukosa pada dinding usus halus sehingga mencegah peningkatan glukosa darah (Departemen farmakologi dan Terapi FKUI, 2007).

Terapi ini bertujuan untuk meminimalkan terjadinya hiperglikemik, mengurangi kemungkinan terjadinya komplikasi mikrovaskular dan makrovaskular dalam jangka panjang, dan menjaga kualitas hidup penderita DM (Chisholm-Burns *et al.*, 2008).

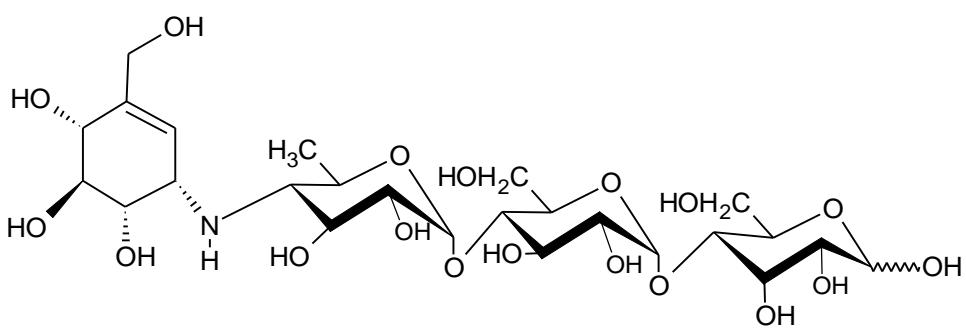
C. Uji aktivitas penghambatan enzim α -glukosidase

Enzim α -glukosidase merupakan enzim yang berperan pada proses katabolisme karbohidrat menjadi glukosa. Karbohidrat akan dicerna oleh enzim di dalam mulut dan usus menjadi monomernya yaitu glukosa yang kemudian akan diserap kedalam tubuh sehingga kadar glukosa dalam darah akan meningkatkan. Proses katabolisme karbohidrat tersebut menyebabkan pankreas mengeluarkan enzim α -glukosidase ke dalam usus yang akan mencerna karbohidrat menjadi oligosakarida yang kemudian akan diubah lagi menjadi glukosa oleh enzim α -glukosidase yang dikeluarkan oleh sel – sel usus halus yang selanjutnya diserap kedalam tubuh. Maka dengan menghambat kerja enzim α -glukosidase tersebut, kadar glukosa dalam darah dapat dikembalikan dalam batas normal (Bosenberg, 2008).

Penghambat enzim α -glukosidase merupakan salah satu golongan obat antidiabetes oral yang bekerja dengan menghambat katalisis karbohidrat kompleks sehingga dapat mengurangi penyerapan glukosa. Agen penghambat α -glukosidase dapat digunakan dengan dikombinasikan dengan terapi pengobatan diabetes yang

lain (Linn, *et al.*, 2009) hal tersebut dikarenakan agen penghambat enzim α -glukosidase tidak selektif obat antidiabetes oral golongan lain sehingga harus dikombinasikan dengan obat oral golongan lainnya agar keefektivannya meningkat.

Salah satu obat yang termasuk golongan penghambat α -glukosidase adalah akarbosa (Gambar 8). Akarbosa merupakan obat oral golongan penghambat enzim α -glukosidase yang biasanya digunakan untuk terapi penyakit diabetes melitus tipe 2 apabila terapi diet yang dilakukan tidak cukup untuk menurunkan kadar glukosa dalam darah. Akarbosa merupakan salah satu obat yang termasuk dalam penghambat enzim α -glukosidase seecara kompetitif dan mampu menghambat enzim lain, yaitu enzim maltase, isomaltase, sukrase, dan glukoamilase sehingga dapat menghambat katalisis sukrosa serta karbohidrat kompleks di usus halus. Efek yang akan ditimbulkan dengan adanya penghambatan ini dapat mengurangi peningkatan kadar glukosa darah postprandial (DiPiro *et al.*, 2005). Akarbosa merupakan suatu oligosakarida yang dihasilkan melalui proses fermentasi terhadap mikroorganisme yaitu *Actinoplanes utahensis*. Akarbosa berupa serbuk putih yang larut dalam air, yang memiliki rumus empiris $C_{25}H_{43}NO_{18}$. Akarbosa biasanya di kombinasikan dengan agen hipoglikemik oral lainnya dalam menurunkan kadar glukosa darah pada penderita diabetes (Dewick, 2009).

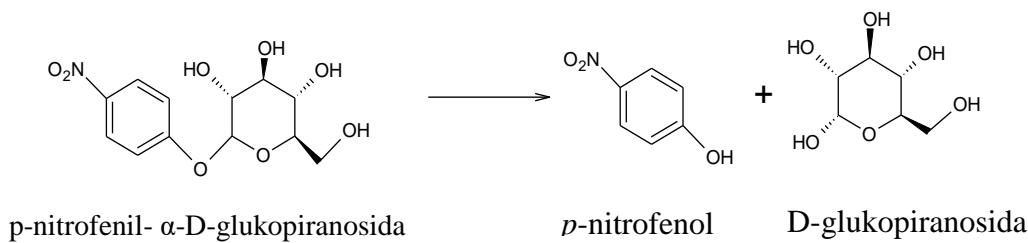


Gambar 3. Struktur kimia akarbosa (Katzung, 2002)

Pengujian aktivas penghambatan enzim α -glukosidase dapat dilakukan secara *in vivo* dan *in vitro*. Metode spektrofotometri banyak digunakan dalam pengujian *in vitro* dengan menggunakan substrat seperti *p*-nitrofenil- α -D-glukopiranosida

(pNPG). Enzim α -glukosidase akan menghidrolisis *p*-nitrofenil- α -D-glukopiranosa menjadi *p*-nitrofenol yang (berwarna kuning) dan glukosa. Aktifitas enzim diukur berdasarkan hasil absorbansi warna kuning *p*-nitrofenol (Sugiwati *et al.*, 2009).

Pengukuran aktivitas enzim didasarkan pada hasil pengukuran absorbansi *p*-nitrofenol yang berwarna kuning dari substrat *p*-nitrofenil- α -D-glukopiranosa yang dihidrolisis oleh enzim α -glukosidase serta hasil samping berupa glukosa. Intensitas warna kuning yang terbentuk dari hasil hidrolisis tersebut kemudian ditentukan absorbansinya dengan menggunakan instrumen spektrofotometer *double beam* pada panjang gelombang 410 nm. Jika ekstrak kental dan fraksi dari tanaman yang diuji memiliki kemampuan untuk menghambat aktivitas enzim α -glukosidase, maka warna kuning dari *p*-nitrofenol hasil hidrolisis akan memiliki intensitas yang semakin berkurang.



Gambar 4. Persamaan Reaksi *p*-nitrofenil- α -D-glukopiranosa dan Enzim α -glukosidase (Sugiwati *et al.*, 2009).

D. Teknik 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.

Ekstraksi adalah penarikan kandungan kimia yang terdapat dalam suatu sampel dengan menggunakan pelarut cair untuk memisahkan senyawa yang larut dengan senyawa yang tidak larut. Ekstraksi dengan menggunakan pelarut menjadi 2 cara, yaitu cara dingin dan cara panas. Cara dingin terdiri dari proses maserasi dan perkolasasi, sedangkan cara panas antara lain refluks, sokhlet. Metode ekstraksi dapat digunakan bergantung pada sifat bahan yang akan digunakan serta jenis senyawa yang akan diisolasi (Sarker *et al.*, 2006).

1. Maserasi

Maserasi merupakan metode sederhana yang sering digunakan baik dalam skala kecil maupun skala industri. Metode ini dilakukan dengan memasukkan sampel tanaman yang akan diuji dan pelarut yang sesuai kedalam suatu wadah tertutup rapat pada kondisi suhu kamar. Kemudian dilakukan penyaringan, dan remaserasi, yakni pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserat yang pertama, kemudian dilakukan seterusnya. Kelemahan digunakannya metode ini yakni memakan banyak waktu, memerlukan jumlah pelarut yang cukup banyak, dan kemungkinan adanya beberapa senyawa yang sulit untuk diekstraksi pada kondisi suhu ruang, namun salah satu kelebihan digunakannya metode maserasi dapat menghindari rusaknya senyawa-senyawa yang bersifat tidak tahan suhu tinggi pada sampel yang diuji. Maserasi dapat dilakukan dengan berbagai pelarut organik berdasarkan tingkat kepolarannya, misalnya, etanol, metanol, etil asetat, kloroform, n-heksana, dan air.

2. Fraksinasi

Untuk mengisolasi suatu senyawa tunggal tidak dapat digunakan hanya melalui teknik pemisahan tunggal seperti maserasi, karena ekstrak awal merupakan campuran dari berbagai senyawa yang terkandung dalam sampel. Sehingga, ekstrak tersebut perlu dipisahkan kembali ke dalam fraksi yang memiliki kepolaran dan ukuran molekul yang sesuai. Fraksinasi dapat dilakukan dengan metode ekstraksi cair-cair atau dengan menggunakan kromatografi cair vakum (KCV), kromatografi kolom (KK), ekstraksi fasa padat (Sarker *et al.*, 2006).

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Tempat dan waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Penelitian Kimia FMIPA UNJ Jakarta Timur dan Laboratorium Pusat Studi Biofarmaka Tropika Bogor. Waktu penelitian dilaksanakan dari Desember 2016-April 2017.

B. Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen yaitu meliputi maserasi dan fraksinasi dengan menggunakan pelarut metanol, n-heksana, campuran n-heksana : etil asetat dan etil asetat terhadap sampel serbuk daun Legundi (*Vitex trifolia* Linn). Merasasi dilakukan menggunakan pelarut metanol untuk memperoleh ekstrak metanol, selanjutnya ekstrak difraksinasi dengan menggunakan pelarut n-heksana, pelarut campuran n-heksana-etil asetat, dan pelarut etil asetat. Ekstrak dan fraksi yang dihasilkan diuapkan dengan menggunakan *rotary vacuum evaporator*. Masing - masing sampel ekstrak dan fraksi kental selanjutnya dilakukan pengujian aktivitas antidiabetes dengan metode penghambatan enzim α -glukosidase yang dilakukan dengan menggunakan substrat *p*-nitrofenil- α -D-glukopiranosida (*p*-NPG) dan enzim α -glukosidase.

C. Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah peralatan ekstraksi dan fraksinasi, blender, neraca analitik (KERN ABS 220-4), rotary vacuum evaporator (EYELA USA N-1001-S-WD, Cat Num 216959), *Magnetic stirrer* (IKA C-MAG HS 7), *laminar air flow*, *microplate Reader* (Epoch Microplate Spectrophotometer) dan mikro pipet. Bahan-bahan yang digunakan adalah daun Legundi (*Vitex trifolia* Linn) kering sebanyak 2,79 kg, pelarut metanol (MeOH), n-heksana, dan etil asetat yang sudah didestilasi. Uji penghambatan enzim

menggunakan enzim α -glukosidase, *p*-nitrofenil- α -D-glukopiranosida (p-NPG) sebagai substrat, larutan buffer fosfat pH 7, serum bovine albumin, akarbosa, dimetilsulfoksida (DMSO), HCl 2 M, dan Na₂CO₃. Bahan-bahan yang dipakai untuk uji fitokimia adalah kloroform, amoniak, larutan H₂SO₄ 1 M, pereaksi Dragendorf (larutan Bi(NO)₂ ditambah larutan asam asetat glasial dan larutan KI), metanol, asam asetat anhidrat, HCl pekat, FeCl₃ 1 %, isoamil alkohol, serbuk Mg.

D. Prosedur Penelitian

1. Preparasi Sampel

Daun *Vitex trifolia* Linn kering yang diperoleh dari daerah Yogyakarta, kemudian dihaluskan dengan menggunakan blender sampai berbentuk serbuk dengan massa total 2,79 kg dan disimpan dalam wadah bersih dan tertutup.

2. Ekstraksi Daun Legundi (*Vitex trifolia* Linn)

Sebanyak 2,79 kg serbuk daun dimaserasi dengan menggunakan pelarut metanol teknis yang sudah didistilasi. Maserasi dilakukan sebanyak tiga kali pengulangan dengan mengganti pelarut metanol setelah 24 jam. Hasil ekstrak metanol yang diperoleh selama 3 x 24 jam diuapkan dengan menggunakan *rotary vacuum evaporator* pada suhu 30-35 °C sehingga diperoleh ekstrak pekat daun sebanyak 1 liter. Sebanyak 100 mL ekstrak metanol kental dikeringkan untuk diuji aktivitas penghambatan enzim α -glukosidase.

3. Partisi Ekstrak Metanol Daun Legundi (*Vitex trifolia* Linn)

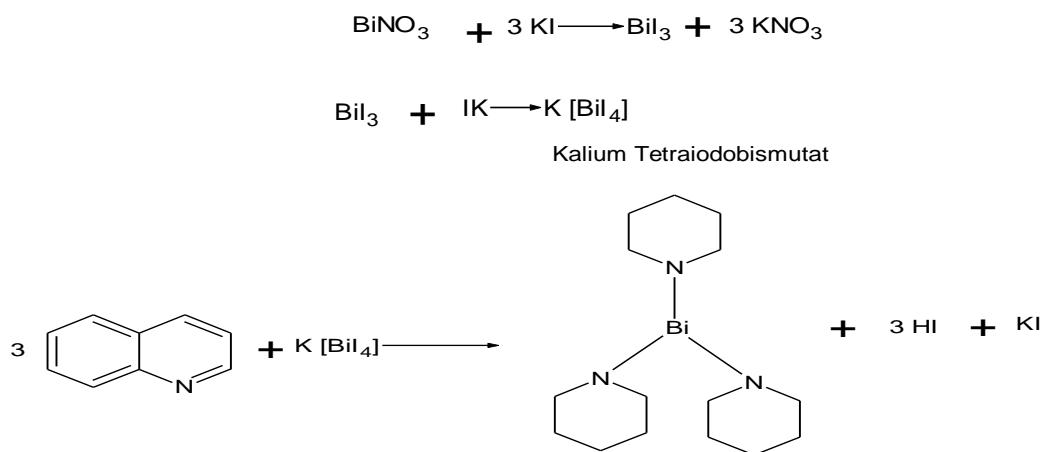
Ekstrak metanol daun legundi (*Vitex trifolia* Linn) yang diperoleh selanjutnya dipartisi dengan metode ekstraksi cair-cair menggunakan pelarut yang memiliki tingkat kepolaran yang berbeda dan tidak saling bercampur satu sama lain. Fraksinasi menggunakan pelarut non polar yaitu n-heksana, pelarut semi polar yaitu n-heksana-etil asetat 1:1, dan pelarut polar etil asetat. Sebanyak 900 mL ekstrak metanol kental daun legundi (*Vitex trifolia* Linn) dibagi kedalam dua wadah dengan masing-masing wadah berisi 450 mL. Kedua wadah yang berisi ekstrak pekat tersebut diekstraksi cair- cair dengan pelarut n-Heksana sebanyak 300 mL dan dilakukan tiga kali pengulangan sehingga dihasilkan sebanyak 1800 mL fraksi yang terlarut dalam n-heksana. Lapisan metanol difraksinasi kembali

dengan menggunakan pelarut yang berbeda yaitu n-heksana : etil asetat sebanyak 300 mL dengan pengulangan sebanyak tiga kali. Lapisan metanol difraksinasi kembali dengan pelarut etil asetat sebanyak 300 mL, pada lapisan metanol dan etil asetat ditambahkan pelarut air agar menghasilkan larutan dua lapisan. Selanjutnya fraksi dari n-heksana, n-heksana : etil asetat 1:1, dan fraksi etil asetat dengan masing – masing volume 1800 mL yang terkumpul dipekatkan dengan *rotary vacuum evaporator*, sehingga didapatkan fraksi kering dari masing-masing pelarut.

