

**EFEK EKSTRAK ETANOL BUAH JAMBLANG (*Syzygium cumini* (L.) Skeels.)
TERHADAP RADIKAL BEBAS DPPH (*in vitro*) DAN AKTIVITAS ENZIM
GLUTATION PEROKSIDASE PADA TIKUS DIABETES**



Oleh:

**Jolifan Regulo Freitas
20144147A**

**FAKULTAS FARMASI
PROGRAM STUDI S1 FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2018**

**EFEK EKSTRAK ETANOL BUAH JAMBLANG (*Syzygium cumini* (L.) Skeels.)
TERHADAP RADIKAL BEBAS DPPH (*in vitro*) DAN AKTIVITAS ENZIM
GLUTATION PEROKSIDASE PADA TIKUS DIABETES**



SKRIPSI

*Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai
Derajat Sarjana Farmasi (S.Farm)
Program Studi S1 Farmasi pada Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi*

Oleh:

**Jolifan Regulo Freitas
20144147A**

**FAKULTAS FARMASI
PROGRAM STUDI S1 FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2018**

PENGESAHAN SKRIPSI

Berjudul

**EFEK EKSTRAK ETANOL BUAH JAMBLANG (*Syzygium cumini* (L.) Skeels.)
TERHADAP RADIKAL BEBAS DPPH (*in vitro*) DAN AKTIVITAS ENZIM
GLUTATION PEROKSIDASE PADA TIKUS DIABETES**

Oleh :

**Jolifan Regulo Freitas
20144147A**

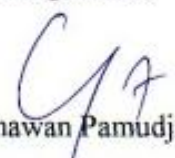
Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi
Pada tanggal : 28 Juni 2018

Mengetahui,
Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi



Prof. Dr. R. A. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt.

Pembimbing utama,

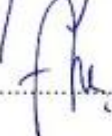

Dr. Gunawan Pamudji W., M.Si., Apt

Pembimbing Pendamping,


Sri Rejeki Handayani, M.Farm., Apt

Penguji :

1. Dr. Drs. Supriyadi, M.Si.
2. Dr. Ika Purwidyaningrum, M.Sc., Apt.
3. Ghani Nurfiana F.S, M.Farm., Apt
4. Dr. Gunawan Pamudji W., M.Si., Apt

1. .....
2. .....
3. .....
4. .....

PERSEMBAHAN

“Karena kepenuhan-Nya kita semua telah menerima kasih karunia demi kasih karunia; sebab hukum taurat diberikan oleh Musa, tetapi kasih karunia dan kebenaran datang oleh Yesus Kristus”

(Yohanes 1 : 16-17)

“sebab kamu memerlukan ketekunan, supaya setelah kamu melakukan kehendak Allah, kamu memperoleh apa yang dijanjikan-Nya itu”

(Ibrani 10 : 36)

Skripsi ini kupersembahkan kepada :

- Tuhan Yesus yang selalu memberikan saya berkat dan kekuatan dalam menyelesaikan tugas akhir ini.
- Kedua orang tua saya bapak Manuel Freitas dan ibu Regelinda Soi.
- Saudara-saudari saya : kakak Ningsih, kakak Jose, kakak Neji, adik Fiki dan adik Ano, serta keluarga besar dari suku Umametan joil por dan suku Asumeta kolimau Timor leste.
- Wanita yang selalu ada di hatiku yaitu Venny.
- Teman seperjuangan tim diabetes (Pristovia, dan Tika)
- Seluruh teman-teman angkatan 2014, khususnya teori II semoga kita semua tidak saling melupakan satu dengan yang lain.
- Apif, Daus, Julian, Hilmi, Santos, K irfan, Hendrik, Antoni, Lesty.

PERNYATAAN

Saya menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar sarjana farmasi di suatu Perguruan Tinggi dan menurut pengetahuan saya tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan dapat disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila skripsi ini merupakan jiplakan dari penelitian/karya ilmiah/skripsi orang lain, maka saya siap menerima sanksi, baik secara akademis maupun hukum.

Surakarta, 28 mei 2018



Jolifan Regulo Freitas

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Tuhan YME atas segala limpahan rahmat dan karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan skripsi dengan judul: **“EFEK EKTRAK ETANOL BUAH JAMBLANG (*Syzygium cumini* (L.) Skeels.) TERHADAP RADIKAL BEBAS DPPH (IN VITRO) DAN AKTIVITAS ENZIM GLUTATION PEROKSIDASE PADA TIKUS DIABETES”** Penyusunan skripsi ini bertujuan untuk memenuhi syarat memperoleh sarjana farmasi pada Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta. Dalam menyelesaikan skripsi ini, penulis banyak mendapat bimbingan, petunjuk dan saran-saran yang berguna dari berbagai pihak, maka pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih yang tulus kepada :

1. Prof. Dr. R.A. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt. selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.
2. Dr. Gunawan Pamudji W., M.Si., Apt selaku Dosen Pembimbing Utama dan Sri Rejeki Handayani, M.Farm., Apt selaku Dosen Pembimbing Pendamping yang telah memberikan nasehat, saran, bimbingan dan kesabaran yang tiada henti kepada penulis selama penelitian berlangsung.
3. Segenap dosen dan Staf Laboratorium Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi, Staf Laboratorium PAU Gizi UGM.
4. Bapak, Mama, kakak tersayang, dan semua keluarga besar marga Regulo Freitas yang sangat kucintai dan kukasihi. Terima kasih untuk doa, dukungan, semangat dan perhatian yang mulia.
5. Teman-teman USB (Teori II-FKK II), Thanks for doa, kebersamaan, dan dukungan yang tulus (Apif, Daus, Julian, Hendrik, Hilmi, Lilianto, Pelangi, Chusna, Dewi, Diah, Antoni, Jemmy, Zaidy, dan Veronika).
6. Ku ucapkan terimakasih kepada kedua temanku yang cantik-cantik dari ngawi yaitu Pristovia dan Tika, yang selalu menguatkan saya dalam dalam menghadapi setiap kesulitan yang saya alami dan terimakasih juga sudah mengijinkan saya menjadi bagian team skripsi dengan tema diabetes mellitus.

Semoga Tuhan melimpahkan rahmat dan karunia-Nya atas segala keikhlasan bantuan yang telah diberikan. Penulis menyadari bahwa dalam penulisan Skripsi ini jauh dari sempurna, oleh karena itu penulis membutuhkan segala kritik dan saran yang bersifat membangun untuk kesempurnaan Skripsi ini.

Akhir kata penulis berharap semoga Skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi penulis, pembaca dan perkembangan ilmu farmasi dan pengobatan.

Surakarta, 11 Mei 2018

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
PENGESAHAN SKRIPSI	ii
PERSEMBAHAN.....	iii
PERNYATAAN	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
DAFTAR SINGKATAN	xv
INTISARI.....	xvi
ABSTRACT	xvii
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang Masalah	1
B. Rumusan Masalah	3
C. Tujuan Penelitian.....	4
D. Manfaat Penelitian.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
A. Tanaman Jamblang.....	5
1. Klasifikasi	5
2. Nama lain	5
3. Morfologi Tanaman	5
4. Kegunaan tanaman	6
B. Tinjauan Fitokimia	7
1. Alkaloid.....	7
2. Saponin	7
3. Flavonoid	8
4. Tanin	8
5. Steroid.....	9
6. Triterpenoid.....	9
C. Simplisia	10

1. Pengertian.....	10
2. Pengumpulan.....	10
3. Pencucian dan pengeringan.....	10
D. Ekstraksi	11
1. Pengertian.....	11
2. Ekstrak	11
3. Maserasi	12
4. Pelarut	12
E. Diabetes Mellitus.....	12
1. Klasifikasi	13
1.1 Diabetes mellitus tipe 1.....	13
1.2 Diabetes mellitus tipe 2.....	13
1.3 Diabetes mellitus gestasional	13
1.4 Diabetes mellitus lain.....	14
2. Gejala	14
2.1 Gejala akut diabetes mellitus.....	14
2.2 Gejala kronik diabetes mellitus	14
3. Diagnosis.....	14
4. Manifestasi klinik	15
5. Stres oksidatif pada diabetes	15
5.1 Autooksidasi glukosa	16
5.2 Glikasi protein nonenzimatik	16
5.3 Jalur poliol-sorbitol (aldose reduktase).....	18
F. Antioksidan	19
1. Pengertian.....	19
2. Klasifikasi	19
2.1 Secara umum.	19
2.2 Berdasarkan mekanisme kerjanya.	20
3. Mekanisme kerja	21
G. Radikal Bebas	21
1. Pengertian.....	21
2. Sumber radikal bebas.....	22
3. Mekanisme pembentukan	22
4. Efek radikal bebas	23
H. Metode Uji Antioksidan <i>In Vitro</i>	23
1. Uji DPPH	23
2. Uji TRAP	24
3. Uji ABTS	24
4. Uji FRAP.....	25
I. Metode Uji Antioksidan <i>In vivo</i> terhadap GPx.....	25
J. Kuersetin.....	27
K. Diabetogenik	27
1. Aloksan	27
L. Glibenklamid.....	28
1. Sifat fisika kimia.....	28
2. Indikasi dan kontra indikasi	28

3. Dosis dan aturan pakai.....	29
4. Mekanisme kerja	29
5. Efek samping.....	29
M. Hewan Uji	29
1. Sistematika	30
2. Karakteristik utama.....	30
3. Jenis kelamin	30
N. Landasan Teori.....	30
O. Hipotesis	33
 BAB III METODE PENELITIAN	 34
A. Populasi dan Sampel.....	34
1. Populasi.....	34
2. Sampel	34
B. Variabel Penelitian	34
1. Identifikasi variabel utama	34
2. Klasifikasi variabel utama.....	34
3. Definisi operasional variabel utama	35
C. Bahan dan Alat.....	35
1. Bahan	35
Bahan sampel	35
1.1 Bahan uji farmakologi	35
2. Alat	36
3. Hewan uji	36
D. Jalannya Penelitian	37
1. Determinasi buah Jamblang	37
2. Pengambilan dan pembuatan serbuk buah jamblang.....	37
3. Penetapan kadar air serbuk buah jamblang.....	37
4. Pembuatan ekstrak etanol buah jamblang.....	38
5. Uji bebas alkohol ekstrak etanol buah jamblang	38
6. Identifikasi kandungan kimia ekstrak buah jamblang	38
6.1 Identifikasi flavonoid.	38
6.2 Identifikasi Tanin.	38
6.3 Identifikasi Saponin.	39
6.4 Identifikasi alkaloid.....	39
6.5 Identifikasi steroid.	39
7. Uji aktivitas antioksidan terhadap radikal bebas DPPH	39
7.1 Penyiapan larutan DPPH 80 ppm.	39
7.2 Penyiapan larutan ekstrak buah jamblang.....	39
7.3 Penyiapan larutan kuersetin.	40
7.4 Penentuan panjang gelombang maksimum DPPH.	40
7.5 Penentuan <i>operating time</i>	40
7.6 Uji aktivitas antioksidan.....	40
7.7 Analisa data.	40
8. Uji aktivitas antioksidan terhadap glutathione peroksidase	41
8.1 Penentuan dosis	41

8.2 Pembuatan Bahan uji	41
8.3 Penentuan hewan uji	41
8.4 Perlakuan hewan uji.....	42
8.5 Prosedur uji diabetes aloksan.	42
9. Pemeriksaan aktivitas antioksidan terhadap GPx.....	42
9.1 Preparasi sampel.	42
9.2 Pengukuran aktivitas GPx.	43
E. Analisa Statistik	43
F. Skema Penelitian	44
 BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	 45
A. Determinasi Buah Jamblang	45
B. Pembuatan Serbuk Buah Jamblang	45
C. Penetapan Kadar Air Serbuk Buah Jamblang	46
D. Pembuatan Ekstrak Etanol Buah Jamblang	47
E. Uji Bebas Alkohol Ekstrak Etanol Buah Jamblang	48
F. Identifikasi Kandungan Senyawa Buah Jamblang	48
G. Uji Aktivitas Antioksidan terhadap Radikal Bebas DPPH.....	49
1. Hasil pengukuran panjang gelombang maksimum.....	49
2. Penetapan <i>Operating time</i>	49
3. Hasil pengujian aktivitas antioksidan terhadap radikal bebas DPPH	49
H. Uji Aktivitas terhadap Enzim GPx.....	53
 BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	 58
A. Kesimpulan	58
B. Saran	58
 DAFTAR PUSTAKA	 59

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Tanaman Jamblang	6
Gambar 2. Struktur kimia alkaloid	7
Gambar 3. Struktur kimia flavonoid	8
Gambar 4. Struktur kimia steroid	9
Gambar 5. Struktur kimia triterpenoid	9
Gambar 6. Struktur kimia DPPH	23
Gambar 7. Reaksi antara DPPH dengan $H^\bullet$ yang berasal dari senyawa peredam radikal bebas	24
Gambar 8. Struktur GPx.....	25
Gambar 9. Struktur kimia kuersetin.....	27
Gambar 10. Struktur kimia aloksan	28
Gambar 11. Struktur Kimia Glibenklamid	29
Gambar 12. Skema Penelitian	44
Gambar 13. Konsentrasi larutan uji terhadap nilai rata-rata % inhibisi.....	50
Gambar 14. Konsentrasi larutan uji terhadap nilai rata-rata % inhibisi.....	50
Gambar 15. Aktivitas antioksidan larutan uji berdasarkan nilai IC50	52
Gambar 16. Aktivitas enzim GPx (U/mg) seluruh kelompok perlakuan.....	54

DAFTAR TABEL

Halaman

Tabel 1. Tingkat Kekuatan Antioksidan	21
Tabel 2. Rendemen pengeringan buah jamblang.....	46
Tabel 3. Hasil pemeriksaan organoleptis serbuk buah jamblang	46
Tabel 4. Penetapan kadar air serbuk buah jamblang	46
Tabel 5. Rendemen ekstrak etanol buah jamblang	47
Tabel 6. Hasil uji bebas alkohol pada ekstrak buah jamblang	48
Tabel 7. Identifikasi reaksi senyawa ekstrak buah jamblang	48
Tabel 8. Nilai rata-rata % inhibisi ekstrak	50
Tabel 9. Nilai rata-rata % inhibisi kuersetin	50
Tabel 10. Data aktivitas enzim GPx kelompok perlakuan pada tikus diabetes.....	53

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Surat determinasi buah jamblang.....	66
Lampiran 2. Ethical clearance	68
Lampiran 3. Sertifikat Pelatihan Hewan Uji	69
Lampiran 4. Perhitungan rendemen pengeringan buah jamblang	70
Lampiran 5. Penetapan kadar air serbuk buah jamblang	71
Lampiran 6. Perhitungan rendemen ekstrak etanol buah jamblang.....	72
Lampiran 7. Foto kegiatan penelitian	73
Lampiran 8. Idenfikasi kandungan senyawa secara kuantitatif.....	75
Lampiran 9. Radikal bebas DPPH.....	76
Lampiran 10. Penetapan panjang gelombang maksimum DPPH.....	77
Lampiran 11. Ekstrak etanol buah jamblang.....	78
Lampiran 12. Penetapan <i>operating time</i> ekstrak buah jamblang	79
Lampiran 13. Data ekstrak	80
Lampiran 14. Perhitungan IC ₅₀ ekstrak buah jamblang	82
Lampiran 15. Kuersetin.....	84
Lampiran 16. Penetapan <i>operating time</i> kuersetin	85
Lampiran 17. Data kuersetin	86
Lampiran 18. Perhitungan IC ₅₀ kuersetin.....	88

Lampiran 19. Hasil uji statistik <i>Independent sampels t-test</i> rata-rata nilai IC ₅₀ kuersetin dan ekstrak	90
Lampiran 20. Foto alat, bahan dan hasil uji aktivitas antioksidan secara <i>in vitro</i>	92
Lampiran 21. Perhitungan dosis	94
Lampiran 22. Hasil pengukuran aktivitas enzim GPx hati tikus	97
Lampiran 23. Hasil uji statistik menggunakan <i>Shapiro-wilk test</i> terhadap aktivitas enzim GPx	98
Lampiran 24. Foto alat, bahan dan kegiatan uji aktivitas enzim GPx hati tikus	100

DAFTAR SINGKATAN

ANOVA	<i>Analysis of variances</i>
CMC	<i>Carboxymethylcellulose</i>
DPPH	<i>Diphenylpicrylhydrazyl</i>
EDTA	Ethylene Diamine Tetra acetic Acid
GPX	Glutation peroksidase
GR	<i>Glutathione Reductase</i>
GSH	Glutation tereduksi
GSGG	Glutation teroksidasi
H ₂ O	Hidrogen; air
H ₂ O ₂	Hidrogen peroksidase
IC ₅₀	<i>Inhibitory Concentration 50</i>
NADPH	Nicotinic Adenin Dinucleotide Phospat Hydrogen
SOD	<i>Superoksidasi Dismutase</i>
UV-Vis	<i>Ultra Violet Visible</i>

INTISARI

FREITAS, RJ., 2018, EFEK EKSTRAK ETANOL BUAH JAMBLANG (*Syzygium cumini* (L.) Skeels.) TERHADAP RADIKAL BEBAS DPPH (*IN VITRO*) DAN AKTIVITAS ENZIM GLUTATION PEROKSIDASE PADA TIKUS DIABETES, SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.

Diabetes mellitus merupakan penyakit gangguan metabolisme yang ditandai dengan hiperglikemia sehingga menyebabkan autooksidasi glukosa, glikasi protein, dan aktivasi jalur sorbitol poliol yang dapat menimbulkan stres oksidatif dalam tubuh yang akan mengganggu sistem pertahanan antioksidan endogen yaitu enzim glutathione peroksidase. Buah jambang merupakan buah yang berkhasiat sebagai antioksidan dan antidiabetes. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek antioksidan buah jambang secara *in vitro* dan *in vivo*.

Ekstrak etanol buah jambang diuji aktivitas antioksidannya secara *in vitro* dengan metode penangkapan radikal bebas DPPH dengan parameter IC₅₀ dan dibandingkan dengan aktivitas antioksidan dari kuersetin. Uji antioksidan secara *in vivo* pada penelitian ini menggunakan metode peningkatan aktivitas enzim glutathione peroksidase pada jaringan hati tikus yang telah diinduksi aloksan, data dianalisa dengan metode One Way anova ($p < 0,05$) dilanjutkan uji Tukey.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol buah jambang memiliki aktivitas sebagai antioksidan. Aktivitas antioksidan ekstrak etanol buah jambang secara *in vitro* memiliki IC₅₀ sebesar 83,30 ppm, hal ini menunjukkan bahwa ekstrak buah jambang tergolong antioksidan aktif. Hasil penelitian uji secara *in vivo* menunjukkan bahwa variasi dosis 100 mg/kgbb, 200 mg/kgbb, dan 400 mg/kgbb terjadi peningkatan aktivitas enzim glutathione peroksidase namun yang signifikan dengan glibenklamid adalah dosis 400 mg/kgbb tikus.

Kata kunci: buah jambang, DPPH, glutathione peroksidase, antioksidan.

ABSTRACT

FREITAS, RJ., 2018, EFFECT OF ETHANOL EXTRACT JAMBLANG FRUIT (*Syzygium cumini* (L.) Skeels.) AGAINST FREE RADIKAL DPPH (*IN VITRO*) AND ACTIVITY OF GLUTATHIONE PEROXIDASE ENZYME IN DIABETIC MICE. THESIS, PHARMACY FACULTY, SETIA BUDI UNIVERSITY, SURAKARTA.

Diabetes mellitus is disease metabolism marked with hyperglycemia resulting in glucose auto-oxidation, protein glycation and line of sorbitol polyol activation can cause oxidative stress in the body which will interfere with the endogenous antioxidant defense system is glutathione peroxidase enzyme. The fruit of the jamblang acts as alive stock fruit that regulates as antioxidant and anti-diabetes medicine. This study aims to know the effect of jamblang fruit antioxidant *in vivo* and *in vitro*.

Ethanol extract of jamblang fruit, is tested antioxidant activity by *in vitro* with scavenger free radical DPPH method with the IC₅₀ parameter and compared with the antioxidant activity of kuersetin. Antioxidant tested by *in vivo* at this study using the method increased activity of glutathione peroxidase enzyme in tissue mice liver it has been than induction alloxan, the data obtained is analyzed a one-way anova method ($p < 0.05$) continued Tukey test.

The result of the study showed that the extract ethanol jamblang fruit had antioxidant activity. Antioxidant activity extract ethanol jamblang fruit *in vitro* have IC₅₀ as 83,30 ppm, this indicated that extract jamblang fruit classified as active antioxidant. The results at *in vivo* test shows the variation of the dose 100 mg/kg, 200 mg/kg, and 400 mg/kg had an activity to increase level of glutathione peroxidase enzyme but significant between dose 400 mg/kg rats with glibenclamide.

Keywords: jamblang fruit, DPPH, *glutathione peroxidase enzyme*, *antioxidant*.

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Diabetes mellitus (DM) sebagai salah satu penyakit yang merupakan penyakit gangguan metabolisme yang ditandai dengan hiperglikemia yang berhubungan dengan abnormalitas metabolisme karbohidrat, lemak, dan protein yang disebabkan oleh penurunan sekresi insulin atau penurunan sensitivitas insulin, atau keduanya dan menyebabkan komplikasi kronis mikrovaskular, makrovaskular, dan neuropati (Sukandar *et al.* 2008). Hiperglikemia disebabkan oleh peningkatan glukosa di hati dengan berkurangnya penggunaan glukosa di jaringan perifer karena ketidakmampuan otot dan sel adiposa untuk mengambil glukosa (Champe *et al.* 2011) sehingga dapat menyebabkan autooksidasi glukosa, glikasi protein, dan aktivasi jalur metabolisme poliol yang selanjutnya mempercepat pembentukan senyawa oksigen reaktif (Ueno *et al.* 2002).

Pembentukan senyawa oksigen reaktif tersebut dapat meningkatkan modifikasi lipid, DNA, dan protein pada berbagai jaringan. Modifikasi molekuler pada berbagai jaringan tersebut mengakibatkan ketidakseimbangan antara antioksidan protektif (pertahanan antioksidan) dan peningkatan produksi radikal bebas, hal ini merupakan awal kerusakan oksidatif yang dikenal sebagai stres oksidatif. Lebih lanjut, stres oksidatif juga memiliki kontribusi pada perburukan dan perkembangan kejadian komplikasi (Setiawan dan Suhartono 2005). Penderita diabetes melitus mengalami peningkatan stres oksidatif secara simultan diikuti oleh penurunan sistem pertahanan antioksidan, yang mengakibatkan ketidakseimbangan antara stres oksidatif dan mekanisme pertahanan antioksidan (Mustofa 2015). Adanya stres oksidatif pada diabetes dikaitkan dengan terjadinya komplikasi pada penyakit diabetes, khususnya karena pembentukan radikal bebas superoksida (Oberley 1998).

Radikal bebas merupakan suatu atom atau molekul yang mempunyai satu elektron atau lebih yang tidak berpasangan. Adanya elektron tidak berpasangan menyebabkan radikal bebas secara kimiawi bersifat reaktif. Radikal bebas yang

bersifat reaktif tersebut menimbulkan perubahan kimiawi dan merusak berbagai komponen sel hidup. Dalam tubuh manusia, radikal bebas dianggap berperan dalam proses terjadinya beberapa penyakit. Saat ini, paparan radikal bebas cukup luas di kehidupan masyarakat. Radikal bebas yang berlebihan dapat menyebabkan kerusakan protein seluler, membran lipid, asam nukleat dan menimbulkan kematian sel. Oksidasi glukosa merupakan sumber utama dari radikal bebas. Mulai dari polusi sampai makanan yang tidak sehat (Winarsi 2007).

Luasnya komplikasi pada diabetes tampak berkorelasi dengan konsentrasi glukosa darah sehingga glukosa berlebih diduga menjadi penyebab utama kerusakan jaringan (Rahbani-Nobar *et al.* 1999). Sumber stres oksidasi pada DM diantaranya perpindahan keseimbangan reaksi redoks karena perubahan metabolisme karbohidrat dan lipid yang akan meningkatkan pembentukan *Reactive Oxygen Species* (ROS) dari reaksi glikasi dan oksidasi lipid sehingga menurunkan sistem pertahanan antioksidan di antaranya glutathion tereduksi (GSH) (Halliwell dan Gutteridge 1999).

Antioksidan adalah senyawa yang dapat menangkap radikal bebas. Radikal bebas dihasilkan karena beberapa faktor seperti: asap, debu, polusi, kebiasaan mengkonsumsi makanan cepat saji yang tidak seimbang antara karbohidrat, protein dan lemaknya. Senyawa antioksidan akan mendonorkan satu elektronnya pada radikal bebas yang tidak stabil sehingga radikal bebas ini bisa dinetralkan dan tidak lagi mengganggu metabolisme tubuh. Senyawa antioksidan sintetik maupun alami (dari berbagai tanaman) mampu mengontrol kadar glukosa darah dan mencegah komplikasi diabetes, dilihat dari adanya aktivitas antioksidan dan hipoglikemik dari senyawa aktif golongan polifenol pada tanaman (Widiowati 2008). Polifenol mempunyai kemampuan untuk menghambat reaksi oksidasi dan menangkap radikal bebas. Selain itu, polifenol juga mempunyai aktivitas sebagai antioksidan dan antiradikal (Burda dan Oleszek 2001).

Pengujian aktivitas antioksidan dapat dilakukan secara *in vitro* dan *in vivo*. Pengujian secara *in vitro* dapat menggunakan metode DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazil*). Metode ini sederhana dan mudah dikerjakan. Metode DPPH memberikan informasi reaktivitas senyawa yang diuji dengan suatu radikal stabil.

Pengujian antioksidan secara *in vivo* dapat dilakukan dengan melihat status antioksidan endogen, salah satunya terhadap enzim glutathion peroksidase pada jaringan hepar tikus diabetes yang diinduksi oleh aloksan. Glutathion peroksidase sebagai enzim peredam (*quenching*) radikal bebas merupakan enzim yang berperan penting dalam melindungi organisme dari kerusakan oksidatif (Sen *et al.* 2010).