4. Uji Fitokimia

a. Uji Alkaloid

Uji alkaloid dilakukan dengan menambahkan kloroform : amonia (9:1) kedalam 2 mL ekstrak metanol daun *Vitex trifolia*. Campuran ditambahkan 1 mL H₂SO₄ 1 M kemudian dikocok hingga terbentuk dua lapisan yaitu lapisan asam pada bagian atas dan lapisan kloroform pada bagian bawah. Lapisan atas (asam) dipipet dan diteteskan pada plat tetes. Ditambahkan dua tetes pereaksi Dragendorf (larutan Bi(NO)₃ ditambah larutan asam asetat glasial dan larutan KI). Hasil positif akan menunjukkan endapan jingga sampai merah. Berikut adalah persamaan reaksi yang terjadi:

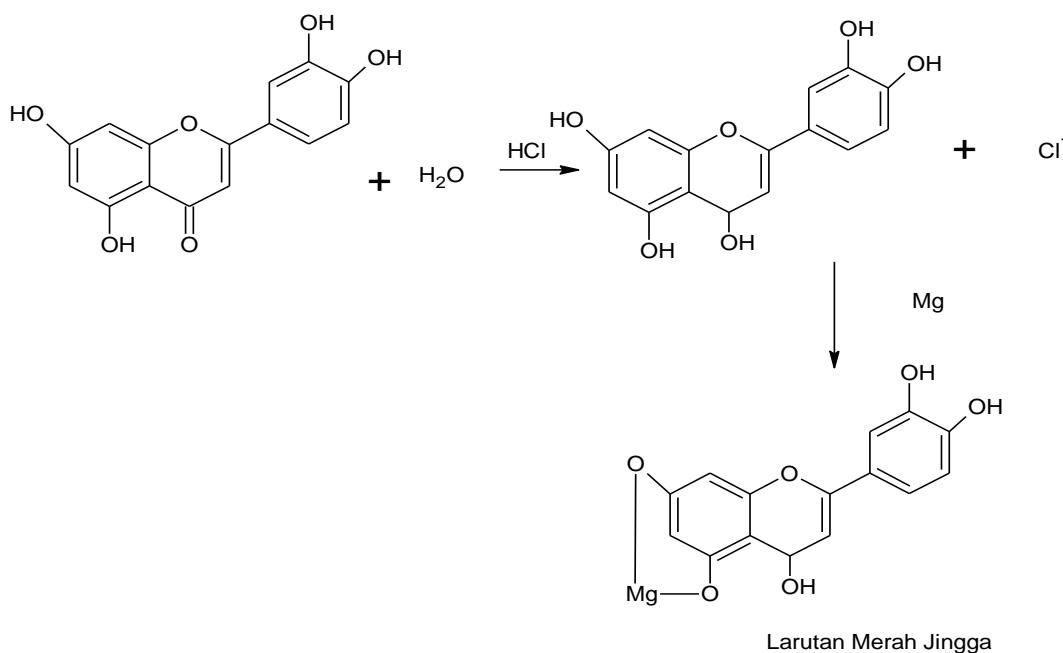


Gambar 5. Persamaan Reaksi Uji Alkaloid (Lutfillah, 2008).

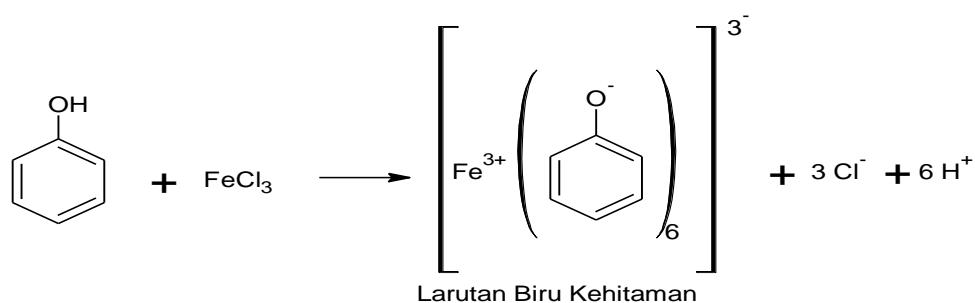
b. Uji Flavonoid dan Fenolik

Uji flavonoid dilakukan dengan mengambil Sebanyak 2 mL ekstrak dan fraksi dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambah dengan sedikit serbuk

magnesium (Mg), setelah itu ditambahkan 1 mL HCl pekat dan 1 mL larutan amil alkohol. Hasil positif flavonoid ditandai dengan warna kuning, merah, atau jingga pada lapisan amil alkohol (atas). Uji fenolik dilakukan dengan menggunakan pereaksi FeCl_3 1%. Sebanyak 2 mL ekstrak atau fraksi masing-masing dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambah 0,5 mL FeCl_3 1%. Adanya senyawa fenolik ditunjukkan dengan terbentuknya warna biru keunguan. Berikut adalah reaksi yang terjadi :



Gambar 6. Persamaan Reaksi Uji Flavonoid (Marliana, 2005).

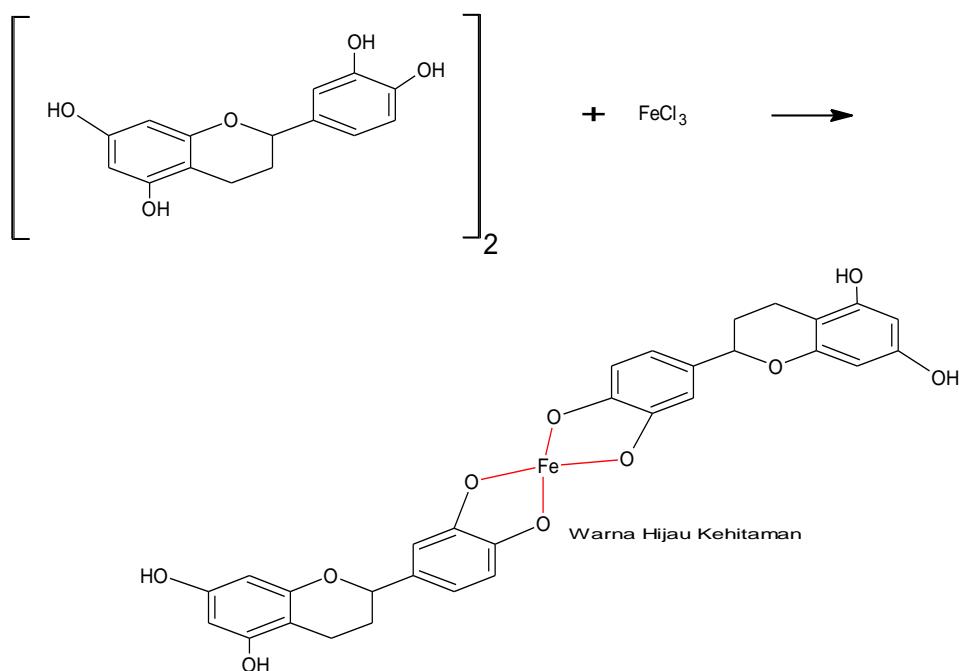


Gambar 7. Persamaan Reaksi Uji Flavonoid (Arum, 2012).

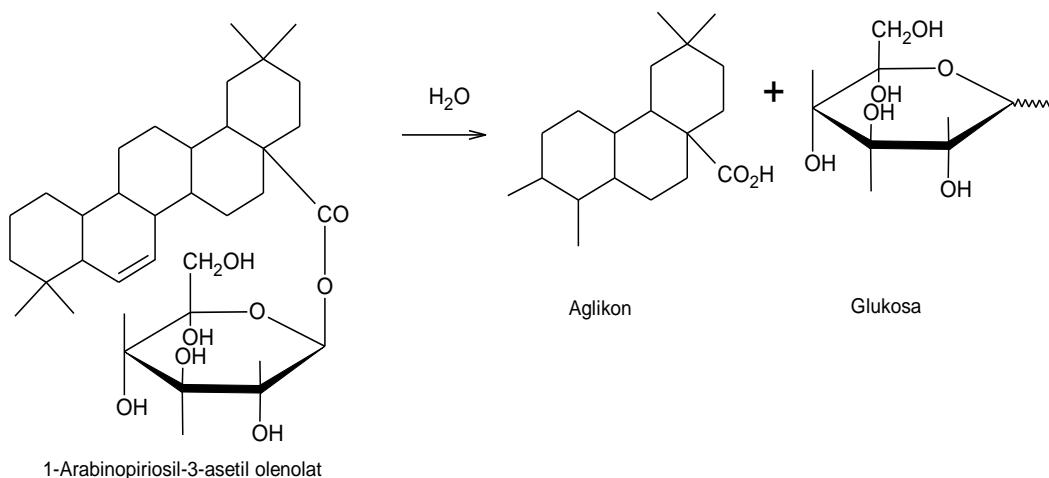
c. Uji Tanin dan Saponin

Uji Tanin dilakukan dengan menggunakan pereaksi FeCl_3 1%. Sebanyak 2 mL ekstrak atau fraksi masing-masing dimasukkan kedalam tabung reaksi dan ditambah 0,5 mL FeCl_3 1%. Adanya senyawa Tanin ditunjukkan dengan

terbentuknya warna biru keunguan. Untuk uji saponin dilakukan dengan melarutkan ekstrak dan fraksi ke dalam air panas yang dididihkan selama 5 menit. Setelah itu, dimasukan sebanyak 10 mL kedalam tabung reaksi dalam keadaan panas. Larutan dikocok kuat secara vertikal selama 10 detik. Apabila terbentuk busa stabil setinggi 1-10 cm selama 10 menit, ditambahkan 1 tetes HCl pekat. Hasil positif saponin ditandai dengan tetap terdapat busa setelah penambahan HCl. Berikut adalah persamaan reaksi yang terjadi :



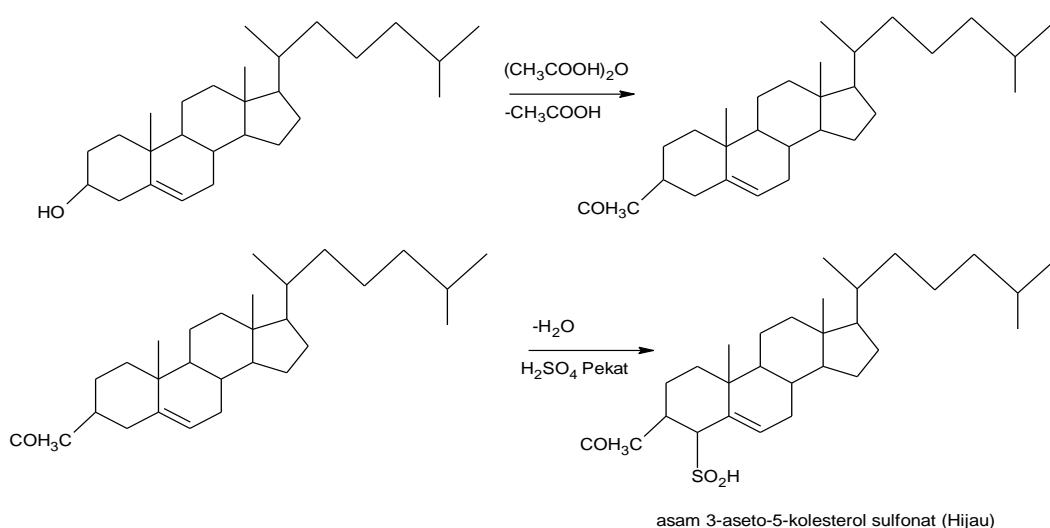
Gambar 8. Persamaan Reaksi Uji Tanin (Heyne, 1987).



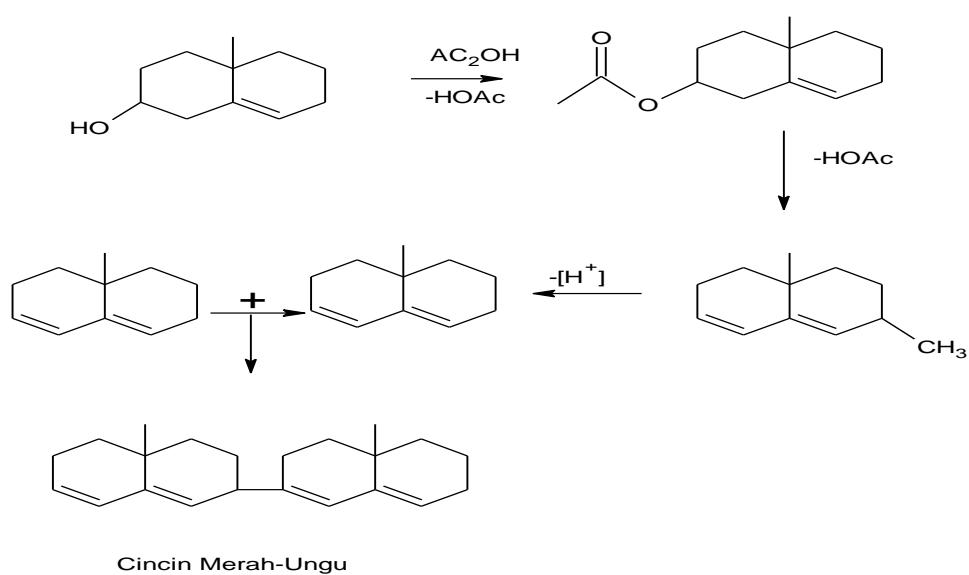
Gambar 9. Persamaan Reaksi Uji Saponin (Marliana, 2005).

d. Uji Steroid dan Terpenoid

Uji steroid dan terpenoid dilakukan dengan meneteskan ekstrak atau fraksi pada plat tetes dan kemudian dikeringkan dengan angin-angin. 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. Adanya senyawa steroid jika terbentuk warna hijau sampai biru. Berikut adalah persamaan reaksi yang terjadi:



Gambar 10. Persamaan Reaksi Uji Steroid (Siadi, 2012).