Salah satu tanaman yang memiliki potensi sebagai antioksidan alami untuk pengobatan penyakit degeneratif, salah satunya DM adalah buah jamblang (*Syzygium cumini* (L.) Skeels.). Tumbuhan jamblang di Indonesia saat ini tergolong ke dalam tumbuhan langka. Kurangnya pembudidayaan tumbuhan tersebut, merupakan salah satu faktor utama terkait dengan kelangkaannya. Buah jamblang digunakan oleh masyarakat Indonesia sebagai obat tradisional untuk antidiabetes masih kurang informasi ilmiahnya, maka pada penelitian ini perlu dilakukan pengujian aktivitas antioksidan ekstrak etanol buah jamblang terhadap radikal bebas DPPH dan aktivitas enzim glutathion peroksidase pada tikus diabetes. Buah jamblang yang berasa sepat dan masam, mengandung beberapa senyawa golongan polifenol seperti halnya tanin, antosianin, glukosa, fruktosa, asam sitrat, sianidin diglikosida, petunidin, dan malvidin (Ayyinar dan Ramya 2012)

Berdasarkan penelitian sebelumnya bahwa senyawa-senyawa yang mempunyai potensi sebagai antioksidan umumnya merupakan senyawa flavonoid, fenol dan alkaloid. Senyawa flavonoid dan polifenol bersifat antioksidan, antidiabetes, antikanker, antiseptik dan antiinflamasi, sedangkan alkaloid mempunyai sifat antineoplastik yang juga ampuh menghambat pertumbuhan sel-sel kanker (Atta *et al.* 2001). Hasil penapisan fitokimia yang diperoleh dari penelitian sebelumnya bahwa buah jamblang positif mengandung flavanoid, kuinon, steroid dan polifenol (Marliani *et al.* 2014).

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang dikemukakan di atas dapat dirumuskan permasalahan sebagai berikut :

Pertama, apakah ekstrak etanol buah jamblang memiliki aktivitas antioksidan terhadap radikal bebas DPPH ?

Kedua, apakah ekstrak etanol buah jamblang mampu meningkatkan aktivitas enzim glutathione peroksidase pada tikus yang diinduksi aloksan?

Ketiga, berapakah dosis ekstrak etanol buah jamblang yang dapat meningkatkan aktivitas enzim glutathione peroksidase?

C. Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah :

Pertama, menghitung nilai IC_{50} ekstrak etanol buah jamblang sebagai antioksidan terhadap radikal bebas DPPH.

Kedua, mengukur aktivitas enzim glutathione peroksidase pada tikus yang diinduksi aloksan.

Ketiga, mengetahui dosis ekstrak etanol buah jamblang yang dapat meningkatkan aktivitas enzim glutathione peroksidase.

D. Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi atau pengetahuan bagi masyarakat umum, mengenai khasiat dari ekstrak etanol buah jamblang sebagai salah satu obat alternatif untuk penderita penyakit diabetes mellitus sehingga tanaman jamblang dapat dibudidayakan sebagai tanaman obat. Menambah referensi serta bahan acuan untuk penelitian lebih lanjut mengenai ekstrak etanol buah jamblang sebagai anti-diabetes.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Jamblang

1. Klasifikasi

Taksonomi lengkap tanaman jamblang (*Syzygium cumini* (L.) Skeels.) (Herbie 2015) sebagai berikut :

Kingdom : Plantae
Divisi : Angiospermae
Class : Dicotyledonae
Ordo : Myrtales
Famili : Myrtaceae
Genus : Syzygium
Spesies : (*Syzygium cumini*)

2. Nama lain

Tanaman jamblang memiliki nama lain diantaranya : jambe kleng (Aceh), jambu kling (Gayo), jambu kalang (Minangkabau), jambelang (Melayu), jamblang (Sunda), duwet (Jawa), juwet (Jakarta), Duwak (Madura), juwet (Bali), klayu (Sasak), duwe (Bima), jambulan (Flores), jumblang (Mongondow), Ropo-ropo (Makasar), alicopeng (Bugis) (Herbie 2015).

3. Morfologi Tanaman

Pohon jamblang kokoh dan memiliki tinggi 10-20 m ini berbatang tebal, tumbuhnya bengkok, dan bercabang banyak. Daun tunggal, tebal, tangkai daun 1-3,5 cm. Helaian daun lebar bulat memanjang atau bulat telur terbalik, pangkal lebar berbentuk baji, tepi rata, pertulangan menyirip, permukaan atas mengilap, panjang 7-16 cm, lebar 5-9 cm, warnanya hijau.

Bunga majemuk bentuk malai dengan cabang yang berjauhan, bunga duduk, tumbuh di ketiak daun dan diujung percabangan, kelopak bentuk lonceng berwarna hijau muda, mahkota bentuk bulat telur, benang sari banyak, berwarna putih, dan baunya harum.

Buahnya buah buni, lonjong, panjang 2-3 cm, masih muda hijau, setelah masak warnanya merah tua keunguan. Biji satu, bentuk lonjong, keras, warnanya putih. Berakar tunggang, bercabang-cabang, berwarna coklat muda (Herbie 2015).



Gambar 1. Tanaman Jamblang

4. Kegunaan tanaman

Tumbuhan (*Syzygium cumini* (L.) Skeels.) digunakan sebagai obat tradisional beraneka ragam penyakit. Kulit batang digunakan juga untuk obat anemia, buah untuk diare, disentri, sementara daunnya juga digunakan sebagai anti-bakteri, pembuatan parfum (Shafi *et al.* 2002). Daun digunakan untuk diabetes dan alergi, biji buah jamblang dapat digunakan untuk antiinflamasi dan anti-bakteri. Kegunaan lain tanaman jamblang adalah daun dapat digunakan sebagai pakan, bunga mengandung banyak nektar dengan kualitas yang baik, kulit kayu yang berasa sepat dapat digunakan sebagai obat kumur dan untuk pewarna, tepung bijinya bermanfaat untuk mengobati kencing manis, disentri, diare, diuretik, dan penyakit lainnya. Selain itu tanaman jamblang untuk kesehatan juga sudah diteliti secara ilmiah. Kulit batang tanaman memiliki aktivitas antibakteri. Biji digunakan untuk pengobatan diabetes. Selain itu, buah duwet juga menunjukkan aktivitas antioksidan (Banerjee *et al.* 2005). Bagian daun juga digunakan untuk pengobatan diabetes (Teixeira *et al.* 1997).

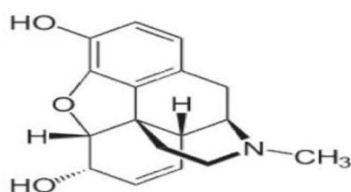
Buah jamblang mengandung antosianin, delphinidin, petunidin, malvidin-diglukosida, yang bertanggung jawab pada warna ungu buah jamblang (Ramya *et al.* 2012). Antosianin dari buah duwet terdiri dari delphinidin-3,5-diglukosida, petunidin-3,5-diglukosida, malvidin-3,5-diglukosida, sianidin-3,5-diglukosida,

dan peonidin-3,5 diglukosida (Sari *et al.* 2009). Flavonoid yang termasuk kelompok polifenol telah banyak diteliti dan dilaporkan menunjukkan kemampuan sebagai senyawa antioksidan (Brown & Kelly 2007).

B. Tinjauan Fitokimia

1. Alkaloid

Alkaloid merupakan suatu golongan senyawa organik yang terbanyak ditemukan di alam. Hampir seluruh alkaloid berasal dari berbagai jenis tumbuhan. Semua alkaloid mengandung atom nitrogen yang bersifat basa dan merupakan bagian dari cincin heterosiklik dalam ikatan primer, sekunder, atau kuartener dan bersifat basa, serta pada umumnya berasa pahit dan mempunyai aksi farmakologi tertentu (Robinson 1995). Alkaloid merupakan zat golongan tumbuhan sekunder yang terbesar. Alkaloid mempunyai kegiatan fisiologi yang menonjol dan sering digunakan secara luas dalam bidang pengobatan (Harborne 1987). Alkaloid terbukti mempunyai kemampuan regenerasi sel β pankreas yang rusak (Arjadi dan Susatyo 2010).



Gambar 2. Struktur kimia alkaloid

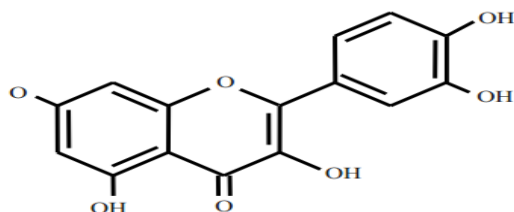
2. Saponin

Saponin merupakan glikosida yang aglikonnya berupa sapogenin, tersebar luas di tanaman tinggi. Saponin dapat dideteksi dengan pembentukan larutan koloidal dengan air yang apabila digojog menimbulkan buih yang stabil (Gunawan dan Mulyani 2007). Saponin larut dalam air dan etanol tetapi tidak larut dalam eter (Robinson 1995). Saponin mempunyai bagian utama berupa turunan triterpen dengan sedikit steroid. Residu gula dihubungkan oleh gugus OH biasanya C₃-OH dari aglikon (*monodesmoside saponin*) dan jarang dengan 2 gugus OH atau satu gugus OH dan satu gugus karboksil (Mustarichie *et al.* 2011). Saponin (triterpenoid, steroidal glikosides) mempunyai aktivitas menstimulasi

pelepasan insulin dan memblokir pembentukan glukosa dalam aliran darah (Bhushan *et al.* 2010).

3. Flavonoid

Flavonoid merupakan bagian dari senyawa fenolik, golongan ini memberikan warna pada buah dan bunga. Flavonoid adalah senyawa fenolik yang terhidroksilasi dan merupakan senyawa $C_6-C_3-C_6$ dimana C_6 diganti dengan cincin benzene dan C_3 adalah rantai alifatik yang terdiri dari cincin piran. Ada 7 tipe flavonoid yaitu flavon, flavanon, flavonon, flavanol, khalkon, antosianin, dan isoflavon (Mustarichie *et al.* 2011). Flavonoid tersebut dapat bersifat sebagai antidiabetes karena flavonoid mampu berperan sebagai senyawa yang menekan kadar glukosa dan meningkatkan aktivitas glukokinase hepatic dengan meningkatkan pelepasan insulin dari pankreas (Bhushan *et al.* 2010).



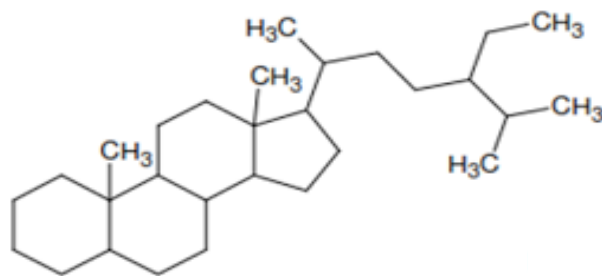
Gambar 3. Struktur kimia flavonoid

4. Tanin

Tanin adalah senyawa polifenol yang memiliki berat molekul cukup tinggi (>1000) dan dapat membentuk kompleks dengan protein. Tanin terdapat luas dalam tumbuhan pembuluh. Tanin adalah golongan bahan yang memberikan rasa kesat dan pahit. Sifat utama tanin adalah mampu berikatan dengan protein (Heinrich 2009). Tanin memiliki aktivitas dalam menurunkan kadar glukosa darah yaitu dengan meningkatkan glikogenesis. Selain itu, tanin juga berfungsi sebagai adstringen atau pengkelat yang dapat mengerutkan membran epitel usus halus sehingga mengurangi penyerapan sari makanan dan menghambat asupan gula sehingga laju peningkatan gula darah tidak terlalu tinggi (Meidiana dan Widjanarko 2014).

5. Steroid

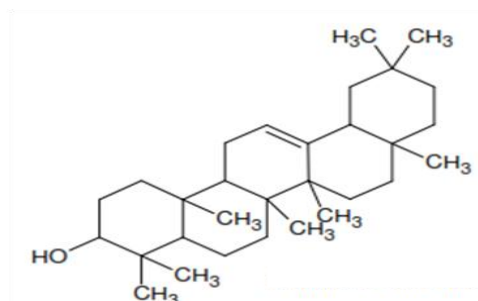
Steroid adalah suatu golongan senyawa triterpenoid yang mengandung inti siklopentana perhidrofenantren yaitu dari tiga cincin sikloheksana dan sebuah cincin siklopentana. Dahulu sering digunakan sebagai hormon kelamin, asam empedu dan lain-lain. Tetapi pada tahun-tahun terakhir ini makin banyak senyawa steroid yang ditemukan dalam jaringan tumbuhan. Tiga senyawa yang biasa disebut fitosterol terdapat pada hampir setiap tumbuhan tinggi yaitu : sitosterol, stigmasterol, dan kampesterol (Harborne 1987; Robinson 1995).



Gambar 4. Struktur kimia steroid

6. Triterpenoid

Triterpenoid merupakan senyawa yang diturunkan dari skualena dengan kerangka karbon berasal dari enam satuan isoprena. Paling sedikit ada empat golongan senyawa yang termasuk triterpenoid yaitu triterpen, steroid, saponin, dan glikosida jantung (Harborne 1987). Senyawa ini merupakan komponen aktif dalam tumbuhan obat yang telah digunakan untuk penyakit diabetes (Robinson 1995).



Gambar 5. Struktur kimia triterpenoid

C. Simplisia

1. Pengertian

Simplisia adalah bahan alami yang digunakan sebagai bahan obat dan belum mengalami perubahan proses apapun, kecuali dinyatakan lain, berupa bahan yang telah dikeringkan.

Simplisia terdiri atas tiga golongan yaitu simplisia nabati, simplisia hewani, dan simplisia pelikan atau mineral. Simplisia nabati adalah simplisia yang dapat berupa tanaman utuh, bagian tanaman, eksudat tanaman, atau gabungan dari ketiganya. Simplisia hewani adalah simplisia berupa hewan utuh atau zat-zat berguna yang dihasilkan oleh hewan dan belum berupa bahan kimia murni. Simplisia pelikan atau mineral adalah simplisia berupa bahan pelikan atau mineral yang belum diolah atau telah diolah dengan cara sederhana dan tidak berupa bahan kimia murni (Gunawan dan Mulyani 2004).

2. Pengumpulan

Bagian simplisia yang diambil dari tanaman, misalnya daun, bunga, buah, akar atau rimpang karena zat berkhasiat tidak terdapat pada seluruh bagian dari tanaman. Kadangkala ada bagian dari tanaman justru beracun dan tidak dikehendaki. Bila yang dikumpulkan buah sebaiknya tidak tercampur dengan bagian lain dari tanaman seperti daun, bunga, atau tangkai. Pengumpulan simplisia juga perlu memperhatikan kondisi khusus, misalnya pemanenan buah yang dilakukan sewaktu buah masih muda atau ketika sudah masak (Dalimartha 2008).

3. Pencucian dan pengeringan

Pencucian simplisia bertujuan untuk melepaskan kotoran (tanah, debu, dan kotoran lainnya) yang melekat pada tanaman obat sehingga mikroba atau kotoran yang dapat merusak dan mengubah komposisi zat pada tanaman dapat dihilangkan. Proses pencucian dilakukan dengan cara mengalirkan air bersih pada simplisia sehingga kotoran dapat terlarut dan terbuang. Kualitas air yang digunakan untuk membersihkan simplisia harus air bersih yang tidak mengandung mikroba atau logam, air yang digunakan disarankan dengan air tanah yang bersih (Dalimartha 2008).

Pengeringan simplisia bertujuan mengurangi kadar air simplisia, sehingga simplisia tidak mudah rusak, berjamur, atau kandungan bahan aktif berubah jika disimpan dalam waktu cukup lama. Sebelum proses pengeringan, simplisia seperti rimpang, batang, atau kulit kayu dipotong kecil-kecil untuk mempercepat proses pengeringan. Pengeringan dilakukan secara alami, dilakukan dengan menjemur di bawah sinar matahari langsung. Simplisia ini dihamparkan merata setipis mungkin dengan alas tikar atau plastik dengan sambil sering dibalik agar keringnya merata (Dalimartha 2008).

D. Ekstraksi

1. Pengertian

Ekstraksi adalah kegiatan penarikan senyawa zat aktif yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut dengan pelarut cair. Simplisia yang diekstrak mengandung senyawa aktif yang dapat larut dan senyawa yang tidak dapat larut seperti serat, karbohidrat, protein, dan lain-lain (Depkes 2000).

Pemilihan penyari harus mempertimbangkan banyak faktor. Cairan penyari yang baik harus memenuhi kriteria-kriteria : murah, stabil secara fisika dan kimia, netral dan tidak mudah terbakar, selektif, tidak mempengaruhi zat berkhasiat (Anonim 1993).

2. Ekstrak

Ekstrak adalah sediaan pekat yang diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (Depkes RI 1995).

Menurut Farmakope Indonesia edisi III, ekstrak terdiri dari tiga macam yaitu ekstrak cair, ekstrak kental dan ekstrak kering. Ekstrak cair adalah ekstrak yang diperoleh dari hasil penyarian bahan alam masih mengandung larutan penyari. Ekstrak kental adalah ekstrak yang telah mengalami proses penguapan, dan tidak mengandung cairan penyari lagi, tetapi konsistensinya tetap cair pada suhu kamar. Ekstrak kering adalah ekstrak yang telah mengalami proses

penguapan dan tidak mengandung pelarut lagi dan mempunyai konsistensi padat (berwujud kering).

3. Maserasi

Maserasi merupakan metode sederhana yang paling banyak digunakan. Metode ini dilakukan dengan memasukkan serbuk tanaman dan pelarut yang sesuai ke dalam wadah inert yang tertutup rapat pada suhu kamar. Proses ekstraksi dihentikan ketika tercapai kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel tanaman. Setelah proses ekstraksi, pelarut dipisahkan dari sampel dengan penyaringan. Kerugian utama dari metode maserasi ini adalah memakan banyak waktu, pelarut yang digunakan cukup banyak, dan besar kemungkinan beberapa senyawa hilang. Selain itu, beberapa senyawa akan sulit diekstraksi pada suhu kamar. Namun di sisi lain, metode maserasi dapat menghindari rusaknya senyawa-senyawa yang bersifat termolabil (Mukhrani 2014).

4. Pelarut

Pelarut yang digunakan dalam ekstraksi harus dipilih berdasarkan kemampuannya dalam melarutkan jumlah yang maksimum dari zat aktif dan seminimum mungkin bagi unsur yang tidak diinginkan. Pelarut yang biasa digunakan adalah air, eter, etanol atau campuran etanol dan air. Pelarut yang digunakan pada penelitian ini adalah etanol 96% yang berarti 96% etanol dan 4% air. Etanol merupakan penyari yang universal untuk metabolit sekunder sedangkan air untuk menyari metabolit primer seperti asam amino, protein dan karbohidrat (Saputra 2016). Robinson (2005) menyatakan suatu senyawa fenol dengan gugus hidroksil yang memiliki sifat polar dapat diekstraksi menggunakan pelarut polar yaitu etanol 96%.

E. Diabetes Mellitus

Diabetes mellitus adalah suatu kelompok penyakit metabolik dengan karakteristik hiperglikemia yang terjadi karena kelainan sekresi insulin, kerja insulin maupun kedua-duanya. Gejala yang timbul disebabkan oleh adanya

peningkatan kadar glukosa darah akibat penurunan sekresi insulin (Soegondo 2013).

1. Klasifikasi

Jenis diabetes mellitus menurut organisasi kesehatan dunia (WHO) yaitu :

1.1 Diabetes mellitus tipe 1. Diabetes mellitus tipe 1 (Diabetes Mellitus yang tergantung insulin [*Insulin Dependent Diabetes Mellitus/IDDM*]) merupakan 5-10 persen dari semua kasus diabetes mellitus, biasanya ditemukan pada anak atau orang dewasa dan tidak ada pembentukan insulin sehingga penderita memerlukan suntikan insulin setiap hari. Pada diabetes mellitus tipe 1 terjadi pada sel β Langerhans sehingga mengakibatkan produksi insulin berhenti atau sedikit sekali (Nugroho 2012).

1.2 Diabetes mellitus tipe 2. Diabetes mellitus tipe 2 yaitu adanya resistensi insulin atau gangguan sekresi insulin. Pada tipe 2 ini tidak selalu dibutuhkan insulin, kadang-kadang cukup dengan diet dan antidiabetik oral. Karenanya tipe ini sering disebut dengan *noninsulin dependent diabetes mellitus* atau NIDDM. Disebabkan oleh dua hal yaitu respon jaringan terhadap insulin atau sering disebut dengan resistensi insulin dan penurunan produksi insulin akibat regulasi sekresinya terganggu atau terjadi kerusakan fungsional pada sel β Langerhans. Sebagian besar penderita diabetes mellitus tipe 2 disebabkan karena kegemukan karena kelebihan makanan (Nugroho 2012).

Patogenesis diabetes mellitus tipe 2 lebih sedikit diketahui, meskipun tipe ini sering ditemukan. Pada diabetes tipe ini dapat terjadi akibat efek genetik dan juga dipengaruhi oleh lingkungan. Dua efek metabolisme yang menandai diabetes mellitus tipe 2 adalah gangguan sekresi insulin pada sel β dan ketidakmampuan jaringan perifer merespon insulin.

1.3 Diabetes mellitus gestasional. Diabetes mellitus yang terjadi pada kehamilan toleransi terhadap glukosa secara normal berfluktuasi selama kehamilan. Sebagian besar perempuan dengan diabetes mellitus gestasional memperlihatkan pemulihan kadar glukosa normal setelah persalinan (Sacher dan Mc Pherson 2004).

1.4 Diabetes mellitus lain. Diabetes mellitus tipe lain merupakan diabetes mellitus yang timbul akibat penyakit lain yang mengakibatkan gula darah meningkat misalnya infeksi berat, pemakaian obat kortikosteroid dan lain-lain. Dalam klasifikasi diabetes mellitus ini individu mengalami hiperglikemia akibat kelainan spesifik seperti kelainan genetik fungsi sel β dan endokrinopati (Nabyl 2012).

2. Gejala

Gejala Diabetes Mellitus dapat digolongkan menjadi gejala akut dan gejala kronik (Parkeni 2011).

2.1 Gejala akut diabetes mellitus. Permulaan gejala yang ditunjukkan oleh penderita DM meliputi serba banyak (poli) yaitu banyak makan (poliphagi), banyak minum (polidipsi) dan banyak kencing (poliuri). Gejala utama penderita diabetes yaitu poliuri (peningkatan pengeluaran urin) karena air mengikuti glukosa yang keluar melalui urin (Corwin 2009). Keadaan tersebut jika tidak segera diobati maka akan timbul gejala banyak minum, banyak kencing, nafsu makan mulai berkurang atau berat badan turun dengan cepat (turun 5-10 kg dalam 2-4 minggu), mudah lelah dan apabila tidak lekas diobati akan timbul rasa mual, bahkan penderita akan jatuh koma yang disebut dengan koma diabetik (Parkeni 2011).

2.2 Gejala kronik diabetes mellitus. Gejala kronik yang sering dialami oleh penderita DM adalah kesemutan, kulit terasa panas, atau seperti tertusuk-tusuk jarum, rasa tebal di kulit, kram, capai, mudah mengantuk, mata kabur, biasanya sering ganti kacamata, gatal sekitar kemaluan terutama wanita, gigi mudah goyah dan mudah lepas, kemampuan seksual menurun, bahkan impotensi dan para ibu hamil sering mengalami keguguran atau kematian janin dalam kandungan, atau dengan bayi berat lahir lebih dari 4 kg (Soegondo 2013).

3. Diagnosis

Diagnosa DM harus didasarkan atas pemeriksaan kadar gula darah. Uji diagnostik DM dilakukan pada mereka yang menunjukkan gejala DM. Kepastian diagnostik diabetes mellitus umumnya berdasarkan adanya gejala dan keluhan serta hasil pemeriksaan glukosa darah sewaktu ≥ 200 mg/dl (dalam plasma) dan

kadar gula darah puasa ≥ 126 mg/dl dan ≥ 110 mg/dl (darah kapiler) (Sudoyo *et al.* 2006).

Pemeriksaan yang dapat dilakukan untuk mendiagnosis diabetes mellitus antara lain adalah pemeriksaan urin untuk mendeteksi adanya glukouria. Pemeriksaan darah yang meliputi glukosa darah puasa, glukosa darah sewaktu, tes toleransi glukosa oral (TTGO), glukosa darah kapiler dan tes glikohemoglobin (HbA1c) (Porth dan Matfin 2009).

4. Manifestasi klinik

Penderita diabetes mellitus tipe 1 biasanya memiliki tubuh yang kurus dan cenderung berkembang menjadi diabetes ketoasidosis karena insulin sangat kurang disertai peningkatan hormon glukagon. Sejumlah 20-40% pasien mengalami diabetes ketodiasis setelah beberapa hari mengalami poliuria (pengeluaran urin secara berlebihan), polidipsi (minum air secara berlebihan), poliphagi (makan secara berlebihan) dan kehilangan berat badan (Sukandar *et al.* 2008).

Pasien dengan diabetes mellitus tipe 2 sering asimptomatik. Munculnya komplikasi dapat mengindikasikan bahwa pasien telah menderita diabetes mellitus selama bertahun-tahun, umumnya muncul neuropati dan terdeteksi letargi, poliuri, nokturia dan polidipsi sedangkan penurunan bobot badan secara signifikan jarang terjadi (Sukandar *et al.* 2008).

5. Stres oksidatif pada diabetes

Pada DM pertahanan antioksidan dan sistem perbaikan seluler akan terangsang sebagai respon tantangan oksidatif (Nuttal *et al.* 1999). Sumber stres oksidatif yang terjadi berasal dari peningkatan produksi radikal bebas akibat autooksidasi glukosa, penurunan konsentrasi antioksidan berat molekul rendah di jaringan, dan gangguan aktivitas pertahanan antioksidan enzimatik (Kowluru 2001). Kemaknaan stres oksidatif pada patologi penyakit sering tidak tentu (Halliwell dan Gutteridge 1999). Dengan demikian stres oksidatif dan gangguan pertahanan antioksidan merupakan keistimewaan DM yang terjadi sejak awal penyakit. Di samping itu, stres oksidatif juga memiliki kontribusi pada perburukan dan perkembangan kejadian komplikasi. Beberapa studi mengungkapkan

penurunan status antioksidan dalam plasma dan serum sampel dibandingkan kontrol berdasarkan usia. Fenomena ini dapat terjadi sejak anak-anak serta berjalan secara progresif dan memburuk sesuai perjalanan waktu dan berkembangnya komplikasi (Nuttal *et al.* 1999).

Diabetes pada anak ditemukan penurunan glutathion eritrosit, glutathion total, α -tokoferol plasma, dan β -karoten plasma secara bermakna. Penurunan berbagai antioksidan tersebut terkait dengan pembentukan senyawa penanda adanya stres oksidatif, misalnya peningkatan lipid hidroperoksida, diena terkonjugasi, dan protein karbonil secara bermakna (Haffner 1999). Pada diabetes usia 50-60 tahun ditemukan peningkatan peroksidasi lipid sejak onset diabetes.