Gambar 11. Persamaan Reaksi Uji Terpenoid (Siadi, 2012)

5. Uji Aktivitas α -Glukosidase secara *In Vitro*

Pengujian aktivitas enzim α -glukosidase dilakukan dengan menggunakan substrat *p*-nitrofenil- α -D-glukopiranosa (*p*-NPG) dan enzim α -glukosidase. Larutan enzim dibuat dengan melarutkan 1,0 mg enzim α -glukosidase dalam larutan bufer fosfat (pH 7) yang mengandung 200 mg serum bovin albumin, sebelum digunakan enzim diencerkan sampai 0,04 unit/mL dengan bufer fosfat pH 7. Substrat *p*-nitrofenil- α -D-glukopiranosa (*p*-NPG) dibuat menjadi konsentrasi 0,5 mM. Pengujian dilakukan pada ekstrak metanol, fraksi n-heksana, fraksi n-heksana : etil asetat, dan fraksi etil asetat dengan variasi konsentrasi. Prinsip uji ini adalah penentuan aktivitas penghambatan berdasarkan kemampuan sampel dalam menghambat reaksi katalisis hidrolisis yang terjadi pada substrat *p*-nitrofenil- α -D-glukopiranosa dengan enzim α -glukosidase dan mencegahnya menjadi *p*-nitrofenol dan D-glukopiranosa yang ditandai dengan terjadinya perubahan warna larutan dari bening menjadi larutan berwarna kuning. Sampel ekstrak maupun fraksi yang memiliki kemampuan penghambatan yang tinggi akan menunjukkan intensitas warna larutan yang semakin cerah, yang sebanding dengan kemampuan aktivitas penghambatan yang tinggi.

Sampel ekstrak dan fraksi daun *Vitex trifolia* Linn masing-masing dilarutkan dalam DMSO dan dibuat variasi konsentrasi yaitu 25 ppm, 50 ppm, 100 ppm, dan 200 ppm. Kemudian, kedalam 10 μ L masing-masing sampel ditambahkan 50 μ L buffer fosfat 0,1 M (pH 7), 25 μ L substrat 4-nitrofenil- α -D-glukopiranosa 0,5 M. Selanjutnya ditambahkan 25 μ L larutan enzim α -glukosidase. Campuran reaksi tersebut diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit agar berlangsung reaksi enzimatis. Ditambahkan 100 μ L larutan natrium karbonat 0,2 M untuk menghentikan reaksi enzimatis yang berlangsung. Pengukuran absorbansi *p*-nitrofenil yang terbentuk dalam campuran reaksi dilakukan dengan menggunakan *microplate reader* (*Elisa Microplate Spectrophotometer*) pada panjang gelombang 410 nm yang merupakan panjang gelombang maksimum. Pengujian dilakukan sebanyak tiga kali pengulangan terhadap tiga sampel dengan konsentrasi dan perlakuan yang sama. Sistem reaksi dijelaskan pada Tabel 1. S_0 digunakan sebagai koreksi terhadap absorban ekstrak.

Tablet akarbosa (Glukobay) digunakan sebagai kontrol positif. Glukobay dilarutkan dalam bufer dan HCl 2 N (1:1) dan dibuat variasi konsentrasi yaitu 0,1 ppm, 0,5 ppm, 1,0 ppm, 5,0 ppm, dan 10 ppm. Larutan diambil sebanyak 1 μ L dan dimasukkan ke dalam campuran reaksi seperti dalam sampel ekstrak (S_1).

Tabel 2. Prosedur uji aktivitas inhibisi α -glukosidase

Reagen	Blangko	K	S_0	S_1
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° selama 5 menit				
Buffer(μ L)	25	-	25	-
Enzim(μ L)	-	25	-	25
Inkubasi 37° selama 15 menit				
$\text{Na}_2\text{CO}_3(\mu\text{L})$	100	100	100	100

Keterangan :

- Blangko = campuran larutan tanpa adanya ekstrak dan enzim (Campuran Buffer fosfat dan substrat *p*-nitrofenil- α -D-glukopiranosida (*p*-NPG)).
- K = kontrol positif (campuran DMSO, enzim α -glukosidase, Buffer fosfat, dan substrat *p*-nitrofenil- α -D-glukopiranosida (*p*-NPG)) tanpa ekstrak
- S_0 = campuran ekstrak tanpa enzim (Campuran Buffer fosfat, Natrium karbonat)
- S_1 = campuran enzim dan ekstrak (Campuran Buffer fosfat, natrium Karbonat)

Hasil pengukuran absorbansi *p*-nitrofenol dapat digunakan untuk perhitungan aktivitas inhibitor enzim α -glukosidase dengan rumus (Kim *et al.*, 2009)

$$\text{Aktivitas Penghambatan} = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \times 100 \%$$

Keterangan : A_0 = Absorbansi blangko (blangko-K)

A_1 = Absorbansi sampel ($S_1 - S_0$)

Hasil absorbansi kemudian diplotkan kedalam sebuah grafik dengan sumbu x adalah log konsentrasi sampel dan sumbu y adalah persentase penghambatan. Berdasarkan dari grafik tersebut maka akan didapat persamaan regresi linear.

$$Y = a + bx$$

Setelah didapat hasil persamaan regresi linear, nilai IC_{50} artinya menunjukkan konsentrasi sampel yang memiliki persen aktivitas penghambatan sebesar 50%. Nilai IC_{50} dapat dihitung menggunakan rumus sebagai berikut :

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

BAB 4

HASIL DAN PEMBAHASAN

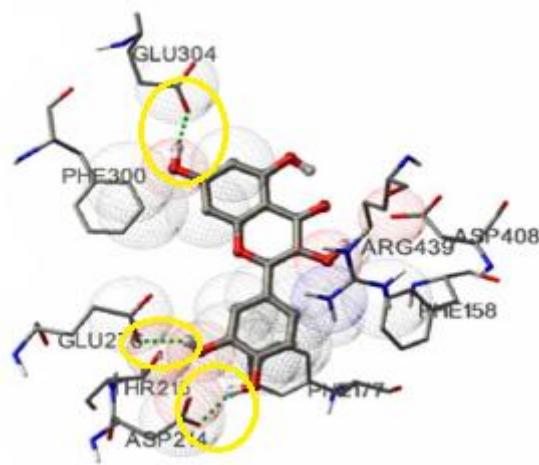
Uji fitokimia terhadap sampel (ekstrak metanol, fraksi n-heksana, fraksi n-heksana : etil asetat, dan fraksi etil asetat) dilakukan untuk mengetahui golongan senyawa yang terkandung dalam masing-masing ekstrak dan fraksi. Uji fitokimia yang dilakukan yaitu uji alkaloid, uji fenolik, uji flavonoid, uji tanin, uji steroid, uji terpenoid, dan uji saponin. Hasil identifikasi golongan senyawa tersebut dapat dijadikan acuan untuk memperkirakan golongan senyawa dari sampel ekstrak yang dapat memberikan kemampuan untuk menghambat aktivitas enzim α -glukosidase. Tabel 3 menunjukkan hasil fitokimia dari semua sampel.

Tabel 3. Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Metanol, Fraksi n-Heksana, Fraksi Etil asetat, Fraksi n-Heksana -Etil Asetat Daun *Vitex trifolia* Linn.

Sampel	Alkaloid	Flavonoid	Fenolik	Saponin	Tanin	Steroid	Terpenoid
Ekstrak Metanol	-	-	+	-	+	-	-
Fraksi n- Heksana	-	-	+	-	-	-	-
Fraksi n- Heksana – Etil Asetat 1:1	-	-	+	-	+	+	-
Fraksi Etil Asetat	-	+ (circled)	+	+ (circled)	+	+	-

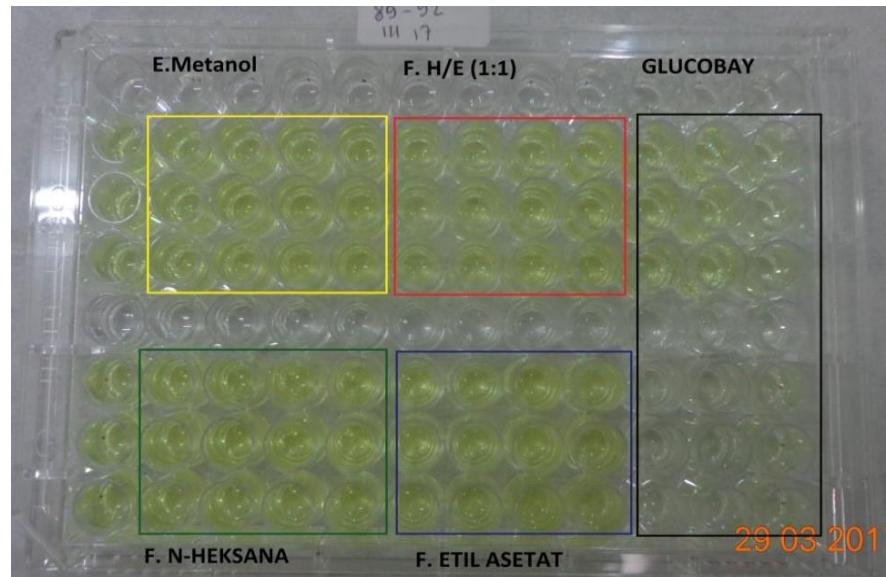
Berdasarkan hasil uji fitokimia terlihat bahwa pada fraksi etil asetat menunjukkan hasil positif adanya kandungan metabolit sekunder golongan flavonoid dan saponin yang tidak ditunjukkan oleh sampel lainnya. Adanya senyawa golongan flavonoid dan saponin diduga berperan dalam menghambat enzim α -glukosidase. Berdasarkan penelitian, flavonoid diketahui dapat

menghambat kerja enzim α -glukosidase (Gu *et al.*, 2015), karena gugus hidroksil dari senyawa flavonoid (yaitu geraldon) menempati sisi aktif enzim α -glukosidase melalui ikatan hidrogen dengan residu asam amino Asp₃₂₉ dan Arg₄₁₅ enzim α -glukosidase. Interaksi tersebut menyebabkan aktivitas enzim α -glukosidase terhambat (Ahmed *et al.*, 2014). Berikut adalah gambaran interaksi yang kemungkinan terjadi antara sisi aktif enzim dengan senyawa flavonoid yang tersaji pada gambar 12.



Gambar 12. Interaksi Senyawa Flavonoid dengan Sisi Aktif Enzim (Xu, 2010)

Kandungan senyawa flavonoid yang terdapat dalam fraksi etil asetat membuat fraksi etil asetat daun *Vitex trifolia* Linn kemungkinan dapat menghambat enzim α -glukosidase. Uji aktivitas inhibisi enzim α -glukosidase dilakukan pada sampel ekstrak dan fraksi dari daun Legundi (*Vitex trifolia* Linn) yaitu ekstrak metanol, fraksi n-heksana, fraksi n-heksana : etil asetat, dan fraksi etil asetat dengan variasi konsentrasi mulai dari 25, 50, 100, dan 200 ppm dan diuji sebanyak tiga kali pengulangan (triplo). Tujuan variasi konsentrasi dilakukan untuk mengetahui tingkat kemampuan sampel dalam menghambat kerja enzim α -glukosidase. Prinsip uji ini didasarkan pada penentuan aktivitas inhibisi sampel terhadap enzim α -glukosidase, dimana enzim α -glukosidase akan menghidrolisis substrat *p*-nitrofenol α -D-glukopiranosa menjadi *p*-nitrofenol dan glukosa. Aktivitas inhibisi enzim diukur berdasarkan hasil pengukuran absorbansi warna kuning *p*-nitrofenol yang dihasilkan (Sugiwati *et al.*, 2009).



Gambar 13. Perbandingan Warna *p*-nitrofenol Hasil Uji Inhibisi Enzim α -glukosidase terhadap Ekstrak Metanol, Fraksi n-heksana, Fraksi n-heksana:Etil, Fraksi Etil Asetat, dan Glukobay.

Berdasarkan hasil pengukuran aktivitas inhibisi enzim α -glukosidase terhadap semua sampel, hampir semua sampel menunjukkan perubahan warna larutan menjadi kuning dengan intensitas warna yang hampir sama, hal tersebut menunjukkan bahwa *p*-nitrofenol yang terbentuk semakin banyak, sehingga kemampuan sampel dalam menghambat enzim α -glukosidase sangat lemah. Namun terdapat perbedaan pada intensitas warna kuning yang dihasilkan oleh fraksi etil asetat yang memiliki intensitas warna yang lebih pudar dibandingkan dengan ekstrak metanol, fraksi n-heksana, dan fraksi n-heksana : etil asetat. Hal ini menandakan bahwa sampel fraksi etil asetat dapat menghambat enzim α -glukosidase. Glukobay (yang mengandung akarbosa) sebagai pembanding menghasilkan intensitas warna kuning yang lebih pudar dibandingkan dengan semua sampel karena glukobay merupakan salah satu agen antidiabetes oral yang biasa digunakan dalam menurunkan kadar glukosa darah pada penderita diabetes tipe II (Dewick, 2009).

Pengukuran absorbansi *p*-nitrofenol dilakukan untuk mengetahui lebih lanjut kemampuan dari semua sampel serta standar glukobay dengan menggunakan spektrofotometri *Elisa Reader* yang dilakukan pada panjang gelombang 410 nm sebagai panjang gelombang optimum yang diperoleh. Hasil

pengukuran aktivitas dari sampel ekstrak, fraksi, dan glukobay disajikan pada tabel 4.

Tabel 4. Hasil Data Absorbansi *p*-nirofenol dan Aktivitas Inhibisi Enzim α -Glukosidase oleh Ekstrak, Fraksi, dan Glukobay

Konsentrasi (ppm)	K(-)	Absorbansi						Aktivitas Inhibisi (%)			Rata-rata % inhibisi	
		Absorbansi			Abs Terkoreksi			A1	A2	A3		
		A1	A2	A3	A1	A2	A3					
Ekstrak Metanol	0	0,045	0,980	0,97	0,954	0,935	0,925	0,909				
	25	0,047	0,984	0,964	0,948	0,937	0,917	0,901	-0,214	0,865	0,880	
	50	0,048	0,989	1,029	1,015	0,941	0,981	0,967	-0,642	-6,05	-6,38	
	100	0,051	1,075	1,083	1,045	1,024	1,032	0,994	-9,52	-11,6	-9,35	
	200	0,057	1,049	1,044	1,051	0,992	0,987	0,994	-6,10	-6,70	-9,35	
											-7	

Tabel 5. Hasil Data Absorbansi *p*-nitrofenol dan Aktivitas Inhibisi Enzim α -Glukosidase oleh Ekstrak, Fraksi, dan Glukobay (Lanjutan)

Konsenra si (ppm)	K(-)	Absorbansi						Aktivitas Inhibisi (%)			Rata-rata % inhibisi	
		Absorbansi			Abs Terkoreksi			A1	A2	A3		
		A1	A2	A3	A1	A2	A3					
Fraksi n- Heksana	0	0,047	0,970	0,954	0,935	0,923	0,907	0,888				
	25	0,049	1,006	0,987	0,985	0,957	0,938	0,936	-3,68	-3,42	-5,41	
	50	0,05	1,064	1,075	1,01	1,014	1,025	0,96	-9,86	-13,01	-8,11	
	100	0,054	1,113	1,057	1,07	1,059	1,003	1,016	-14,7	-10,6	-14,4	
	200	0,063	1,113	1,097	1,054	1,05	1,034	0,991	-13,8	-14,00	-11,6	
Fraksi n- Heksana : Etil Asetat	0	0,046	0,913	0,921	0,935	0,867	0,875	0,889				
	25	0,047	0,904	0,879	0,897	0,857	0,832	0,85	1,15	4,91	4,39	
	50	0,048	0,877	0,891	0,898	0,829	0,843	0,85	4,38	3,66	4,39	
	100	0,051	0,960	0,958	1,012	0,909	0,907	0,961	-4,84	-3,66	-8,10	
	200	0,065	1,059	1,037	1,063	0,994	0,972	0,998	-14,6	-11,1	-12,3	
Fraksi Etil Asetat	0	0,05	0,935	0,921	0,935	0,885	0,871	0,885				
	25	0,05	0,879	0,894	0,847	0,829	0,844	0,797	6,33	3,10	9,94	
	50	0,054	0,861	0,872	0,881	0,807	0,818	0,827	8,81	6,09	6,55	
	100	0,063	0,844	0,853	0,847	0,781	0,79	0,784	11,8	9,3	11,4	
	200	0,081	0,628	0,634	0,574	0,547	0,553	0,493	38,2	36,5	44,3	
Glukobay	0	0,046	0,54	0,555	0,56	0,494	0,509	0,514				
	0,1	0,046	0,435	0,431	0,444	0,389	0,385	0,398	21,3	24,4	22,6	
	0,5	0,045	0,246	0,214	0,255	0,201	0,169	0,21	59,3	66,8	59,1	
	1	0,05	0,186	0,19	0,176	0,136	0,14	0,126	72,5	72,5	75,5	
	5	0,046	0,091	0,095	0,091	0,045	0,049	0,045	90,9	90,4	91,2	
	10	0,047	0,074	0,077	0,079	0,027	0,03	0,032	94,5	94,1	93,8	

Berdasarkan tabel 5, sampel fraksi etil asetat menghasilkan nilai absorbansi yang semakin kecil seiring dengan kenaikan konsentrasi sampel. Hal

tersebut menandakan bahwa kemampuan sampel semakin kuat dalam menghambat kerja enzim α -glukosidase. Pengukuran absorbansi *p*-nitrofenol dapat digunakan untuk mengetahui aktivitas inhibisi enzim α -glukosidase dengan menggunakan rumus (Kim *et al.*, 2009) :

$$\text{Aktivitas Penghambatan} = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \times 100 \%$$

Keterangan : A_0 = Absorbansi blangko (blangko-K)

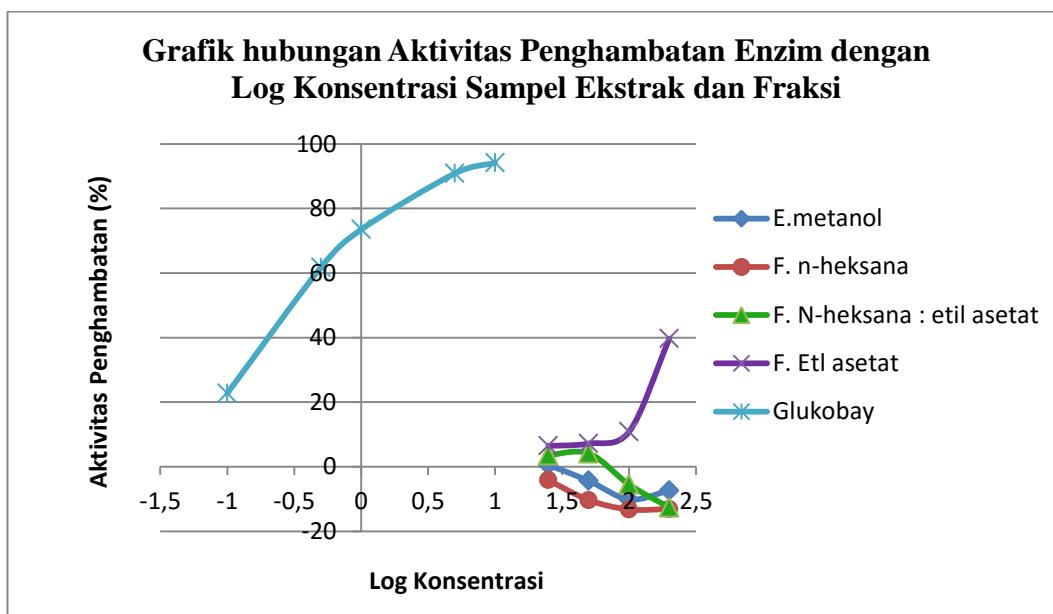
A_1 = Absorbansi sampel ($S_1 - S_0$)

Berdasarkan perhitungan didapatkan absorbansi blangko yaitu 0,970 dengan absorbansi blangko yaitu 0,925 dan absorbansi ekstrak metanol dengan konsentrasi 25 ppm yaitu 0,917. Hasil perhitungan aktivitas inhibisi yaitu :

$$\text{Aktivitas Inhibisi (\%)} = \frac{0,925 - 0,917}{0,925} \times 100 \% = 0,865 \%$$

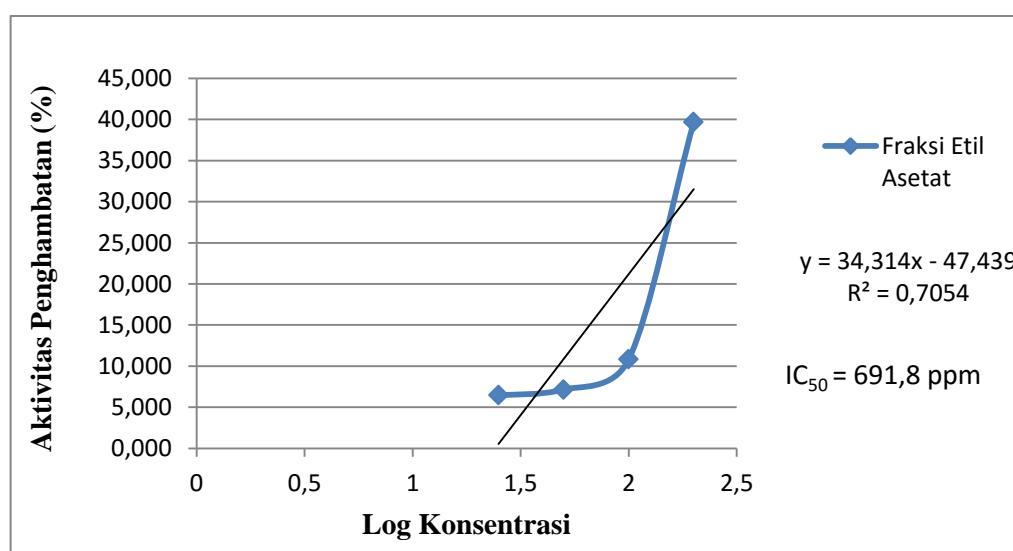
Perhitungan aktivitas inhibisi enzim α -glukosidase terhadap semua sampel dan glukobay lebih lengkap dapat dilihat pada lampiran 9. Selanjutnya dari data absorbansi tersebut dibuat grafik hubungan aktivitas inhibisi dengan log konsentrasi sampel, dimana persen aktivitas inhibisi sebagai sumbu y dan log konsentrasi sampel sebagai sumbu x. Hasil perbandingan tersebut ditunjukkan pada gambar 6.

Berdasarkan grafik hubungan aktivitas inhibisi enzim α -glukosidase dengan log konsentrasi terhadap semua sampel dan glukobay (Gambar 6) menunjukkan bahwa aktivitas inhibisi enzim α -glukosidase oleh sampel fraksi etil asetat memiliki aktivitas yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan sampel lainnya dan memiliki aktivitas yang mirip dengan glukobay (sebagai kontrol). Hal tersebut menunjukkan adanya senyawa-senyawa metabolit sekunder yang berperan dalam menghambat enzim α -glukosidase yang terkandung dalam fraksi etil asetat.

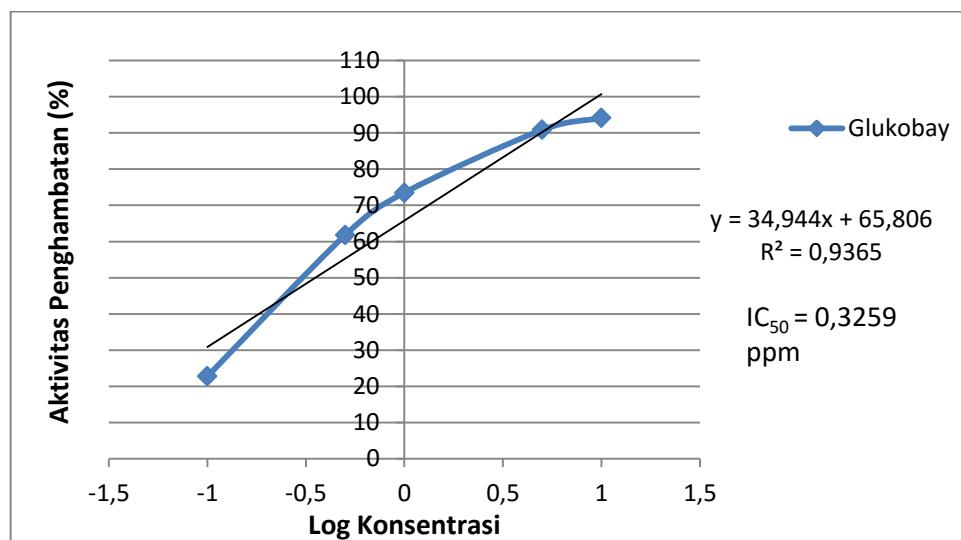


Gambar 14. Grafik Persentase Aktivitas Inhibisi Enzim α -Glukosidase dengan Log Konsentrasi Semua Sampel dan Glukobay

Penentuan nilai IC_{50} dari sampel uji dan standar glukobay dilakukan menggunakan persamaan garis linier yang didapat dari grafik hubungan aktivitas inhibisi dengan log konsentrasi. Nilai IC_{50} merupakan aktivitas enzim α -glukosidase yang dapat dihambat sebesar 50% oleh konsentrasi sampel. Inhibisi terhadap enzim α -glukosidase semakin baik jika nilai IC_{50} semakin kecil (Mohan *et al.*, 2013).



Gambar 15. Grafik Hubungan Aktivitas Inhibisi Enzim α -Glukosidase dengan Log Konsentrasi Fraksi Etil Asetat



Gambar 16. Grafik Hubungan Aktivitas Inhibisi Enzim α -Glukosidase dengan Log Konsentrasi Glukobay

Berdasarkan grafik pada gambar 8 dan 9, menunjukkan bahwa nilai IC_{50} dari sampel fraksi etil asetat yaitu sebesar 691,8 ppm dan pada glukobay (sebagai kontrol) yaitu sebesar 0,3259 ppm. Berdasarkan persamaan garis linier dari grafik hubungan antara aktivitas inhibisi dengan log konsentrasi yang didapat, maka dapat diketahui nilai IC_{50} dari sampel fraksi etil asetat dan glukobay seperti yang tercantum dalam tabel 7. Berdasarkan tabel 6, nilai IC_{50} fraksi etil asetat tidak berpotensi menghambat enzim α -glukosidase (nilai IC_{50} 691,8 ppm) dibandingkan dengan glukobay dengan nilai IC_{50} (yaitu sebesar 0,3529 ppm).

Tabel 6. Kategori Nilai IC_{50} sebagai Zat Antidiabetes (Darmawan, 2010)

Nilai IC_{50} (ppm)	Kategori
< 11	Sangat Aktif
11-100	Aktif
>100	Tidak Aktif

Tabel 7. Nilai IC_{50} Fraksi Etil Asetat dan Glukobay

Sampel	Nilai IC_{50} (ppm)	Kategori
Fraksi Etil Asetat	691,8	Tidak Aktif
Glukobay	0,3259	Sangat Aktif

Adanya aktivitas inhibisi oleh fraksi etil asetat diduga diakibatkan adanya interaksi yang terjadi antara metabolit sekunder dengan sisi aktif enzim, hal ini

didukung oleh uji fitokimia yang dilakukan yang menunjukkan bahwa fraksi etil asetat mengandung senyawa metabolit sekunder yang diduga berperan sebagai inhibitor dalam menghambat aktivitas enzim α -glukosidase. Hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa fraksi etil asetat mengandung golongan senyawa flavonoid dan saponin yang tidak ditunjukkan oleh sampel lainnya, sehingga aktivitas inhibisi fraksi etil asetat memiliki aktivitas inhibisi yang paling tinggi dibandingkan yang sampel lainnya yang tidak mengandung metabolit sekunder flavonoid dan saponin.

Hasil kajian literatur menunjukkan tumbuhan *Vitex trifolia* Linn mengandung senyawa turunan flavonoid antara lain vitexicarpin, luteolin, artemetin, kastisin, vitexin, 3,6,7-trimetilquersetagetin, luteolin-3-O- β -D-glukoronida. Senyawa metabolit sekunder tersebut diketahui memiliki potensi sebagai anti inflamasi dan anti tumor (Mustarichie *et al.*, 2013). Penelitian lain menyebutkan jika luteolin dan kuersetin yang merupakan senyawa kimia turunan golongan flavonoid dapat menghambat enzim α -glukosidase dengan nilai IC₅₀ sebesar 18,6 ppm (Tadera *et al.*, 2006). Interaksi yang terjadi yaitu adanya ikatan hidrogen yang terjadi antara gugus -OH pada cincin B dalam struktur flavonoid dengan bagian sisi aktif enzim Asp₂₁₄, Glu₂₇₆ dan Arg₄₃₉ (Xu, 2010). Selain itu, penelitian lain menyebutkan bahwa ekstrak etanol dari batang *Vitex glabarata* mampu menghambat enzim α -glukosidase secara *in vitro* dengan nilai IC₅₀ yang rendah yaitu 11,22 ppm (Thiantongin, 2014).

Selain adanya senyawa golongan flavonoid, fraksi etil asetat juga mengandung saponin yang diduga dapat mempengaruhi fraksi etil asetat dalam menghambat enzim α -glukosidase. Penelitian Elekofehinti (2015) menyatakan bahwa saponin merupakan salah satu metabolit sekunder yang terdapat dalam tanaman yang mempunyai aktivitas antidiabetes yang sangat baik melalui mekanisme penghambatan enzim α -glukosidase. Hal ini didukung oleh penelitian Dou *et al* (2012) yang menunjukkan bahwa salah satu senyawa saponin yang diisolasi dari bagian akar tanaman *Aralia taibaiensis* (EAT) mampu menghambat enzim α -glukosidase dengan IC₅₀ sebesar 0,48 ppm. Berdasarkan hal tersebut maka dapat disimpulkan bahwa adanya aktivitas inhibisi yang terjadi pada fraksi

etil asetat terhadap enzim α -glukosidase, dikarenakan kemungkinan mengandung senyawa flavonoid (salah satunya luteolin) dan golongan senyawa saponin yang dapat menghambat enzim α -glukosidase. Namun pada penelitian ini fraksi etil asetat memiliki nilai IC₅₀ yang besar yang menandakan bahwa fraksi tidak dikategorikan sebagai inhibitor yang baik dalam menghambat enzim α -glukosidase. Hal ini terjadi karena senyawa flavonoid dan saponin yang terdistribusi dalam fraksi etil asetat hanya sedikit yang dapat menghambat enzim α -glukosidase. Selain itu pengaruh faktor lingkungan seperti suhu, dan yang lainnya dapat mempengaruhi kuantitas dan kualitas dari metabolit sekunder yang dihasilkan dalam suatu tumbuhan khususnya pada daun *Vitex trifolia*.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian diperoleh kesimpulan yaitu :

1. Hasil uji fitokimia terhadap fraksi etil asetat menunjukkan adanya golongan senyawa flavonoid dan saponin yang diduga berperan dalam aktivitas penghambatan enzim α -glukosidase.
2. Fraksi etil asetat daun *Vitex trifolia* Linn memiliki nilai IC₅₀ sebesar 691,8 ppm dan dikategorikan tidak aktif sebagai zat antidiabetes.

B. Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut, seperti isolasi senyawa untuk mengetahui jenis senyawa aktif yang terdapat dalam fraksi yang berperan dalam menghambat enzim α -glukosidase, karakterisasi, menghitung kadar flavonoid dalam fraksi, dan uji secara *in vivo* dari tanaman *Vitex trifolia* Linn.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmed D., Kumar V., Sharma M., Verma A. 2014. Target Guided Isolation In Vitro Antidiabetic, Antioxidant Activity and Molecular Docking Studies of Some Flavonoids from Albizzia Lebbeck Benth Bark.*BMC Complementary and Alternative Medicine*. 14(55): 1-12.
- Anonim. 2013. *IDF DIABETES ATLAS, 9TH Edition*.
- Arum, Y.P. 2012. Isolasi dan Uji Daya Antimikroba Ekstrak Daun Kersen (*Muntingia calabura*). *Jurnal MIPA*. 35(2): 165-174.
- Bhattacharjee, S.K, De, L.C. 2005. *Medicinal Herbs and Flowers*. Avishkar, Jaipur, India, p. 306.
- Bosenberg, L.H. 2008. The Mechanism of Action of Oral Antidiabetic Drugs : A Review of Recent Literature. *The Journal of Endocrinology, Metabolism and Diabetes of South Africa*, 13, 3, 80-88.
- Brahmachari, G. 2011. Bio- Flavonoids With Promising Antidiabetic Potentials: A Critical Survey, *Research Signpost*, 37(2): 187-212.
- Crisholm Burns, M.A. 2008. *Pharmacotherapy Principles and Practice*. New York : McGraw-Hill Companies, Inc, 649;657.
- Darmawan A. 2010. Isolasi, Karakterisasi, dan Elusidasi Senyawa Bioaktif Antidiabetes dari Daun Cocor Bebek (*Kalanchoe pinnata* (Lam)). *JIEB* 23(9):17-20.
- Departemen Farmakologi dan Terapi FKUI. 2007. *Farmakologi dan Terapi Edisi 5*. Jakarta : Gaya Baru, 490-494.
- Dewick, P.M. 2009. *Medicinal Natural Product : A Biosynthetic Approach*. (Ed. ke 3). United Kingdom : A John Wiley and Sons.
- Dipiro, J.T., Talbert, R.L., Yee, G.C., Matzke, G.R., Wells, B.G., Posey, L.M. 2015. *Pharmacotherapy : A Pathophysiologic Approach, 9th Edition*. Mc Graw Hill, New York : Mc Graw-Hill Companies, Inc, p:1205-1223.
- DiPiro, J.T., Talbert, R.L., Yees, G.C., Matzke, G.r., Wells, B.G., & Posey, L.M. 2005. *Pharmacotherapy A Pathophysiologic Approach*. New York : McGraw-Hill.
- Dou, F., Miaomiao, X., Junxian, W., Xiangrong, T., Liangjian, H., Haifeng, T., Aidong, W., 2012. α -Glucosidase and α -Amylase Inhibitory Activities of

- Saponins from Traditional Chinese Medicines in the Treatment of Diabetes Mellitus. *Pharmazie*. 68:300-304.
- El Kousy, S., Mohamed, M., and Mohamed S. 2013. Phenolic and Biological Activities of *Vitex trifolia* aerial parts. *Life Sci J*. 9 : 670-677.
- Elekofehinti. O.O. 2015. Saponins : Antidiabetic Principles from Medicinal Plants- A Review. *Pathophysiology*. 22: 95-103.
- Gu,C., Zhang, H., Putri, C.Y., and Ng, K. 2015. Evaluation of α -Amylase and α -Glucosidase Inhibitory Activity of Flavonoids. *International Journal of Food and Nutrition Science*.2(6):1-6.
- Hanudin, E., Murti, Y.B., Setiawan, M., & Ikawati, Z. 2015. Relationship of Soil Quality and Vitexicarpine Content in the Leaves of *Vitex trifolia* L. *African Journal of Agricultural Research*. 10 (28): 2680-2686.
- Hasan, M., Khan, M.I., Umar, B.U, and Sadeque M. 2013. Comparative Study of the Effect of Ethanolic Extract of Swietenia Mahagoni Seeds with Rosiglitazone on Experimentally Induced Diabetes Mellitus in Rats. *Faridpur Med. Coll J*. No 39 p.6-10.
- Heyne, K. 1987. *Tumbuhan Berguna Indonesia. Jilid I dan II*. Terj. Badan Libang Kehutanan. Cetakan I. Koperasi karyawan Departemen Kehutanan Jakarta Pusat.
- Ho, E. dan Bray, T. M. 1999. Antioxidants, NFKB Activation, and Diabetogenesis. *Proceeding of The Society for Experimental Biology and Medicine* 222(3): 205-213.
- Ikawati, Z., Wahyuno, S., Maeyama, K. 2001. Screening of Several Indonesian Medicine Plants for their Inhibitory Effect on Histamine Release frim RBL-2H3 Cells. *Journal of Ethnopharmacology*, 75 : 249-256.
- ITIS. 2014. *Vitex trifolia*. http://www.itis.gov/servlet/SingleRpt?searchtopic=TSN&search_value=32223. [25 April 2017] diakses pada 19.30 WIB.
- Jack. 2012. *Synthesis of Antidiabetic Flavonoids and Their Derivative*. Medical Research page 180.
- Kannathasan, K., Senthilkumar, A., Venkatesalu, V. 2011. Mosquito Larvicidal Activity of Methyl-p-hydroxybenzoate Isolated from the Leaves of *Vitex trifolia* Linn. *Acta Tropica*, 120, 115-118.

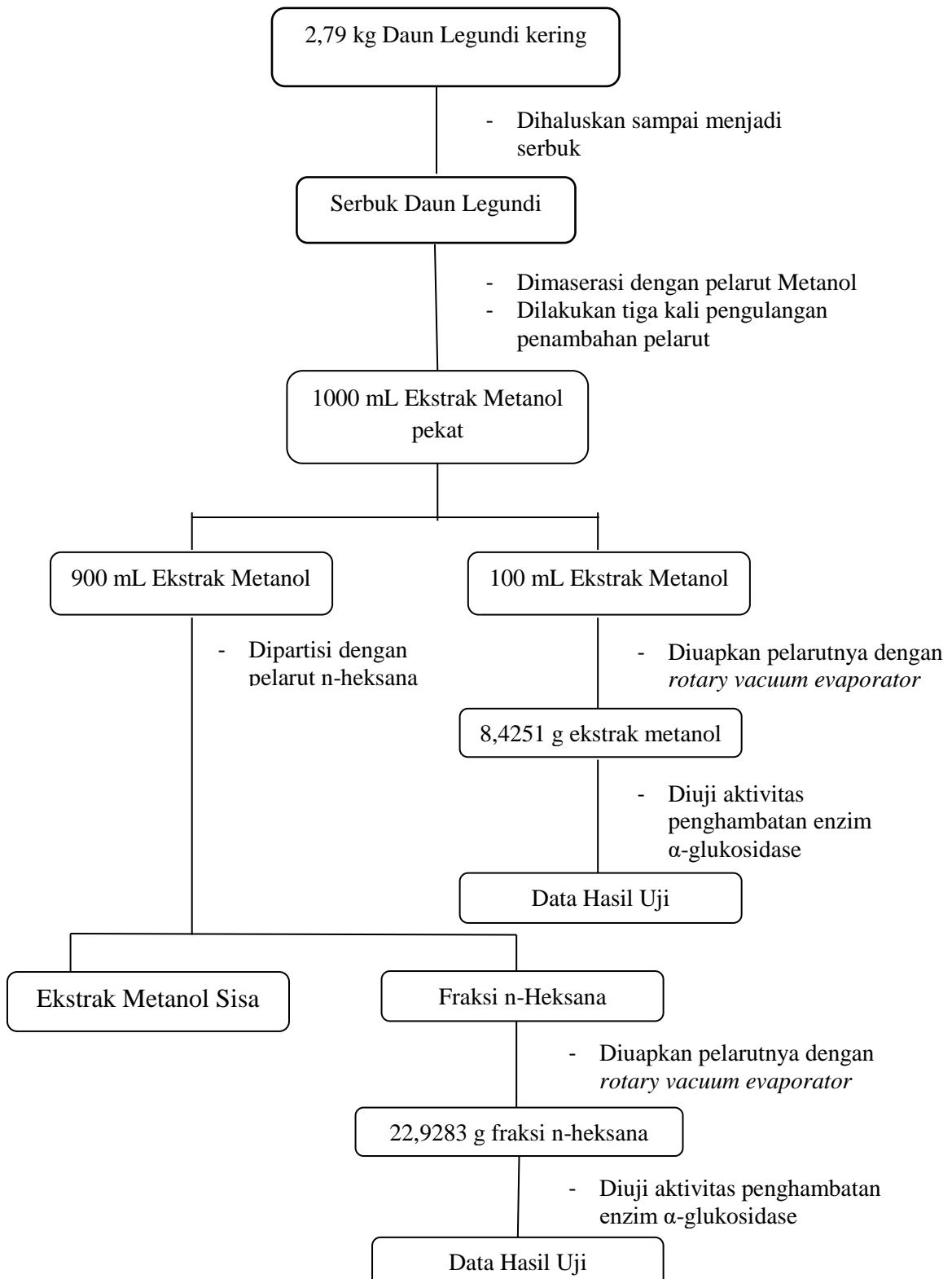
- Katzung. 2002. *Farmakologi Dasar dan Klinik, Edisi Pertama*, 449, 462, Salemba Medika, Jakarta.
- Kim, G.N., Shin, J.G., & Jang, H.D. 2009. Antioxydant and Antidiabetic Activity of Dangyuja (*Citrus grandis*) Extract Treated with *Aspergillus Saitoi*. *Food Chemistry*. 117: 35-41.
- Kok, R.P.J. 2007. The Genus *Vitex* L. (Lamiaceae) in New Guinea and the South Pacific Islands. *Kew Bull.* 62: 587-603.
- Kumar, S., Narwal, S., Kumar, V., Prakas, O. 2011. α -Glucosidase Inhibitors from Plants : A Natural Approach to Treat Diabetes. *Pharmacogn Rev*, 5 (9), 19-29.
- Kulkarni, L.A. 2011. Pharmacological Review on *Vitex trifolia* Linn. (Verbaneaceae). *Pharmacologyonline*, 3, 858-863.
- Laxmikant, K. 2012. *Vitex trifolia* linn. (Verbeneaceae): A Review on Pharmacological and Biological Effect, Isolated and Known Potential Phytoconstituents of Therapeutic Importance. *Int. J. Res. Pharm. Sci.*, 3(3), 441-445.
- Li, Y.Q., Zhou, F.C., Gao, F., Bian, J.S., Shan, F. 2009. Comparative Evaluation Of Quercetin, Isoquercetin, and Rutin as Inhibitor of α -Glucosidase. *Agricultural Food Chem.* 57:11463-11468.
- Li, W.X., Cui, C.B., Cai, B., Wang, H.Y., Yao, X.S., 2005, Flavonoids from *V. trifolia* Inhibit Cell Cycle Progression at G2/M Phase and Induce Apoptosis in Mammalian Cancer Cells, *J Asian Nat Prod Res.*, 7(4): 615-625.
- Linn, W.D., Wofford, M.R., O'Keefe, M.E., & Pose, L.M. 2009. *Pharmacotherapy in Primary Care*. New York: McGraw-Hill, 279-298.
- Lutfillah, M. 2008. Karakterisasi Senyawa Alkaloid Hasil Isolasi dari Kulit Batang Angsret (*Spathoda Campanulata Beauv*) serta Uji Aktivitasnya sebagai Antibakteri secara *In Vitro*. [Skripsi]. Jurusan Kimia FMIPA Universitas Brawijaya, Malang.
- Matsui, M., Roine, S.K., Darius, H.T., Chinain, M., Laurent, D., Pauillac, S. 2009. Characterisation of the Anti-Inflammatory Potential of *Vitex trifolia* L. (Labitae), A Multipurpose Plant of the Pasific Traditional Medicine. *Journal of Ethnopharmacology*, 126, 427-433.
- Marliana. 2005. Skrinning Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (*Sechium Edule Jacq. Swartz*) dalam Ekstrak Etanol. *Biofarmasi*. 3(1): 26-31.

- Meena, A.K., Niranjan, U.S., Rao, M.M., Padhi, M.M., Babu, M. 2011. A Review of the Important Chemical Constituents and Medicinal Uses of *Vitex* genus. *Asian Journal of Traditional Medicines*, 6(2), 54-60.
- Mohamed, M., Abdou A.M., Hamed M., Saad A.M. 2012. Characterization of Bioactive Phytochemical from the Leaves of *Vitex trifolia*. *International Journal of Pharmaceutical Application*. 3(4), pp:419-428.
- Mohan, C., Long, K.D., Mutneja, M. 2013. *An Introduction to Inhibitors and Their Biological Application*. EMD Milipore.
- Murugan, M., Mohan, V.R. 2012. Efficacy of Different Solvent Extracts of *Vitex trifolia L* and *Aristolochia indi L*. for Potential Antibacterial Activity. *Science Research Reporter*, 2(1), 110-114.
- Mustarichie, R., Ramdhani, D., Saptarini, N.M, Supriyatna, and Subarnas. 2013. Determination of the Active Chemical Compounds in the Stem Bark of *Vitex trifolia* Linn. *Scholars Academic Journal of Pharmacy*. 2(2):36-40.
- Orwa, C., Mutua, A., Kindt, R., Jamnadass, R., Simons, A. 2009. *Agroforestry Database: A Tree Reference and Selection Guide Version 4.0*. Kenya: World Agroforestry Centre.
- Pereira, D.F., Cazarolli, L.H., Lavado, C., Mengatto, V., Figueiredo, M.S.R.B, Guedes, A., Pizzolatti, M.G., Silva, F.R.M.B. 2011. Effect of Flavonoids on α -Glucosidase Activity : Potential Targets for Glucose Homeostasis. *Nutrition* (27) : 1161-1167.
- Prasanna, R.P., Sivkumar, V., Riyazullah, M S. 2012. Antidiabetic Potential of aqueous and Ethanol Leaf Extracts of *Vitex negundo*. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*. 4(2) : 38-40.
- Pusparini C.D. 2016. *Uji Aktivitas Antibakteri dan Antioksidan dari Ekstrak Metanol, Fraksi n-Heksana, dan Fraksi Etil Asetat Daun Vitex trifolia L Asal Yogyakarta*. [skripsi]. Jakarta : Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Negeri Jakarta.
- Sudha., Zinjarde, S., Bhargava, S.Y., Kumar, A.R. 2011. Potent A-Amylase Inhibitory Activity of Indian Ayurvedic Medicinal Plants. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 11: 5-2.
- Sarker, SD., Latif, Z., & Gray AI. 2006. Natural Products Isolation. In: Sarker SD, Latif Z, & Gray AI, editors. Natural Products Isolation. 2nd ed. Totowa (New Jersey). *Humana Press Inc*. 18: 6-10.
- Sao, S., Nishad, H. 2016. Biological Synthesis of Silver Nanoparticle from *Vitex trifolia* Medicinal Plant and Their Antimicrobial Properties. *World Journal of Pharmaceutical Research*. 5(6) : 1084-1090.