DM merupakan salah satu kelainan metabolik yang dapat menimbulkan komplikasi vascular dan nonvascular. Salah satu hipotesis penyebab munculnya berbagai komplikasi tersebut adalah stres oksidatif. Pada diabetes terdapat tiga jalur munculnya stres oksidatif, yaitu autooksidasi glukosa, glikasi protein nonenzimatik, dan jalur poliol sorbitol (aldose reduktase).

5.1 Autooksidasi glukosa. Proses autooksidasi glukosa dikatalisis oleh senyawa logam dalam jumlah kecil seperti besi dan seng. Hasil katalisis tersebut adalah senyawa oksigen reaktif. Autooksidasi glukosa terjadi pada fase I proses glikasi nonenzimatik pada protein yang secara alamiah masih bersifat reversibel. Fase ini merupakan sumber hidrogen peroksida yang mampu menghambat CuZn SOD, selain hidrogen peroksida, radikal superoksida juga dihasilkan oleh proses autooksidasi glukosa tersebut serta terkait dengan pembentukan protein glikasi dalam plasma penderita diabetes. Akibat yang ditimbulkan berupa peningkatan aktivitas radikal superoksida serta kerusakan enzim superoksida dismutase (Soesilowati 2003).

5.2 Glikasi protein nonenzimatik. Keadaan hiperglikemia menyebabkan produksi berbagai pereduksi antara lain glukosa, glukosa-6-fosfat, dan fruktosa akan meningkat melalui proses glikolisis dan jalur poliol. Glukosa sebagai gula pereduksi dapat menjadi agen yang bersifat toksik. Sifat toksik tersebut disebabkan oleh kemampuan kimiawi gugus karbonil aldehyd yang dimilikinya. Meskipun sebagian besar keberadaan gula pereduksi dalam larutan sebagai

struktur cincin nonaldehid, glukosa dalam bentuk rantai lurus merupakan aldehid (Rahbani-Nobar *et al.* 1999). Aldehid merupakan senyawa yang mampu berikatan secara kovalen sehingga terjadi modifikasi protein. Modifikasi protein dapat dibangkitkan dalam tubuh melalui berbagai mekanisme enzimatik dan nonenzimatik (Anderson *et al.* 1999).

Selain glukosa, semua jenis gula pereduksi juga mampu menyebabkan reaksi glikasi pada bermacam protein, target kerusakan lain adalah lipid-amino seperti *fosfatidiletanolamin*, dan DNA (Rahbani-Nobar *et al.* 1999). Reaksi pengikatan aldehid pada protein dikenal sebagai reaksi glikasi. Hewan dengan diabetes, proses glikasi dapat teramati secara luas pada berbagai organ dan jaringan termasuk ginjal, hati, otak, paru dan saraf secara keseluruhan, perubahan kimia ini dikenal sebagai reaksi Maillard.

Reaksi Maillard dapat terjadi pada kondisi penuaan fisiologis *in vivo* sebaik kondisi *in vitro* serta meningkat pada keadaan hiperglikemia (Ueno *et al.* 2002). Selain itu reaksi maillard juga berkaitan dengan komplikasi kronik DM. Reaksi ini secara umum terdiri atas 4 tahap, meliputi kondensasi nonenzimatik gula pereduksi, aldehid atau ketosa dengan gugus amino bebas dari protein atau asam nukleat membentuk glikosilamin. Reaksi ini dikenal sebagai fase satu serta secara alamiah bersifat reversibel dan terjadi dalam beberapa jam (kurang dari 24 jam). Selanjutnya pada fase kedua akan terjadi penataan ulang glikosilamin menjadi produk Amadori. Reaksi ini terjadi akibat kadar glukosa yang masih tinggi dalam waktu lebih dari 24 jam. Produk Amadori tersebut bersifat toksik bagi jaringan namun masih reversible. Kadar produk Amadori pada sejumlah protein meningkat sebanding dengan derajat hiperglikemia pada DM, kemudian pada fase ketiga, penataan ulang dan dehidrasi berganda produk Amadori menjadi amino atau senyawa karbonil reaktivitas tinggi seperti 3-deoxyglucosane. Fase terakhir reaksi antara senyawa karbonil dengan gugus amino lain dilanjutkan proses penataan ulang membentuk beragam *advance glycosylation end products* (AGE-product/AGEs) sebagai petunjuk *cross linking* dan *browning* pada protein (Soesilowati 2003).

AGEs merupakan salah satu produk penanda modifikasi protein sebagai akibat reaksi gula pereduksi terhadap asam amino. Akumulasi AGEs di berbagai jaringan merupakan sumber utama radikal bebas yang mampu berperan dalam peningkatan stres oksidatif, serta terkait dengan patogenesis komplikasi diabetes mirip pada penuaan yang normatif. Pada diabetes, akumulasi AGEs secara umum mempercepat terjadinya aterosklerosis, nefropati, neuropati, retinopati, serta katarak. Pengikatan AGEs terhadap reseptor makrofag spesifik (RAGE) mengakibatkan sintesis sitokin dan faktor pertumbuhan serta peningkatan stres oksidatif (Ueno *et al.* 2002; Beckett dan Kalsi 2003).

5.3 Jalur poliol-sorbitol (aldose reduktase). Normoglikemia, sebagian besar glukosa seluler mengalami fosforilasi menjadi glukosa-6-fosfat oleh enzim heksokinase. Bagian kecil dari glukosa yang tidak mengalami fosforilasi memasuki jalur poliol, yakni jalur alternatif metabolisme glukosa (Ueno *et al.* 2002). Melalui jalur ini, glukosa dalam sel dapat diubah menjadi sorbitol dengan bantuan enzim aldose reduktase (AR) (Nishimura 1998). Enzim aldose reduktase dapat ditemukan pada sejumlah jaringan mamalia termasuk lensa dan retina. Enzim tersebut mengkonversi glukosa menjadi polialkohol sorbitol dan retina. Enzim tersebut mengkonversi glukosa menjadi polialkohol sorbitol melalui reduksi gugus aldehid glukosa (Rahbani-Nobar *et al.* 1999).

Dalam keadaan normal, konsentrasi sorbitol di dalam sel rendah. Akan tetapi, apabila terjadi keadaan hiperglikemia konsentrasi sorbitol meningkat. Sorbitol dengan bantuan enzim sorbitol dehydrogenase (SDH), akan diubah menjadi fruktosa. Degradasi sorbitol ini berjalan lambat sehingga sorbitol menumpuk dalam sel, sehingga dapat menyebabkan peningkatan tekanan osmotik dan selanjutnya dapat merusak sel (Nishimura 1998).

Masuknya substrat (substrat flux) melalui jalur poliol, selain dapat meningkatkan kadar sorbitol dan fruktosa intraseluler, juga menurunkan rasio NADPH terhadap NADP⁺. Selain itu, rasio NADH terhadap NAD⁺ sitosolik juga menurun. Berkurangnya NADPH di dalam sel akibat meningkatnya AR dapat menghambat aktivitas enzim lain yang membutuhkan NADPH.

F. Antioksidan

1. Pengertian

Antioksidan adalah sebuah molekul yang dapat mencegah oksidasi molekul lain, berperan penting dalam melindungi sel dari kerusakan dengan kemampuan memblokir proses kerusakan oksidatif yang disebabkan oleh radikal bebas. Antioksidan merupakan molekul yang mampu menstabilkan radikal bebas sebelum menyerang sel, juga dapat menghambat ataupun menunda oksidasi (Zalukhu *et al.* 2016). Antioksidan melindungi sel dari kerusakan radikal bebas dengan menyumbangkan elektron ke radikal bebas sehingga menstabilkan dan menghentikan reaksi berantai, atau dengan menerima satu elektron tidak berpasangan bertujuan untuk menstabilkan radikal bebas dan mencegah kerusakan protein, DNA dan lipid. Antioksidan menyumbangkan elektron pada radikal bebas untuk menghentikan reaksi berantai, antioksidan itu sendiri berubah menjadi radikal bebas. Reaktivitas dari antioksidan tidak seaktif radikal bebas sehingga tidak berbahaya dan dapat dinetralkan dengan antioksidan lain (Draeos 2010).

2. Klasifikasi

2.1 Secara umum.

2.1.1 Antioksidan endogen. Antioksidan endogen yaitu sejumlah komponen protein dan enzim yang disintesis dalam tubuh yang berperan dalam menangkal oksidasi oleh radikal bebas yang terdiri dari katalase, superoksida dismutase, serta protein yang berikatan dengan logam seperti transferin dan seruloplasmin. Antioksidan endogen dibagi menjadi dua kelompok antioksidan enzimatis dan antioksidan non-enzimatis. Antioksidan enzimatis seperti enzim superoksida dismutase (SOD), katalase dan glutathion peroksidase (GPx). Sedangkan antioksidan non-enzimatis dibagi menjadi dua kelompok lagi yaitu antioksidan larut lemak seperti tokoferol, karotenoid, flavonoid, quinon, bilirubin dan antioksidan larut air seperti asam askorbat, asam urat, protein pengikat logam, dan protein pengikat heme.

2.1.2 Antioksidan eksogen. Antioksidan eksogen bersumber dari makanan terdiri atas tokoferol (vitamin E), asam askorbat (vitamin C), karotenoid

dan flavonoid. Antioksidan jenis eksogen ini dapat dimodifikasi dengan makanan dan suplemen (Winarsi 2007).

2.2 Berdasarkan mekanisme kerjanya.

2.2.1 Antioksidan primer. Antioksidan primer disebut juga antioksidan enzimatis, suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan primer, apabila dapat memberikan atom hidrogen secara cepat kepada senyawa radikal, kemudian radikal antioksidan yang terbentuk segera berubah menjadi senyawa yang lebih stabil. Antioksidan primer bekerja dengan cara mencegah pembentukan senyawa radikal bebas baru atau mengubah radikal bebas yang telah terbentuk menjadi molekul yang kurang reaktif (Youngson 2005).

2.2.2 Antioksidan sekunder. Antioksidan sekunder disebut juga antioksidan eksogenus atau antioksidan non-enzimatis. Antioksidan dalam kelompok ini juga disebut sistem pertahanan preventif. Dalam sistem pertahanan ini, terbentuknya senyawa oksigen reaktif dihambat dengan cara pengkelatan metal atau dirusak pembentukannya, pengkelatan metal terjadi dalam cairan ekstraselular. Antioksidan non-enzimatis dapat berupa komponen non-nutrisi dan komponen nutrisi dari sayuran dan buah-buahan. Kerja sistem antioksidan non-enzimatis yaitu dengan cara memotong reaksi oksidasi berantai dari radikal bebas atau dengan cara menangkapnya akibatnya radikal bebas tidak akan bereaksi dengan komponen selular.

Antioksidan sekunder meliputi vitamin C, vitamin E, karoten, flavonoid, asam urat, bilirubin dan albumin. Senyawa antioksidan non-enzimatis bekerja dengan cara menangkap radikal bebas (*free radical scavenger*), kemudian mencegah reaktivitasnya. Ketika jumlah radikal bebas berlebihan, kadar antioksidan non-enzimatis yang dapat diamati dalam cairan biologis menurun (Youngson 2005).

2.2.3 Antioksidan tersier. Antioksidan tersier meliputi enzim DNA-*repair* dan metionin sulfoksida reduktase. Enzim-enzim ini berfungsi dalam perbaikan biomolekuler yang rusak akibat reaktivitas radikal bebas (Youngson 2005).

Tabel 1. Tingkat Kekuatan Antioksidan

Intensitas	Nilai IC₅₀ (ppm)
Kuat	< 50
Aktif	50-100
Sedang	101-250
Lemah	250-500
Tidak aktif	>500

(Sumber : Jun *et al.* 2003)

3. Mekanisme kerja

Mekanisme antioksidan dalam menghambat oksidasi atau menghentikan reaksi berantai pada radikal bebas dari lemak yang teroksidasi, dapat disebabkan oleh empat mekanisme reaksi, yaitu pelepasan hidrogen dari antioksidan, pelepasan elektron dari antioksidan, adisi lemak ke dalam cincin aromatik pada antioksidan dan pembentukan senyawa kompleks antara lemak dan cincin aromatik dari antioksidan (Ketaren 1986).

Radikal bebas dapat berkurang dan diubah menjadi air dengan kerjasama tiga enzim antioksidan utama atau antioksidan endogen yaitu SOD, CAT dan GPx. SOD mengkatalis O_2 ke H_2O_2 (langkah pertama), selanjutnya catalase dan glutathion peroksidase mengubah H_2O_2 menjadi H_2O oleh dua jalur yang berbeda. Jika tidak dicegah maka radikal hidroksil dari hidroperoksida akan mengakibatkan kerusakan oksidatif sel seperti kerusakan DNA, karboksilasi dari protein dan lipid peroksidasi, termasuk lipid di membran mitokondria. Sehingga jalur kerusakan oksidatif ini akan berakhir kepada kematian selular (Moron dan Cortazan 2012).

G. Radikal Bebas

1. Pengertian

Radikal bebas adalah atom atau gugus atom apa saja yang mempunyai satu atau lebih elektron tidak berpasangan. Elektron dari radikal bebas yang tidak berpasangan ini sangat mudah menarik elektron dari molekul lainnya sehingga radikal bebas tersebut menjadi lebih reaktif. Senyawa yang dihasilkan oleh polusi, asap rokok, kondisi stres, bahkan oleh sinar matahari akan berinteraksi dengan radikal bebas di dalam tubuh (Hernani dan Rahardjo 2005).