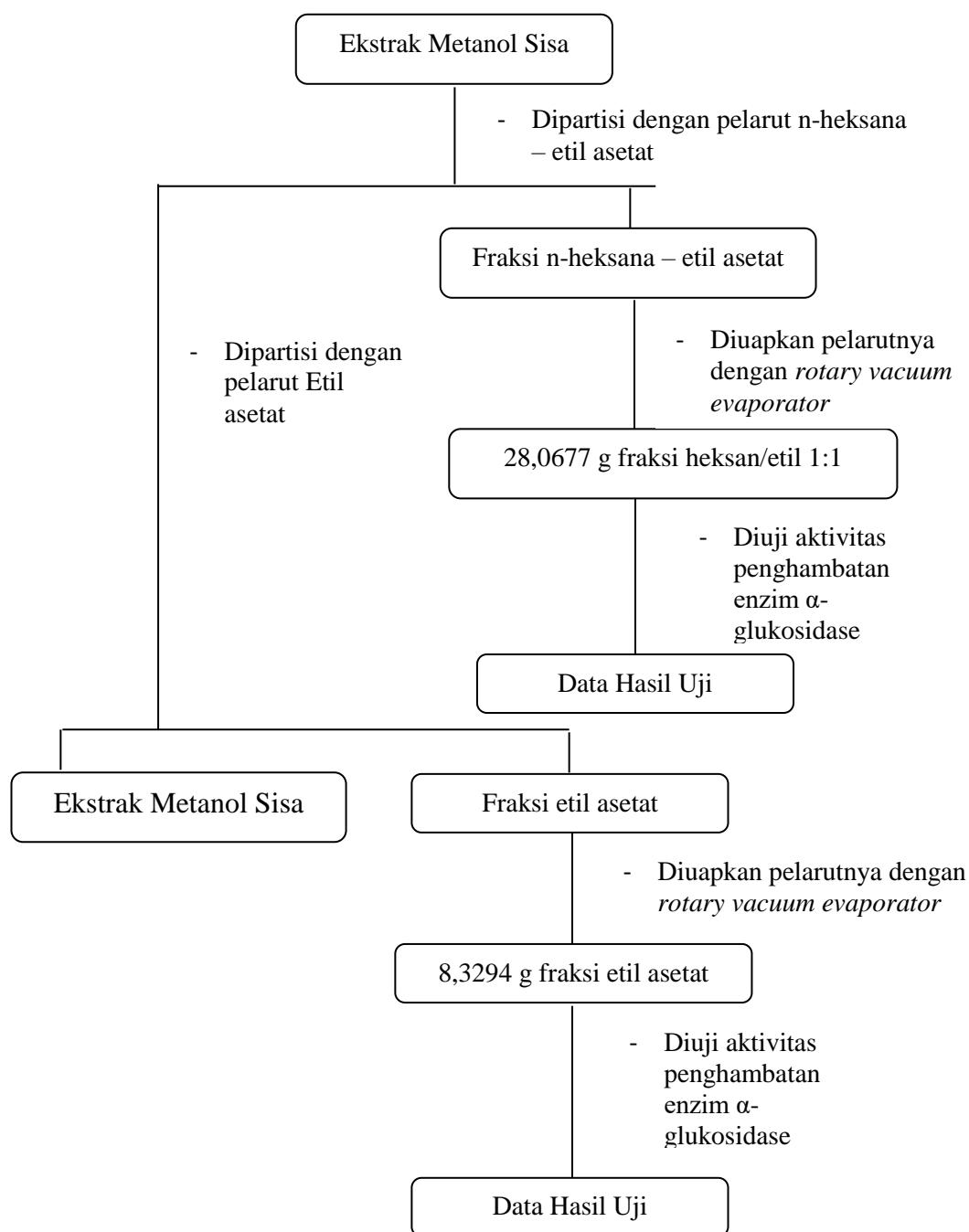
- Shinde, J., Taldone, T., Barletta, M., Kunaparaju , N., Bo, H., Kumar, S. 2008. α -Glucosidase Inhibitory Activity of *Syzgium cumini* (Linn.) Skeels Seed Kernel in vitro and in Goto-Kakizaki (GK) rats. *Carbohydrate Research* 343: 1278-1281.
- Sirait, M. 2007. *Penuntun Fitokimia dalam Farmasi*. Bandung : Penerbit ITB.
- Siadi, K. 2012. Ekstrak Bungkil Biji Jarak Pagar (*Jatropha curcas*) sebagai Biopesisida yang Efektif dengan Penambahan Larutan NaCl. *Jurnal MIPA*. 35(2): 77-83.
- Sugiwati, S., Setiah, S., & Afifah, E. 2009. Antihyperglycemic Activity of the Mahkota Dewa [*Phaleria macrocarpa* (scheff) boerl.] Leaf Extracts as an alpha-glucosidase Inhibitor. *Makara Kesehatan*, 13(2): 74-78.
- Tadera, K., Minami, Y., Takamatsu, K. and Matsuoka, T. 2006. Inhibition of α -glucosidase and α -amylase by Flavonoids. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology (Tokyo)* 52(2): 149-153.
- Tahrani, A., Barnet, A. 2010. Dapagliflozin : a Sodium Glucose Contrasperter 2 Inhibitor in Development for Type 2 Diabetes. *Diabetes Ther I* (2): 45-46.
- Thiantongin, P.2014. *Study of α -Glucosidase and α -Amylase Inhibitory Activities of Thai Folk Antidiabetes Remedies and Phytochemical Study of Vitex glabarata Stem Bark and its Chemical Constituents*. [Thesis]. Thailand : Prince of Songkla University.
- Tiwari, N., Thakur, J., Saikia, D., Gupta, M.M. 2013. Antitubercular Diterpenoids from *Vitex trifolia*. *Phytomedicine*. (20): 605-610.
- Triplitt, C.L., Reasner, C.A., and Isley, W.C. 2008. Chapter 77: *Diabetes mellitus*. Di dalam: (Dipiro J.T, Talbert R.L, Yee G.C, Matzke G.R, Wells B.G, and Posey L.M) *Pharmacotherapy : A Patophysiological Approach, 9th Edition*. Mc Graw Hill, New York: Mc Graw-Hill Companies, Inc, p:1205-1223.
- Wang, H.Y, Cai, B., Cui, C.B., Zhang, D.Y., Yang, B.F. 2005. Vitexicarpin, a Flavonoid from *V. trifolia*, Induces Apoptosis in K562 Cells via Mitochondria-Controlled Apoptotic Pathway, *Yao Xue Xue Bao.*, 40(1):27-31.
- Xu, H. 2010. Inhibition Kinetics of Flavonoids on Yeast α -Glucosidase Merged with Docking Simulations. *Protein and Peptide Letters*. 17: 1270-1279

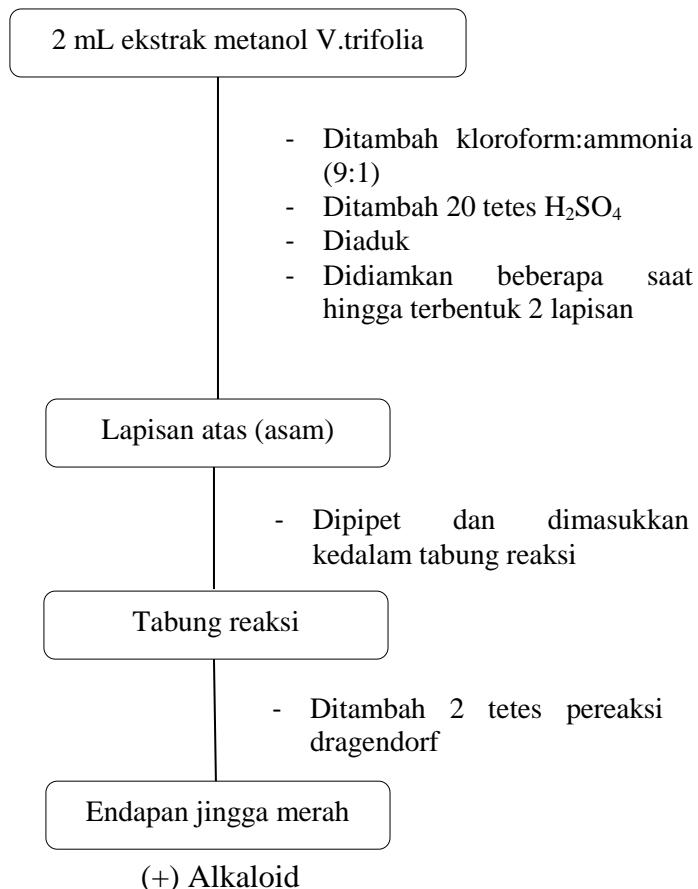
LAMPIRAN

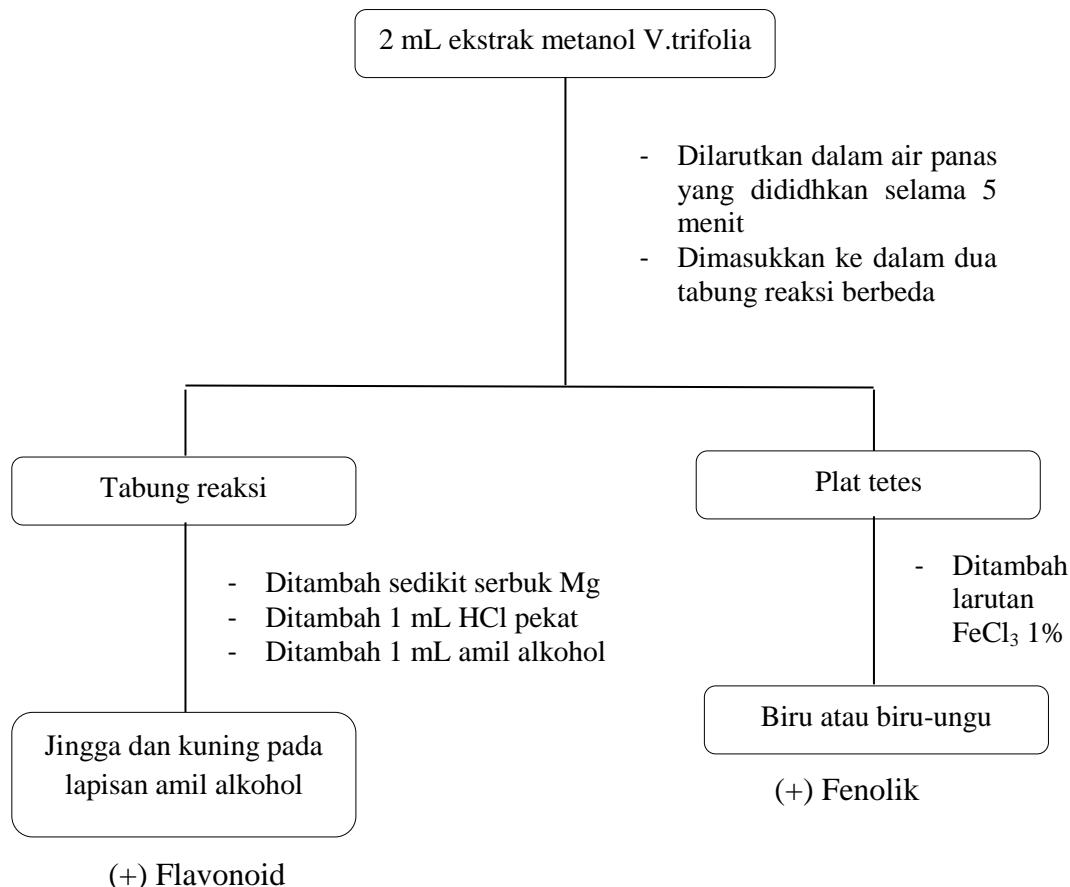
Lampiran 1. Bagan Kerja Ekstraksi Daun Legundi (*Vitex trifolia* Linn)