2. Sumber radikal bebas

Sumber radikal bebas dapat berasal dari dalam tubuh (*endogenous*) yang terbentuk sebagai sisa proses metabolisme (proses pembakaran) protein atau karbohidrat dan lemak yang dikonsumsi. Radikal bebas dapat pula diperoleh dari luar tubuh (*eksogenous*) yang berasal dari polusi udara, asap kendaraan motor, asap rokok, berbagai bahan kimia, makanan yang terlalu hangus dan lain sebagainya. Beberapa contoh radikal bebas antara lain : anion superoksida, radikal hidroksil ($\text{OH}^\bullet$), nitrit oksida ($\text{NO}^\bullet$), hidrogen peroksida (H_2O_2) dan sebagainya (Windono *et al.* 2001).

3. Mekanisme pembentukan

Tubuh secara terus menerus membentuk radikal oksigen (Khlifi *et al.* 2005). Radikal ini dibentuk melalui mekanisme metabolisme normal. Radikal bebas juga terbentuk akibat respon terhadap pengaruh luar tubuh seperti polusi udara, sinar ultraviolet, asap kendaraan bermotor dan asap rokok. Salah satu unsur kimia sering terlibat dalam pembentukan radikal bebas oksigen. Molekul oksigen (O_2) sangat penting untuk fungsi sel karena memainkan peranan penting dalam serangkaian reaksi biokimia yang terjadi dalam rantai pernapasan yang bertanggung jawab untuk sebagian besar produksi adenosine trifosfat (ATP), yang menyediakan energi yang dibutuhkan untuk banyak reaksi seluler dan fungsi. Sumber radikal bebas terjadi melalui sederetan mekanisme reaksi, yang pertama pembentukan awal radikal bebas (inisiasi), lalu perambatan atau terbentuknya radikal baru (propagasi). Tahap terakhir yaitu perubahan menjadi radikal bebas stabil dan tidak reaktif. Autooksidasi adalah senyawa yang mengandung ikatan rangkap, hydrogen alilik, benzilik atau tersier yang rentan terhadap oksidasi oleh udara (Winarsi 2007).

Radikal bebas dapat bereaksi dengan radikal bebas yang lain atau dengan molekul non radikal. Elektron yang tidak berpasangan dari dua radikal yang saling bertemu akan bergabung dengan membentuk ikatan kovalen dan tidak bersifat sebagai radikal. Radikal yang bertemu dengan spesies non radikal akan menghasilkan radikal baru (Winarsi 2007).

4. Efek radikal bebas

Radikal bebas dibutuhkan tubuh untuk membunuh kuman dalam keadaan normal. Radikal bebas dalam jumlah sangat banyak dan bertemu dengan asam lemak tidak jenuh yang ada di dalam membran sel akan menyebabkan kerusakan oksidatif dan terjadilah proses penuaan.

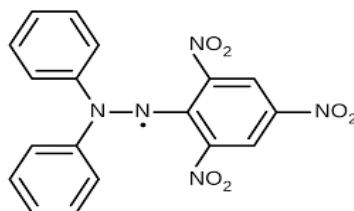
Radikal bebas sebenarnya penting bagi kesehatan dan fungsi tubuh yang normal dalam memerangi peradangan, membunuh bakteri, dan mengendalikan tonus otot polos pembuluh darah dan organ-organ dalam tubuh kita. Radikal bebas yang dihasilkan melebihi batas proteksi antioksidan seluler, maka akan menyerang sel itu sendiri. Struktur sel yang berubah turut merubah fungsinya, yang akan mengarah pada proses munculnya penyakit (Khomsan 2009).

H. Metode Uji Antioksidan *In Vitro*

Beberapa metode pengukuran aktivitas antioksidan yang sering digunakan untuk mengukur aktivitas antioksidan suatu senyawa diantaranya uji DPPH, uji TRAP, uji ABTS, dan uji FRAP.

1. Uji DPPH

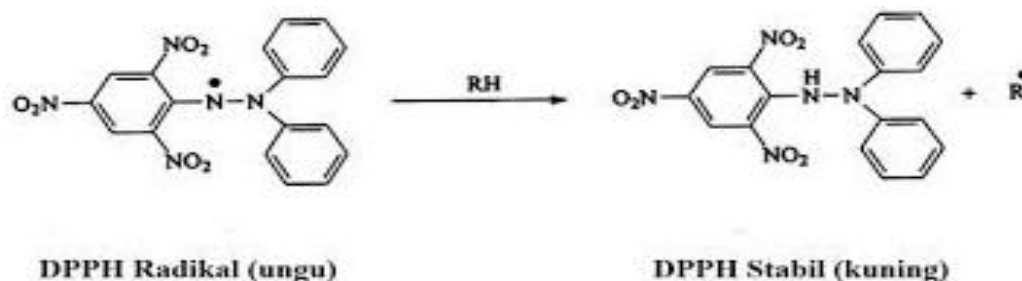
Salah satu metode untuk menentukan aktivitas antioksidan penangkap radikal adalah metode DPPH (*1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl*). Metode DPPH memberikan informasi reaktivitas senyawa yang diuji dengan suatu radikal stabil. DPPH memberikan serapan kuat pada panjang gelombang 517 nm dengan warna violet gelap. Penangkap radikal bebas menyebabkan elektron menjadi berpasangan yang kemudian menyebabkan penghilangan warna yang sebanding dengan jumlah elektron yang diambil (Sunarni 2005).



Gambar 6. Struktur kimia DPPH

Radikal bebas DPPH (*1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl*) jika bereaksi dengan senyawa antioksidan akan berubah menjadi DPPH hidrasin yang berwarna

kuning, tingkat perubahan dari warna ungu menjadi warna kuning menunjukkan bahwa radikal bebas DPPH menjadi DPPH hidrasin yang stabil (Narayanaswani dan Duraisami 2011).



Gambar 7. Reaksi antara DPPH dengan $H^\bullet$ yang berasal dari senyawa peredam radikal bebas

2. Uji TRAP

Pengujian TRAP (*Total Radical-Trapping Antioxidant Parameter*) bekerja berdasarkan pengukuran konsumsi oksigen selama reaksi oksidasi lipid terkontrol yang diinduksi oleh dekomposisi termal dari AAPH (*Azobis (2-amidinopropane) dihydrochloride*) untuk mengukur total aktivitas antioksidan. Hasil uji diekpresikan sebagai jumlah (dalam mikromolar) radikal peroksil yang terperangkap oleh 1 liter plasma. Pengukuran serum trap berdasarkan pada penentuan lamanya waktu yang diperlukan oleh serum uji untuk bertahan dari oksidasi buatan (Setyanto 2012).

3. Uji ABTS

Pengujian ABTS (*Azinobis ethyl-Benzo Thiazoline Sulfonic acid*) merupakan substrat dari peroksidase, dimana ketika dioksidasi dengan kehadiran H_2O_2 akan membentuk senyawa radikal kation yang menstabilkan dengan karakteristik menunjukkan absorbansi kuat pada panjang gelombang 414 nm. ABTS merupakan senyawa yang larut air dan stabil secara kimia. Akumulasi dari ABTS dapat dihambat oleh antioksidan pada medium reaksi dengan aktivitas yang bergantung pada waktu reaksi dan jumlah antioksidan. Kemampuan relatif antioksidan untuk mereduksi ABTS dapat diukur dengan menggunakan spektrofotometri pada panjang gelombang 734 nm. Absorbansi maksimal juga dapat terjadi pada panjang gelombang yang lain. Panjang gelombang yang mendekati daerah infra merah (734 nm) dipilih untuk meminimalkan interferensi

dari absorbansi komponen lainnya. Hasil pengukuran dengan spektrofotometer selanjutnya dibandingkan dengan standar baku antioksidan sintetik, yaitu trolox yang merupakan analog vitamin E. Hasil perbandingan ini diekspresikan sebagai TEAC (*Trolox Equivalent Antioxidant Activity*). TEAC adalah konsentrasi (dalam milimolar) larutan trolox yang memiliki efek antioksidan ekuivalen dengan 1,0 nM larutan zat uji. TEAC mencerminkan kemampuan relatif dari antioksidan untuk menangkap radikal ABTS dibandingkan dengan trolox (Setyanto 2012).

4. Uji FRAP

Metode FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*) bekerja berdasarkan pada reduksi dari analog ferroin, kompleks Fe^{3+} dari tripidiltriazin Fe (TPTZ) $^{3+}$ menjadi Fe^{2+} , Fe(TPTZ)^{2+} yang berwarna biru intensif oleh antioksidan pada suasana asam. Hasil pengujian diinterpretasikan dengan peningkatan absorbansi pada panjang gelombang 593 nm, sehingga dapat disimpulkan jumlah Fe^{2+} (dalam mikromolar) ekuivalen dengan antioksidan standar (Antolovich *et al.* 2002).

I. Metode Uji Antioksidan *In vivo* terhadap GPx

Pemeriksaan enzim antioksidan pada hewan uji seperti pemeriksaan peningkatan enzim GPx, SOD dan katalase.

Glutation peroksidase (GPx) merupakan salah satu antioksidan enzimatik yang mencegah kerusakan sel yang disebabkan oleh radikal bebas dengan mengkatalisis berbagai hidroperoksida dan merupakan suatu protein yang memiliki bentuk tetramer. Enzim ini mengandung empat atom selenium yang terikat sebagai *selenocysteine*. Struktur enzim ini dapat dilihat pada gambar di bawah ini :



Gambar 8. Struktur GPx

Penderita diabetes menunjukkan penurunan vitamin E dan glutathione. Glutathione dalam bentuk tereduksi (GSH) terdapat dalam plasma manusia, intraseluler, dengan kemampuan sebagai antioksidan untuk menghambat radikal bebas dengan fungsi secara umum sebagai *buffer* redoks dan kofaktor enzim glutathione peroksidase (GPx) (Setiawan dan Suhartono 2005). Glutathione peroksidase akan mereduksi H_2O_2 menjadi H_2O dan Glutathione disulfide (GSSH) dengan bantuan Glutathione tereduksi (GSH).

GPx terdapat dalam hepar dan sel darah merah dengan konsentrasi tinggi, sedangkan jantung, ginjal, paru-paru, adrenal, lambung dan jaringan adipose mengandung kadar glutathione peroksidase dalam kadar sedang. Glutathione peroksidase kadar rendah sering ditemukan dalam otak, otot, testis dan lensa mata. Pada penderita nekrosis hati dan penyakit degeneratif aktivitas glutathione peroksidase rendah karena terjadi defisiensi selenium (Rohrdanz *et al.* 2002).

$$\text{Aktivitas GPx} = \frac{(B-B^0)}{(T_2-T_1) \times V} \times \text{dilusi sampel} = \text{nmol/menit/ml} = \text{mU/mL}$$

Keterangan :

B = sampel

B^0 = kontrol

T1 = waktu saat pembacaan pertama

T2 = waktu saat pembacaan kedua

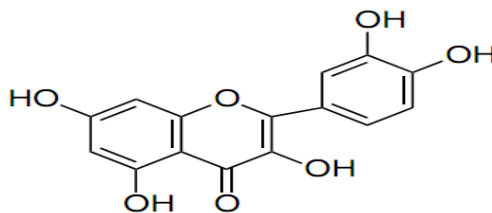
V = volume sampel pre test ditambah ke sumur pereaksi

Metode pemeriksaan yang dilakukan adalah metode enzimatik dengan menggunakan glutathione peroksidase. Glutathione peroksidase (GPx) mengkonversi glutathione tereduksi (GSH) menjadi glutathione teroksidasi (GSSH) sekaligus mengurangi hidroperoksida lipid ke beberapa koresponden alkohol atau hidrogen peroksida bebas ke air. Beberapa isozim telah ditemukan di berbagai lokasi seluler dan spesifitas substrat yang berbeda. Rendahnya GPx telah berkorelasi dengan gangguan terkait radikal bebas. Dalam Glutathione peroxidase *assay*, GPx mereduksi *Cumene Hydroperoxide* saat terjadi perubahan GSH ke GSSH. Selanjutnya GSSH yang dihasilkan direduksi menjadi GSH oleh GR dengan

mengonsumsi NADPH. Penurunan NADPH (biasanya diukur pada panjang gelombang 340 nm) sebanding dengan aktivitas GPx (Biovision 2017).

J. Kuersetin

Kuersetin dikategorikan sebagai *flavonol*, salah satu dari enam subclass senyawa flavonoid. Kuersetin adalah aglikon. Aglikon adalah komponen bukan gula sedangkan glikon adalah komponen gula. Berbagai flavonol dibuat oleh penempatan diferensial kelompok fenolik-OH dan gula (glikon). Semua flavonol, termasuk kuersetin memiliki kesamaan yaitu *3-hydroxyflavone* (Kelly, 2011). Kuersetin memiliki banyak manfaat bagi kesehatan manusia antara lain antioksidan, antiinflamasi, antiplatelet, antikanker, antivirus, dan antihistamin (Paulsen 2003). Kuersetin dalam tanaman terdapat dalam berbagai bentuk glikosida dan dapat pula bentuk aglikonnya (Erlund 2002).



Gambar 9. Struktur kimia kuersetin

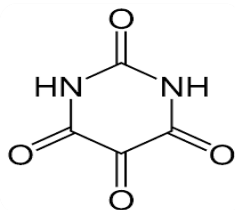
K. Diabetogenik

1. Aloksan

Aloksan adalah derivat pirimidin sederhana, yang diperoleh dari oksidasi asam urat oleh asam nitrat. Aloksan merupakan bahan kimia yang digunakan untuk menginduksi diabetes pada binatang percobaan. Pemberian aloksan adalah cara yang cepat untuk menghasilkan kondisi diabetik eksperimental (antidiabetes) pada binatang percobaan. Aloksan telah dikenal secara luas sebagai agen diabetogenik yang digunakan untuk menginduksi DM tipe 2 pada hewan percobaan. Biasanya aloksan digunakan untuk menginduksi DM pada hewan percobaan seperti kelinci, tikus, mencit dan anjing (Anindhita 2009).

Aloksan secara cepat dapat mencapai pankreas, aksinya diawali dari pengambilan yang cepat oleh sel β Langerhans. Pembentukan oksigen reaktif

merupakan faktor utama pada kerusakan sel tersebut. Pembentukan oksigen reaktif diawali dengan proses reduksi aloksan dalam sel β Langerhans. Aloksan mempunyai aktivitas tinggi terhadap senyawa seluler yang mengandung gugus SH, glutathion reduksi (GSH), sistein dan senyawa sulfhidril terikat protein. Faktor lain selain pembentukan oksigen reaktif adalah gangguan pada homeostatis kalsium intraseluler dari penghambat glukokinase dalam proses metabolisme energi (Nugroho 2006). Tingginya konsentrasi aloksan tidak mempunyai pengaruh pada jaringan percobaan lainnya. Mekanisme aksi dalam menimbulkan kerusakan selektif sel β pankreas belum diketahui dengan jelas. Efek diabetogeniknya bersifat antagonis terhadap glutathion yang bereaksi dengan gugus SH. Aloksan bereaksi dengan cara merusak substansi esensial didalam sel β pankreas (Anandhita 2009).



Gambar 10. Struktur kimia aloksan

L. Glibenklamid

1. Sifat fisika kimia

Kelarutan glibenklamid adalah praktis tidak larut dalam air dan dalam eter, sukar larut dalam etanol dan dalam metanol, larut sebagian dalam kloroform (Depkes 1995)

2. Indikasi dan kontra indikasi

Glibenklamid diindikasikan pada pengobatan diabetes mellitus tipe 2 onset maturitas stabil dan tidak terkomplikasi ringan atau tidak parah, yang tidak dapat diobati hanya dengan diet saja. Kontraindikasi glibenklamid hipersensitif, penderita yang terkomplikasi dengan ketoasidosis, koma diabetik, demam, trauma parah atau gangrene dan penderita fungsi ginjal yang tidak sempurna (Anonim 2008).

3. Dosis dan aturan pakai

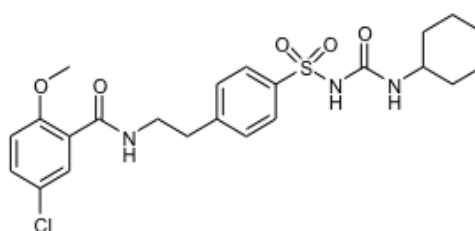
Pengobatan dengan glibenklamid dimulai dari dosis rendah (2,5 mg) diberikan pada pagi hari, sedangkan profil mingguan glukosa serum dipantau. Dosis permulaan 1 kali sehari 2,5-5 mg, bila perlu dinaikkan setiap minggu sampai maksimal 2 kali sehari 10 mg (Tan dan Raharja 2002).

4. Mekanisme kerja

Glibenklamid bekerja dengan menghambat ATP sensitive potassium channel di sel β pankreas, sehingga membantu untuk mengurangi jumlah gula dalam darah orang dengan diabetes tipe 2 (Anonim 2008). Mengurangi kadar glukagon dalam serum, dan meningkatkan pengikatan insulin pada jaringan target dan reseptor. Satheesh (2004) mengemukakan bahwa glibenklamid memiliki aktivitas antioksidan dimana glibenklamid mampu meningkatkan kandungan GSH dan SOD hewan uji diabetes.

5. Efek samping

Glibenklamid mempunyai efek samping antara lain : gejala saluran cerna berupa mual, diare, sakit perut, hiper sekresi asam lambung. Gejala susunan saraf pusat berupa vertigo, menimbulkan gejala hipertiroidisme dan ikterus obstruktif. Hipoglikemia dapat terjadi pada penderita yang tidak mendapat dosis tepat, tidak makan cukup, atau dengan gangguan fungsi hati atau ginjal (Sukandar *et al.* 2008).



Gambar 11. Struktur Kimia Glibenklamid

M. Hewan Uji

Hewan uji adalah setiap hewan yang dipergunakan pada sebuah penelitian biologis dan biomedis yang dipilih berdasarkan syarat atau standar dasar yang diperlukan dalam penelitian tersebut. Dalam memperlakukan hewan uji untuk

penelitian diperlukan pengetahuan yang cukup mengenai berbagai aspek tentang sarana biologis, dalam hal penggunaan hewan percobaan laboratorium.

1. Sistematika

Sistematika tikus menurut Depkes (2009), sebagai berikut :

Dunia	: Animalia
Filum	: Chordata
Sub Filum	: Vertebrata
Classis	: Mamalia
Sub classis	: Plasentalia
Order	: Rodentia
Familia	: Muridae
Genus	: Rattus
Spesies	: <i>Rattus norvegicus</i> .

2. Karakteristik utama

Tikus merupakan hewan yang cerdas dan relatif resisten terhadap infeksi. Tikus putih umumnya tenang dan mudah ditangani, tidak begitu fotophobia. Tikus putih galur wistar (*Rattus norvegicus*) memiliki berat antara 150-600 g, hidung tumpul dan panjang badannya antara 18-25 cm. kepala dan badan tikus galur wistar lebih pendek dibandingkan ekornya, serta ukuran telinganya tidak lebih dari 20-33 mm (Anonim 1993).

3. Jenis kelamin

Penelitian ini menggunakan tikus jantan sebab kondisi hormonalnya dinilai lebih stabil dibanding tikus betina yang sangat berfluktuasi pada saat mulai beranjak dewasa, sehingga dikhawatirkan akan memberikan respon yang berbeda dan dapat mempengaruhi hasil penelitian (Anonim 1993).

N. Landasan Teori

Antioksidan adalah suatu molekul yang diperlukan tubuh untuk menetralkan radikal bebas dan mencegah kerusakan yang ditimbulkan oleh radikal bebas. Mekanisme kerja antioksidan yaitu dengan melengkapi kekurangan elektron yang dimiliki radikal bebas dan menghambat terjadinya reaksi berantai

dari pembentukan radikal bebas yang dapat menimbulkan stres oksidatif. Stres oksidatif adalah ketidakseimbangan antara jumlah radikal bebas dengan pertahanan antioksidan alami di dalam tubuh sehingga stres oksidatif dapat mengganggu metabolisme sel dan menyebabkan kerusakan DNA, lipid, dan protein.

Antioksidan tanin dari buah jamblang dengan nilai IC_{50} (*Inhibitor Concentration₅₀*) sebesar 165 ppm menggunakan metode DPPH dengan pembandingan antioksidan sintetik BHA (*Butil Hidroksi Anisol*) (Zhang dan Lin 2009). Menurut penelitian yang sudah dilakukan, pigmen antosianin dan senyawa-senyawa flavonoid lainnya terbukti memiliki efek positif terhadap kesehatan. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Safitri pada tahun 2012, minuman sari buah jamblang dalam 100 ml memiliki aktivitas antioksidan setara dengan 74 mg vitamin C, dimana antosianin memiliki kontribusi paling besar pada aktivitas antioksidan minuman sari kulit buah jamblang dibandingkan vitamin C dan senyawa fenol. Penelitian serupa yang dilakukan oleh (Leimena 2008) menyebutkan bahwa kulit buah jamblang mengandung antosianin yang tinggi dan tidak ditemukan adanya senyawa fenol dan vitamin C dalam kulit buah jamblang. Menurut Lestario *et al.* (2003), buah duwet memiliki aktivitas antioksidan sebesar 64,75%, hampir sama dengan aktivitas antioksidan sintetis yang umum digunakan, yaitu BHT (*Butylated Hidroksitoluene*). Dengan aktivitas antioksidan yang cukup tinggi tersebut, dapat dikatakan bahwa buah duwet bermanfaat bagi kesehatan tubuh manusia dalam menghambat radikal bebas dan mencegah akibat yang ditimbulkan seperti kerusakan sel-sel tubuh, komponen protein, lemak, gangguan pada sistem imun, dan penyakit-penyakit degeneratif.

Salah satu penyakit yang berhubungan dengan radikal bebas adalah diabetes mellitus. Diabetes mellitus adalah penyakit degeneratif yang ditandai dengan hiperglikemia dan berhubungan dengan abnormalitas metabolisme karbohidrat, lemak, dan protein. Diabetes mellitus disebabkan oleh penurunan sekresi insulin atau penurunan sensitivitas insulin. Hiperglikemia disebabkan oleh peningkatan glukosa di hati dengan berkurangnya penggunaan glukosa di jaringan perifer karena ketidakmampuan otot dan sel adiposa untuk mengambil glukosa,

hiperglikemia yang terjadi pada diabetes mellitus menyebabkan autooksidasi glukosa, glikasi protein nonenzimatik, dan jalur poliol sorbitol yang selanjutnya mempercepat pembentukan senyawa oksigen reaktif. Peningkatan produksi senyawa oksigen reaktif dari proses tersebut mengakibatkan timbulnya stres oksidatif yang berkontribusi pada perburukan dan perkembangan kejadian komplikasi pada diabetes mellitus.

Salah satu tanaman yang memiliki potensi sebagai antioksidan alami untuk pengobatan diabetes mellitus adalah buah jamblang (*Syzygium cumini* (L.) Skeels.). buah jamblang merupakan tanaman yang berasal dari Desa Ngrambe, Kecamatan Ngrambe, Kabupaten Ngawi, Jawa Timur. Tanaman tersebut di Indonesia masih kurang dalam penggunaan sebagai tanaman obat. Bagian dari pohon jamblang yang sering digunakan untuk pengobatan adalah buah jamblang yang mengandung senyawa antioksidan alami yaitu flavonoid dan polifenol yang mampu melindungi tubuh dari serangan radikal bebas. Penelitian yang dilakukan (Kumar *et al.* 2008) menunjukkan daun jamblang memiliki aktivitas sebagai anti-diabetik dengan dosis 200 dan 400 mg/kg berat badan tikus.

Pengujian aktivitas antioksidan dapat dilakukan secara *in vitro* dan *in vivo*. Pengujian secara *in vitro* dapat menggunakan metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil). Radikal bebas DPPH (1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl) jika bereaksi dengan senyawa antioksidan akan berubah menjadi DPPH hidrasin yang berwarna kuning, tingkat perubahan dari warna ungu menjadi warna kuning menunjukkan bahwa radikal bebas DPPH menjadi DPPH hidrasin yang stabil. Pengujian antioksidan secara *in vivo* dapat dilakukan dengan melihat status antioksidan endogen, salah satunya terhadap enzim glutathion peroksidase pada jaringan hepar tikus diabetes yang diinduksi oleh aloksan. Glutathion peroksidase sebagai enzim peredam (*quenching*) radikal bebas merupakan enzim yang berperan penting dalam melindungi organisme dari kerusakan oksidatif dengan cara mereduksi H_2O_2 menjadi H_2O dan *glutathion disulfide* (GSSH) dengan bantuan glutathion tereduksi.

O. Hipotesis

Berdasarkan uraian sebelumnya, dapat disusun hipotesis sebagai berikut :

Pertama, ekstrak etanol buah jamblang memiliki aktivitas antioksidan terhadap radikal bebas DPPH yang dinyatakan dalam nilai IC_{50} .

Kedua, ekstrak etanol buah jamblang mampu meningkatkan aktivitas enzim glutathion peroksidase pada tikus yang diinduksi aloksan.

Ketiga, ekstrak etanol buah jamblang pada dosis tertentu akan meningkatkan aktivitas enzim glutathion peroksidase paling kuat.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

1. Populasi

Populasi pada penelitian ini adalah buah jamblang (*Syzygium cumini* (L.) Skeels.) yang diambil dari Desa Ngrambe, Kecamatan Ngrambe, Kabupaten Ngawi, Jawa Timur.

2. Sampel

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah buah jamblang dalam keadaan segar, bersih, buah yang masak, berwarna ungu tua dan terhindar dari hama.

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi variabel utama

Variabel utama pertama pada penelitian ini adalah aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol (*Syzygium cumini* (L.) Skeels.) terhadap radikal bebas DPPH.

Variabel utama kedua pada penelitian ini adalah aktivitas dari ekstrak etanol (*Syzygium cumini* (L.) Skeels.) dari berbagai variasi dosis terhadap aktivitas enzim glutathion peroksidase (GPx) pada tikus putih jantan diabetes.

Variabel utama ketiga pada penelitian ini adalah tikus putih jantan galur Wistar.

Variabel utama keempat dalam penelitian ini adalah peneliti, kondisi laboratorium, kondisi fisik hewan uji yang meliputi berat badan, usia, jenis kelamin dan galur.

2. Klasifikasi variabel utama

Variabel bebas pada penelitian ini adalah ekstrak etanol buah jamblang (*Syzygium cumini* (L.) Skeels.) yang diberikan pada tikus dengan berbagai variasi dosis.

Variabel tergantung pada penelitian ini adalah aktivitas enzim glutathion peroksidase pada hewan uji setelah diberi perlakuan menggunakan ekstrak etanol

buah jamblang (*Syzygium cumini* (L.) Skeels.) pada kelompok uji, kontrol negatif dan kontrol positif dan aktivitas antioksidan terhadap radikal bebas DPPH.