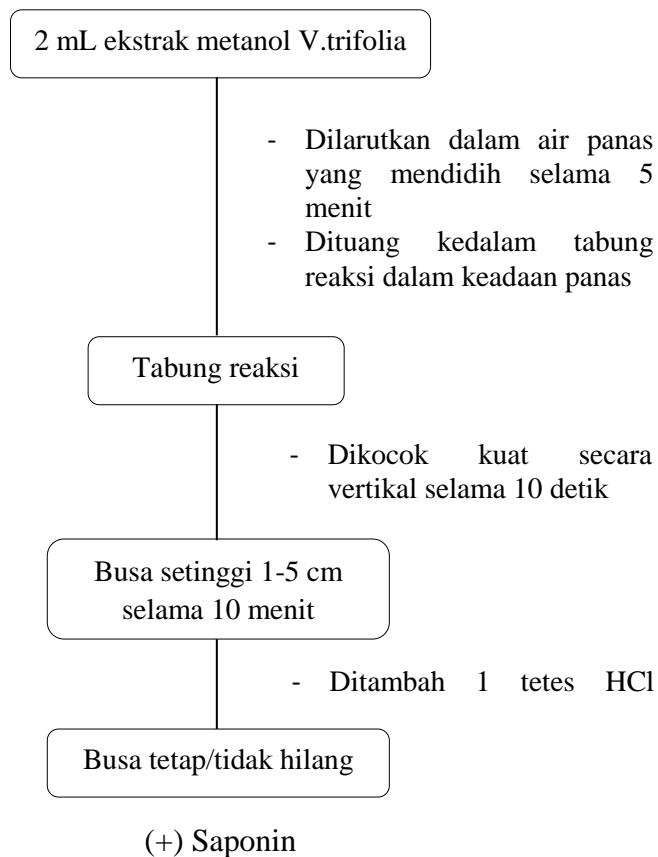


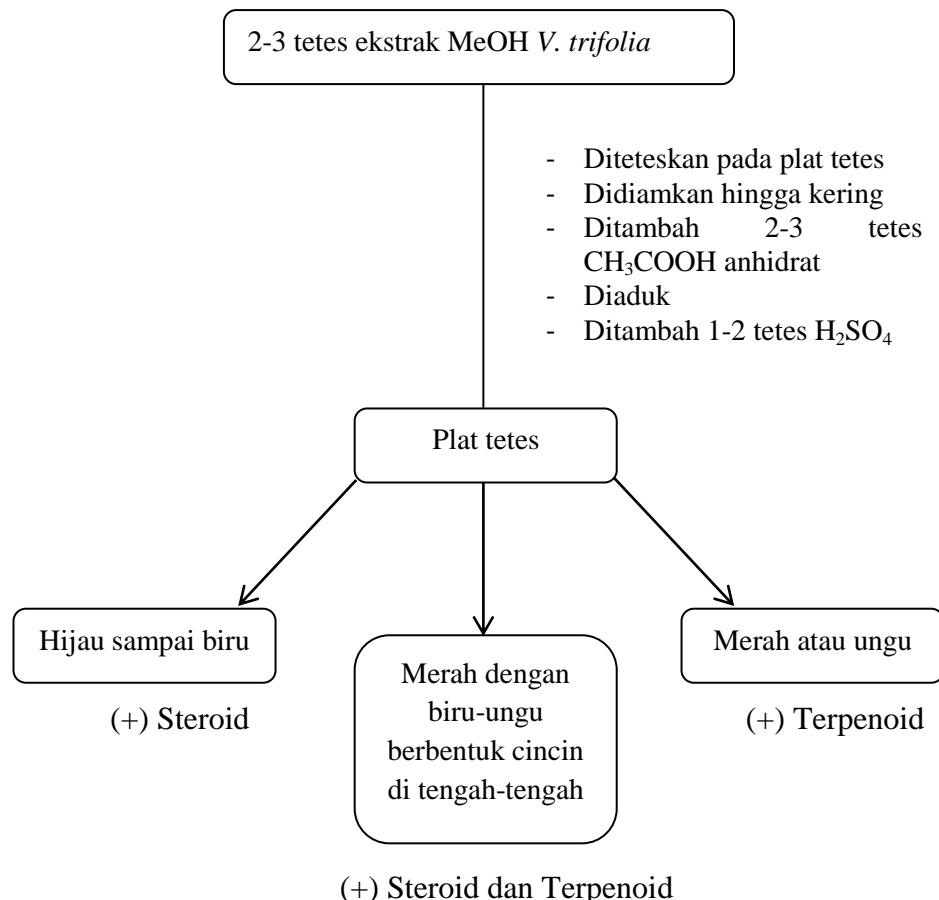
Lampiran 2. Bagan Kerja Ekstraksi Daun Legundi (*Vitex trifolia* Linn)
(Lanjutan)

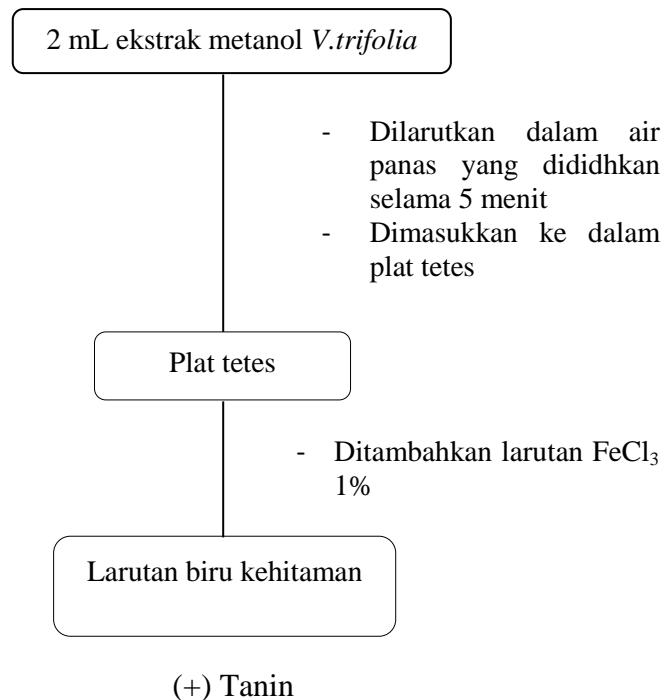


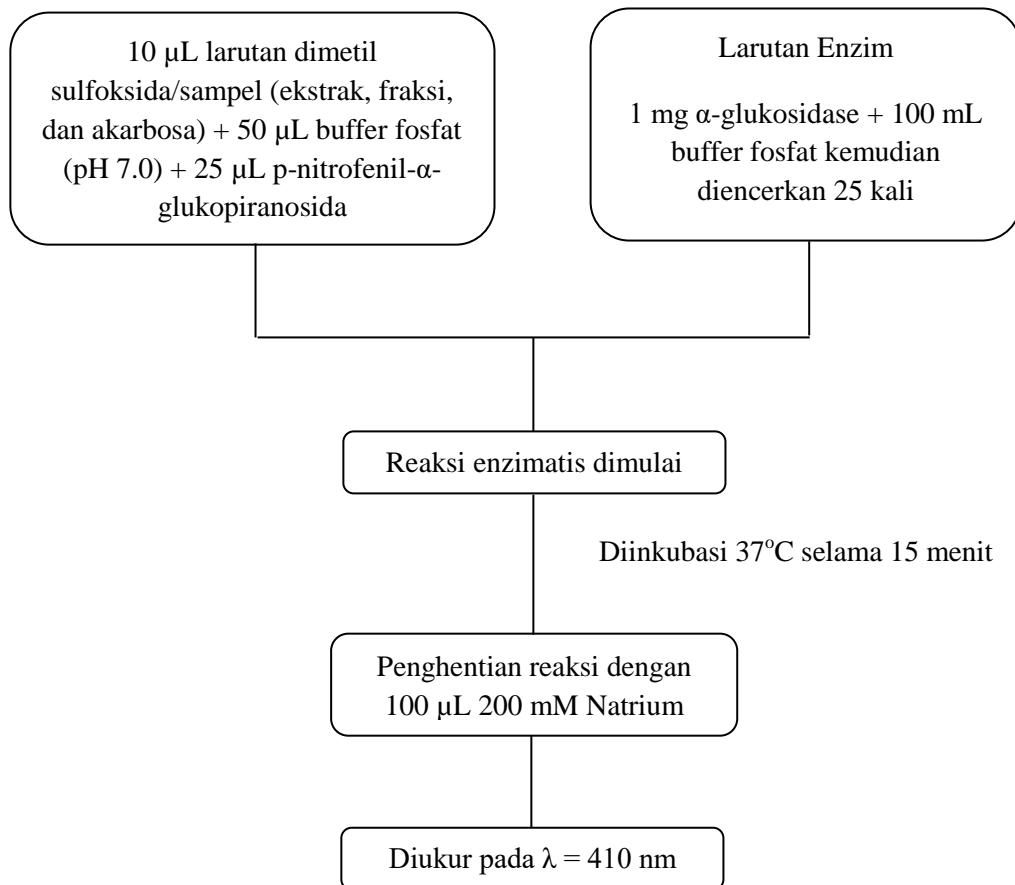
Lampiran 3. Bagan Kerja Uji Alkaloid

Lampiran 4. Bagan Kerja Uji Fenolik dan Flavonoid

Lampiran 5. Bagan kerja Uji Saponin

Lampiran 6. Bagan kerja Uji Steroid dan Terpenoid

Lampiran 7. Bagan Uji Fitokimia Uji Tanin

Lampiran 8. Bagan Kerja Uji Aktivitas Penghambatan Enzim α -Glukosidase

Lampiran 9. Perhitungan Aktivitas Penghambatan

Perhitungan Aktivitas Penghambatan pada Ekstrak Metanol, Fraksi n-heksana, Fraksi n-heksana : etil asetat, dan fraksi etil asetat.

a. Ekstrak Metanol Daun

➤ Konsentrasi 25 ppm (U1)

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

$$\text{Aktivitas penghambatan (\%)} = \frac{0,935 - 0,937}{0,935} \times 100\%$$

$$\text{Aktivitas penghambatan (\%)} = -0,214$$

➤ Konsentrasi 25 ppm (U2)

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

$$\text{Aktivitas penghambatan (\%)} = \frac{0,925 - 0,917}{0,935} \times 100\%$$

$$\text{Aktivitas penghambatan (\%)} = 0,865$$

➤ Konsentrasi 25 ppm (U3)

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

$$\text{Aktivitas penghambatan (\%)} = \frac{0,909 - 0,901}{0,935} \times 100\%$$

$$\text{Aktivitas penghambatan (\%)} = 0,880$$

➤ Konsentrasi 50 ppm (U1)

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

$$\text{Aktivitas penghambatan (\%)} = \frac{0,935 - 0,941}{0,935} \times 100\%$$

$$\text{Aktivitas penghambatan (\%)} = -0,642$$

➤ Konsentrasi 50 ppm (U2)

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

$$\text{Aktivitas penghambatan (\%)} = \frac{0,925 - 0,981}{0,925} \times 100\%$$

$$\text{Aktivitas penghambatan (\%)} = -6,054$$

➤ Konsentrasi 50 ppm (U3)

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

$$\text{Aktivitas penghambatan (\%)} = \frac{0,909 - 0,967}{0,909} \times 100\%$$

$$\text{Aktivitas penghambatan (\%)} = -6,380$$

➤ Konsentrasi 100 ppm (U1)

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

$$\text{Aktivitas penghambatan (\%)} = \frac{0,935 - 1,024}{0,935} \times 100\%$$

$$\text{Aktivitas penghambatan (\%)} = -9,519$$

➤ Konsentrasi 100 ppm (U2)

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

$$\text{Aktivitas penghambatan (\%)} = \frac{0,925 - 1,032}{0,925} \times 100\%$$

$$\text{Aktivitas penghambatan (\%)} = -11,56$$

➤ Konsentrasi 100 ppm (U3)

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

$$\text{Aktivitas penghambatan (\%)} = \frac{0,909 - 0,994}{0,909} \times 100\%$$

$$\text{Aktivitas penghambatan (\%)} = -9,351$$

➤ Konsentrasi 200 ppm (U1)

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

$$\text{Aktivitas penghambatan (\%)} = \frac{0,935 - 0,992}{0,935} \times 100\%$$

$$\text{Aktivitas penghambatan (\%)} = -6,096$$

➤ Konsentrasi 200 ppm (U2)

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

$$\text{Aktivitas penghambatan (\%)} = \frac{0,925 - 0,987}{0,925} \times 100\%$$

$$\text{Aktivitas penghambatan (\%)} = -6,703$$

➤ Konsentrasi 200 ppm (U3)

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

$$\text{Aktivitas penghambatan (\%)} = \frac{0,909 - 0,994}{0,909} \times 100\%$$

$$\text{Aktivitas penghambatan (\%)} = -9,351$$

b. Fraksi N-Heksana

➤ Konsentrasi 25 ppm (U1)

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

$$\text{Aktivitas penghambatan (\%)} = \frac{0,923 - 0,957}{0,923} \times 100\%$$

$$\text{Aktivitas penghambatan (\%)} = -3,684$$

➤ Konsentrasi 25 ppm (U2)

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

$$\text{Aktivitas penghambatan (\%)} = \frac{0,907 - 0,938}{0,907} \times 100\%$$

$$\text{Aktivitas penghambatan (\%)} = -3,148$$

➤ Konsentrasi 25 ppm (U3)

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

$$\text{Aktivitas penghambatan (\%)} = \frac{0,888 - 0,936}{0,888} \times 100\%$$

$$\text{Aktivitas penghambatan (\%)} = -5,405$$

➤ Konsentrasi 50 ppm (U1)

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

$$\text{Aktivitas penghambatan (\%)} = \frac{0,923 - 1,014}{0,923} \times 100\%$$

$$\text{Aktivitas penghambatan (\%)} = -9,859$$

➤ Konsentrasi 50 ppm (U2)

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

$$\text{Aktivitas penghambatan (\%)} = \frac{0,907 - 1,025}{0,907} \times 100\%$$

$$\text{Aktivitas penghambatan (\%)} = -13,010$$

➤ Konsentrasi 50 ppm (U3)

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

$$\text{Aktivitas penghambatan (\%)} = \frac{0,888 - 0,960}{0,888} \times 100\%$$

$$\text{Aktivitas penghambatan (\%)} = -8,108$$

➤ Konsentrasi 100 ppm (U1)

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

$$\text{Aktivitas penghambatan (\%)} = \frac{0,923 - 1,059}{0,923} \times 100\%$$

$$\text{Aktivitas penghambatan (\%)} = -14,735$$

➤ Konsentrasi 100 ppm (U2)

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

$$\text{Aktivitas penghambatan (\%)} = \frac{0,907 - 1,003}{0,907} \times 100\%$$

$$\text{Aktivitas penghambatan (\%)} = -10,584$$

➤ Konsentrasi 100 ppm (U3)

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

$$\text{Aktivitas penghambatan (\%)} = \frac{0,888 - 1,016}{0,888} \times 100\%$$

$$\text{Aktivitas penghambatan (\%)} = -14,414$$

➤ Konsentrasi 200 ppm (U1)

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

$$\text{Aktivitas penghambatan (\%)} = \frac{0,923 - 1,050}{0,923} \times 100\%$$

$$\text{Aktivitas penghambatan (\%)} = -13,759$$

➤ Konsentrasi 200 ppm (U2)

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

$$\text{Aktivitas penghambatan (\%)} = \frac{0,907 - 1,034}{0,907} \times 100\%$$

$$\text{Aktivitas penghambatan (\%)} = -14,002$$

➤ Konsentrasi 200 ppm (U3)

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

$$\text{Aktivitas penghambatan (\%)} = \frac{0,888 - 0,991}{0,888} \times 100\%$$

$$\text{Aktivitas penghambatan (\%)} = -11,599$$

c. Fraksi Heksana - Etil Asetat 1:1

➤ Konsentrasi 25 ppm (U1)

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

$$\text{Aktivitas penghambatan (\%)} = \frac{0,867 - 0,857}{0,867} \times 100\%$$

$$\text{Aktivitas penghambatan (\%)} = 1,153$$

➤ Konsentrasi 25 ppm (U2)

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

$$\text{Aktivitas penghambatan (\%)} = \frac{0,875 - 0,832}{0,875} \times 100\%$$

$$\text{Aktivitas penghambatan (\%)} = 4,914$$

➤ Konsentrasi 25 ppm (U3)

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

$$\text{Aktivitas penghambatan (\%)} = \frac{0,889 - 0,850}{0,889} \times 100\%$$

$$\text{Aktivitas penghambatan (\%)} = 4,387$$

➤ Konsentrasi 50 ppm (U1)

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

$$\text{Aktivitas penghambatan (\%)} = \frac{0,867 - 0,829}{0,867} \times 100\%$$

$$\text{Aktivitas penghambatan (\%)} = 4,383$$

➤ Konsentrasi 50 ppm (U2)

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

$$\text{Aktivitas penghambatan (\%)} = \frac{0,875 - 0,843}{0,875} \times 100\%$$

$$\text{Aktivitas penghambatan (\%)} = 3,657$$

➤ Konsentrasi 50 ppm (U3)

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

$$\text{Aktivitas penghambatan (\%)} = \frac{0,889 - 0,850}{0,889} \times 100\%$$

$$\text{Aktivitas penghambatan (\%)} = 4,387$$

➤ Konsentrasi 100 ppm (U1)

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

$$\text{Aktivitas penghambatan (\%)} = \frac{0,867 - 0,909}{0,867} \times 100\%$$

$$\text{Aktivitas penghambatan (\%)} = -4,844$$

➤ Konsentrasi 100 ppm (U2)

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

$$\text{Aktivitas penghambatan (\%)} = \frac{0,875 - 0,907}{0,875} \times 100\%$$

$$\text{Aktivitas penghambatan (\%)} = -3,657$$

➤ Konsentrasi 100 ppm (U3)

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

$$\text{Aktivitas penghambatan (\%)} = \frac{0,889 - 0,961}{0,889} \times 100\%$$

$$\text{Aktivitas penghambatan (\%)} = -8,099$$

➤ Konsentrasi 200 ppm (U1)

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

$$\text{Aktivitas penghambatan (\%)} = \frac{0,867 - 0,994}{0,867} \times 100\%$$

$$\text{Aktivitas penghambatan (\%)} = -14,648$$

➤ Konsentrasi 200 ppm (U2)

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

$$\text{Aktivitas penghambatan (\%)} = \frac{0,875 - 0,972}{0,875} \times 100\%$$

$$\text{Aktivitas penghambatan (\%)} = -11,086$$

➤ Konsentrasi 200 ppm (U3)

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

$$\text{Aktivitas penghambatan (\%)} = \frac{0,889 - 0,998}{0,889} \times 100\%$$

$$\text{Aktivitas penghambatan (\%)} = -12,261$$

d. Fraksi Etil Asetat

➤ Konsentrasi 25 ppm (U1)

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

$$\text{Aktivitas penghambatan (\%)} = \frac{0,885 - 0,829}{0,885} \times 100\%$$

$$\text{Aktivitas penghambatan (\%)} = 6,328$$

➤ Konsentrasi 25 ppm (U2)

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

$$\text{Aktivitas penghambatan (\%)} = \frac{0,871 - 0,844}{0,871} \times 100\%$$

$$\text{Aktivitas penghambatan (\%)} = 3,100$$

➤ Konsentrasi 25 ppm (U3)

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

$$\text{Aktivitas penghambatan (\%)} = \frac{0,885 - 0,797}{0,885} \times 100\%$$

$$\text{Aktivitas penghambatan (\%)} = 9,944$$

➤ Konsentrasi 50 ppm (U1)

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

$$\text{Aktivitas penghambatan (\%)} = \frac{0,885 - 0,807}{0,885} \times 100\%$$

$$\text{Aktivitas penghambatan (\%)} = 8,814$$

➤ Konsentrasi 50 ppm (U2)

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

$$\text{Aktivitas penghambatan (\%)} = \frac{0,871 - 0,818}{0,871} \times 100\%$$

$$\text{Aktivitas penghambatan (\%)} = 6,085$$

➤ Konsentrasi 50 ppm (U3)

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

$$\text{Aktivitas penghambatan (\%)} = \frac{0,885 - 0,827}{0,885} \times 100\%$$

$$\text{Aktivitas penghambatan (\%)} = 6,554$$

➤ Konsentrasi 100 ppm (U1)

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

$$\text{Aktivitas penghambatan (\%)} = \frac{0,885 - 0,781}{0,885} \times 100\%$$

$$\text{Aktivitas penghambatan (\%)} = 11,751$$

➤ Konsentrasi 100 ppm (U2)

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

$$\text{Aktivitas penghambatan (\%)} = \frac{0,871 - 0,790}{0,871} \times 100\%$$

$$\text{Aktivitas penghambatan (\%)} = 9,300$$

➤ Konsentrasi 100 ppm (U3)

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

$$\text{Aktivitas penghambatan (\%)} = \frac{0,885 - 0,784}{0,885} \times 100\%$$

$$\text{Aktivitas penghambatan (\%)} = 11,412$$

➤ Konsentrasi 200 ppm (U1)

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

$$\text{Aktivitas penghambatan (\%)} = \frac{0,885 - 0,547}{0,885} \times 100\%$$

$$\text{Aktivitas penghambatan (\%)} = 38,192$$

➤ Konsentrasi 200 ppm (U2)

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

$$\text{Aktivitas penghambatan (\%)} = \frac{0,871 - 0,553}{0,871} \times 100\%$$

$$\text{Aktivitas penghambatan (\%)} = 36,510$$

➤ Konsentrasi 200 ppm (U3)

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

$$\text{Aktivitas penghambatan (\%)} = \frac{0,885 - 0,493}{0,885} \times 100\%$$

$$\text{Aktivitas penghambatan (\%)} = 44,294$$

Lampiran 10. Perhitungan Nilai IC₅₀

1. Fraksi Etil Asetat

Persamaan garis : $y = 34,314x - 47,439$

$$50 = 34,314x - 47,439$$

$$\text{Log}(x) = \frac{50 + 47,439}{34,314} = 2,840$$

$$X = 691,8 \text{ ppm}$$

2. Glukobay

Persamaan garis : $y = 34,944x + 65,806$

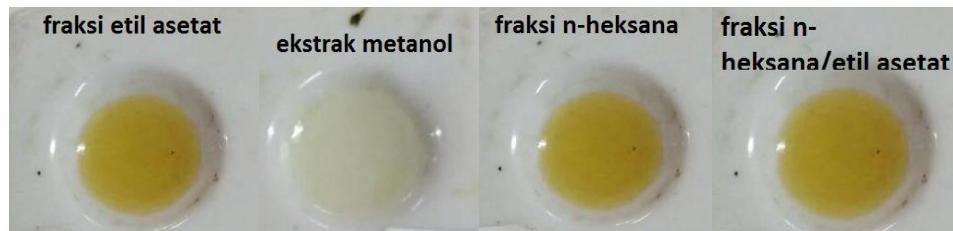
$$50 = 34,944x + 65,806$$

$$\text{Log}(x) = \frac{50 - 65,806}{34,944} = -0,4523$$

$$x = 0,3529 \text{ ppm}$$

Lampiran 11. Hasil Uji Fitokimia

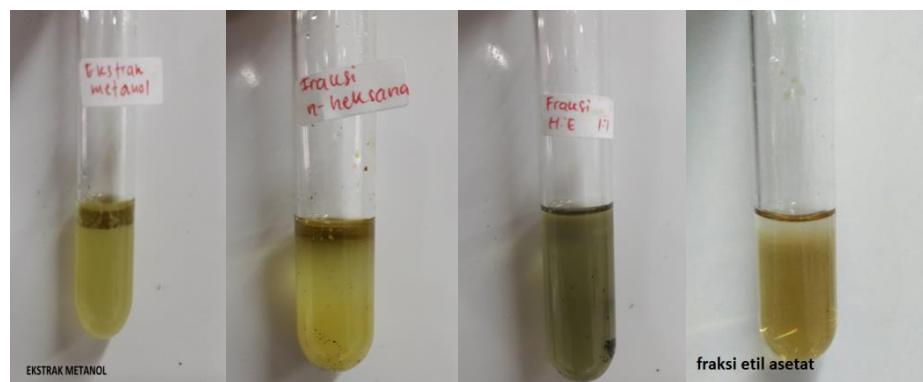
1. Uji alkaloid



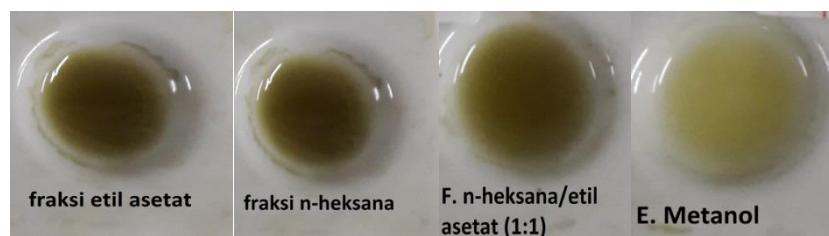
2. Uji fenolik



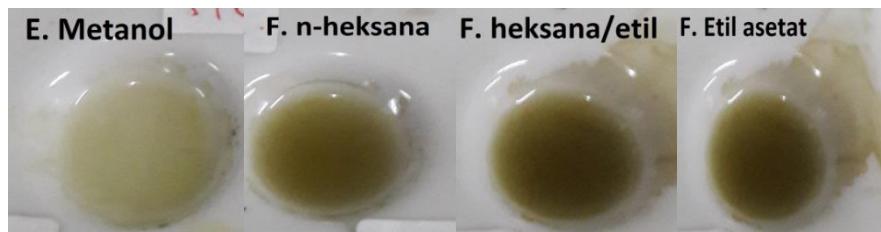
3. Uji flavonoid



4. Uji terpenoid



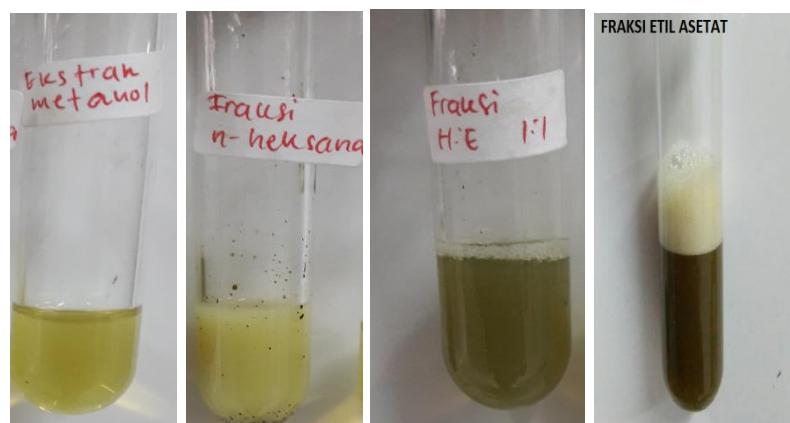
5. Uji steroid



6. Uji Tanin



7. Uji saponin



Lampiran 12. Sertifikat Uji Aktivitas Penghambatan 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 : 136/I3.11.7/LPSB/17

Bogor, 06 April 2017

Lampiran : 1 halaman

Perihal : Laporan Hasil Uji

Kepada Yth.

Vera Lesmanawati

Universitas Negeri Jakarta

Gg Secang No 09 Rt 012 Rw 005 Kel Utan Kayu Utara

Jakarta Timur

Dengan hormat,

Berdasarkan formulir permohonan analisis order no 022/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

Hasil pengukuran /pengujian hanya berhubungan dengan barang yang diuji
Dilarang memperbanyak Laporan hasil uji tanpa persetujuan tertulis dari Laboratorium Pusat Studi Biofarmaka, LPPM IPB

Lampiran 13. Sertifikat Uji Aktivitas Penghambatan Enzim α -Glukosidase
(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) 405.018/LPSB IPB/III/17

No Order

: 022/III

Nama / Instansi

: Vera Lesmanawati / Universitas Negeri Jakarta

Alamat

: Gg Secang No 09 Rt 012 Rw 005 Kel Utan Kayu Utara Jakarta Timur

Jenis analisis

: Inhibisi Enzim α -Glukosidase IC₅₀

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 α -Glukosidase IC ₅₀	Tidak Aktif*	ppm	Spektrofotometri
Fraksi n Heksan	Padatan	Inhibisi Enzim α -Glukosidase IC ₅₀	Tidak Aktif*	ppm	Spektrofotometri
Fraksi Heksan : Etil Asetat	Padatan	Inhibisi Enzim α -Glukosidase IC ₅₀	Tidak Aktif*	ppm	Spektrofotometri
Fraksi Etil Asetat	Padatan	Inhibisi Enzim α -Glukosidase IC ₅₀	>200	ppm	Spektrofotometri
Glukobay	Padatan	Inhibisi Enzim α -Glukosidase IC ₅₀	0.35	ppm	Spektrofotometri

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

Bogor, 06 April 2017

Manager Teknis

Rudi Heryanto, MSi

NIP. 19760428 200501 1002

Hasil pengukuran /pengujian hanya berhubungan dengan barang yang diuji
Dilarang memperbaik Laporan hasil uji tanpa persetujuan tertulis dari Laboratorium Pusat Studi Biofarmaka, LPPM IPB

LPSB IPB-IV.25.2

1 dari 1

DAFTAR RIWAYAT HIDUP

VERA LESMANAWATI. Dilahirkan di Kuningan Jawa Barat pada tanggal 24 Desember 1995 dari pasangan Bapak Sugiarto dan Ibu Enok Suhartini, merupakan anak ketiga dari tiga bersaudara. Penulis bertempat tinggal di Gg.Secang no.09 Rt/Rw. 012/005 Kel. Utan Kayu Utara, Jakarta Timur. Pendidikan formal yang telah ditempuh yaitu Sekolah Dasar di SDN Cipetir dan lulus pada tahun 2007; Sekolah Menengah Pertama di SMPN 1 Lebakwangi dan lulus pada tahun 2010; serta Sekolah Menengah Atas di SMAN 2 Kuningan dan lulus pada tahun 2013. Kemudian penulis melanjutkan Studi di Perguruan Tinggi Universitas Negeri Jakarta melalui jalur masuk SNMPTN (Seleksi Nasional Masuk Perguruan Tinggi Negeri) sehingga diterima menjadi mahasiswa Pogram Studi Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam.

Selama menjadi mahasiswa di Program Studi Kimia, penulis pernah menjadi Penanggung Jawab Mata Kuliah Biokimia I, Biokimia II, dan Mikrobiologi. Selain itu, penulis pernah menjadi asisten laboratorium mata kuliah Praktikum Biokimia I dan Kinetika Kimia. Penulis pernah ikut berpartisipasi sebagai peserta dalam kegiatan Lomba Karya Tulis Ilmiah Mahasiswa Nasional pada tahun 2015. Penulis juga pernah mengikuti pelaksanaan Kuliah Kerja Nyata yang diselenggarakan oleh UNJ pada tahun 2016

Selama mengikuti perkuliahan, penulis pernah melakukan Pengalaman Kunjungan Industri dan Kuliah Kerja Lapangan ke beberapa industri, antara lain PT Krakatau Steel Indonesia, PT Indonesia Power, PT Asahimas Chemical, PT Coca Cola Amatil Indonesia, PT BioFarma, BATAN, PT Nippon Indosari Corpindo, PT Semen Indonesia, dan Balai Benih Ikan Sukorejo. Penulis menyelesaikan skripsi dengan judul “Uji Inhibisi Enzim α -glukosidase dari Ekstrak Metanol dan Fraksi-Fraksi Daun *Vitex trifolia* Linn Asal Yogyakarta secara *In Vitro*” yang dilakukan di Laboratorium Penelitian Kimia UNJ dan Laboratorium Pusat Studi Biofarmaka IPB Bogor.