Variabel kendali pada penelitian ini adalah peneliti, kondisi laboratorium, kondisi fisik hewan uji yang meliputi berat badan, usia, jenis kelamin, galur, dan glutathione peroksidase.

3. Definisi operasional variabel utama

Pertama, buah jamblang (*Syzygium cumini* (L.) Skeels.) merupakan buah yang diperoleh dari Desa Ngrambe, Kecamatan Ngrambe, Kabupaten Ngawi, Jawa Timur.

Kedua, serbuk buah jamblang merupakan serbuk yang berasal dari buah jamblang yang telah dikeringkan, digiling dan diayak dengan ayakan nomor mesh 40.

Ketiga, ekstrak etanol buah jamblang adalah ekstrak kental yang diperoleh dari hasil maserasi serbuk buah jamblang dengan pelarut etanol 96%, selanjutnya dipekatkan menggunakan *vakum evaporator* hingga diperoleh ekstrak pekat buah jamblang.

Keempat, aktivitas antioksidan secara *in vitro* dengan menggunakan metode penangkapan radikal bebas DPPH.

Kelima, tikus diabetes adalah tikus jantan yang berumur 2-3 bulan dengan berat badan sekitar 180-220 g yang mengalami diabetes akibat induksi aloksan.

Keenam, aktivitas glutathione peroksidase adalah aktivitas yang ditetapkan dari data supernatan hati menggunakan enzim glutathione peroksidase.

C. Bahan dan Alat

1. Bahan

Bahan sampel. Bahan sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah buah jamblang (*Syzygium cumini* (L.) Skeels.) dari Desa Ngrambe, Kecamatan Ngrambe, Kabupaten Ngawi, Jawa Timur.

1.1 Bahan uji farmakologi. Bahan uji farmakologi yang digunakan pada penelitian ini adalah glibenklamid (Indofarma), aloksan (Aldrich), NaCl

0,9%, air suling, phosphate buffer, GSH, *glutathione peroxidase assay kit*, DPPH (1,1 difenil-2-pikrilhidrazil), *kuersetin*, dan etanol p.a.

2. Alat

Alat yang dipakai untuk membuat simplisia buah jamblang adalah penghalus yang berfungsi untuk menghancurkan buah jamblang, oven, mesin penggiling, ayakan nomor mesh 40. Alat penyari untuk buah jamblang yang digunakan antara lain alat-alat gelas, peralatan maserasi yang terdiri dari botol cokelat, *vacum evaporator*. Alat yang digunakan untuk mengukur kadar air adalah *Sterling-Bidwell*, alat-alat gelas, timbangan elektrik, mortir dan stamper, batang pengaduk. Alat yang digunakan untuk perlakuan hewan uji yaitu timbangan, spuit oral, jarum suntik, pipa kapiler dan kandang tikus. Alat untuk pengujian glutathione peroksidase yaitu spektrofotometer UV-Vis, lemari beku -80°C , sentrifugase dingin Eppendorf, tabung EDTA LOT, mikropipet *Eppendorf*, dan vortex.

3. Hewan uji

Hewan uji yang digunakan pada penelitian ini adalah tikus putih galur wistar kelamin jantan, umur 2-3 bulan dengan berat badan rata-rata 180-220 g sebanyak 30 ekor. Pengelompokan dilakukan secara acak masing-masing 5 ekor per kelompok. Semua tikus dipelihara dengan cara yang sama, mendapat diet yang sama, ukuran kandang yang sesuai dengan temperature $30\pm 10^{\circ}\text{C}$. Penerangan diatur dengan siklus 12 jam terang dan 12 jam gelap. Selama penelitian kebutuhan makanan dan minuman harus selalu terkontrol agar mencegah kematian tikus terutama saat diinduksi aloksan untuk membuat tikus diabetes.

Pengambilan darah pada bagian ekor tikus saat masih hidup tanpa anestesi karena, untuk mencegah terjadinya pengaruh pelarut anestesi pada organ dalam tikus seperti hati dan akan diambil darah secara berulang untuk uji kadar glukosa. Terlebih dahulu ekor tikus di gosok-gosok atau dihangatkan dengan air hangat agar pembuluh darah tikus membesar dan pengaliran darah lebih cepat. Pengambilan darah dapat dilakukan dengan jarum suntik pada setiap ekor tikus. Pengambilan darah selalu dilakukan pembilasan dengan kapas beralkohol dari setiap ekor tikus tersebut sebelum dan sesudah pengambilan darah. Uji aktivitas

enzim glutathione peroxidase, tikus dibunuh secara *cervical dislocation* (dislokasi leher) dengan memposisikan tikus pada papan bedah menggunakan *pins* dan pastikan tubuh tikus terfiksasi dengan baik pada papan sehingga memudahkan tahap pembedahan. kemudian cukur bulu tikus pada bagian perut hingga leher lalu bersihkan sisa bulu dengan kapas, bedah mulai dari bagian perut menggunakan gunting bengkok sampai pada bagian leher lalu ambil dan pisahkan masing-masing organ menggunakan gunting lurus dan pinset (organ yang diambil: hepar) pastikan organ yang diambil tidak tercampur dengan organ lain..

D. Jalannya Penelitian

1. Determinasi buah Jamblang

Tahap pertama yang dilakukan dalam penelitian ini adalah melakukan determinasi buah jamblang (*Syzygium cumini* (L.) Skeels.) yang bertujuan untuk menetapkan kebenaran sampel buah jamblang (*Syzygium cumini* (L.) Skeels.) yang dilakukan dengan mencocokkan ciri-ciri morfologi yang ada pada buah jamblang yang dibuktikan di Laboratorium Biologi Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Muhamadiyah Surakarta.

2. Pengambilan dan pembuatan serbuk buah jamblang

Sampel penelitian yang digunakan adalah buah jamblang yang diperoleh dari Desa Ngrambe, Kecamatan Ngrambe, Kabupaten Ngawi, Jawa Timur. Sampel buah jamblang yang diperoleh disortasi basah lalu dicuci. Sampel kemudian dirajang dan dikeringkan menggunakan oven dengan suhu 50°C, kemudian dilakukan sortasi kering dan diserbukan.

3. Penetapan kadar air serbuk buah jamblang

Penetapan kadar air serbuk buah jamblang dilakukan dengan menggunakan alat *Sterling-Bidwell*. Caranya dengan menimbang serbuk buah jamblang sebanyak 20 gram dimasukkan ke dalam labu destilasi dan ditambahkan pelarut xilena sebanyak 100 ml sampai serbuk terendam, kemudian memasang alat *Sterling-Bidwell*, tahap selanjutnya dipanaskan dengan api kecil. Pemanasan dihentikan bila air pada penampung tidak menetes lagi, kemudian diukur kadar airnya dengan melihat volume pada skala alat tersebut dilakukan tiga kali dan dihitung persen kadar airnya (Sudarmadji *et al.* 2010).

$$\text{Kadar air} = \frac{\text{volume terbaca}}{\text{berat bahan}} \times 100\%$$

4. Pembuatan ekstrak etanol buah jamblang

Serbuk buah jamblang (*Syzygium cumini* (L.) Skeels.) ditimbang 500 g, dimasukkan ke dalam botol maserasi kemudian dituangi dengan etanol 96% sebanyak 5000 ml, ditutup dan dibiarkan selama 5 hari terlindung dari cahaya, sambil sesekali diaduk. Cairan hasil ekstraksi disaring dengan kain flanel. Ampas kemudian dimaserasi dengan cara yang sama dan dibiarkan selama 2 hari sambil sesekali diaduk. Kemudian filtrat dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 50°C, hasilnya disebut ekstrak etanol buah jamblang.

5. Uji bebas alkohol ekstrak etanol buah jamblang

Tes bebas alkohol ekstrak etanol buah jamblang dilakukan dengan cara ekstrak buah jamblang ditambah asam asetat encer dan asam sulfat pekat kemudian dipanaskan. Bila tidak ada bau ester (etil asetat) berarti sudah tidak ada etanol (Depkes 1979).

6. Identifikasi kandungan kimia ekstrak buah jamblang

Identifikasi kandungan senyawa kimia dilakukan untuk memastikan kebenaran zat kimia yang terkandung di dalam buah jamblang. Identifikasi senyawa meliputi senyawa flavonoid, tanin, saponin, steroid dan triterpenoid.

Pada identifikasi senyawa yang terkandung dalam ekstrak etanol buah jamblang berdasarkan reaksi warna menggunakan tabung reaksi dan bahan-bahan kimia seperti berikut :

6.1 Identifikasi flavonoid. Sejumlah ekstrak dilarutkan dalam 5 ml etanol dan panaskan selama 5 menit di dalam tabung reaksi. Selanjutnya tambahkan HCL pekat. Kemudian ditambahkan 0,2 g bubuk mg. Hasil positif ditunjukkan dengan warna merah tua (magenta) dalam waktu 3 menit (Sangi *et al.* 2008).

6.2 Identifikasi Tanin. Sejumlah ekstrak ditambah 20 ml air panas kemudian dididihkan selama 15 menit, setelah dingin disaring. Sebanyak 5 ml filtrate dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan pereaksi larutan besi (III) klorida 1%. Jika tannin positif maka akan terbentuk warna hijau violet setelah direaksikan dengan larutan besi (III) klorida (Depkes 1995).

6.3 Identifikasi Saponin. Sejumlah ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian tambahkan akuades hingga seluruh sampel terendam, dididihkan 2-3 menit, dan selanjutnya didinginkan, kemudian kocok kuat-kuat. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya buih yang stabil setelah satu tetes asam klorida 2N ditambahkan (Sangi *et al.* 2008).

6.4 Identifikasi alkaloid. Ekstrak ditambahkan larutan amonia 10%, larutan basa diekstraksi dengan kloroform, lalu ditambahkan dengan HCL 1N, kemudian disaring lalu diuji dengan pereaksi meyer. Hasil positif ditunjukkan dengan endapan putih atau kuning menyatakan adanya alkaloid (Sangi *et al.* 2008).

6.5 Identifikasi steroid. Libermann Burchard's Test: 50 mg sampel dilarutkan dengan kloroform kemudian disaring. Filtrat ditambah asam asetat anhidrat lalu dipanaskan dan didinginkan. Ditambahkan asam sulfat pekat melalui dinding tabung secara perlahan-lahan, jika terbentuk cincin coklat menandakan adanya steroid (Tiwari *et al.* 2011). Salkowski's Test: 50 mg sampel diekstraksi dengan kloroform kemudian disaring. Filtrat yang diperoleh ditambahkan beberapa tetes asam sulfat pekat, lalu dikocok. Jika campuran berwarna kuning menunjukkan adanya triterpen (Tiwari *et al.* 2011).

7. Uji aktivitas antioksidan terhadap radikal bebas DPPH

7.1 Penyiapan larutan DPPH 80 ppm. Larutan pereaksi DPPH 80 ppm sama dengan 80 mg per 100 ml sehingga larutan dibuat dengan cara menimbang 8 mg serbuk DPPH yang kemudian dimasukkan ke dalam labu takar 100 ml dan ditambahkan etanol p.a ke dalam labu takar sampai tanda batas sehingga diperoleh konsentrasi 80 ppm.

7.2 Penyiapan larutan ekstrak buah jambang. Pembuatan larutan stok ekstrak buah jambang dengan konsentrasi 1000 ppm. Dibuat dengan cara menimbang 100 mg ekstrak kental secara teliti kemudian dilarutkan dengan etanol p.a sampai larut dan dimasukkan ke dalam labu ukur 100 ml, selanjutnya ditambah etanol p.a sampai tanda batas. Kemudian dibuat larutan seri konsentrasi ekstrak etanol buah jambang 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm, dan 100 ppm dengan rumus $V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$.

7.3 Penyiapan larutan kuersetin. Pembuatan larutan stok kuersetin dibuat dengan konsentrasi 50 ppm. Konsentrasi 50 ppm tersebut sama dengan 5 mg per 100 ml, sehingga dapat dibuat dengan cara menimbang 5 mg kuersetin kemudian dilarutkan dengan etanol p.a sampai larut dan dimasukkan dalam labu ukur 100 ml, selanjutnya ditambah etanol p.a sampai tanda batas. Setelah itu dibuat larutan seri konsentrasi 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm, dan 10 ppm dengan rumus $V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$.

7.4 Penentuan panjang gelombang maksimum DPPH. Penentuan panjang gelombang maksimum larutan DPPH untuk uji aktivitas antioksidan ekstrak buah jambang dilakukan dengan 2 ml larutan DPPH 80 ppm ditambah 2 ml etanol p.a dikocok sampai homogen dan diamati serapan pada rentang 400-600 nm dengan menggunakan blanko etanol p.a.

7.5 Penentuan *operating time*. Penentuan *operating time* dilakukan dengan 2 ml larutan DPPH 80 ppm ditambah 2 ml etanol p.a ditambah 2 ml ekstrak dari 1000 ppm, dikocok homogen dan diamati serapannya pada panjang gelombang 517 nm, dibaca mulai dari menit 0 sampai menit didapatkan nilai absorbansi yang stabil pada menit tertentu. Untuk penentuan *operating time* dapat ditentukan dari grafik antara waktu pembacaan dan absorbansi.

7.6 Uji aktivitas antioksidan. Setiap konsentrasi larutan uji dipipet sebanyak 2 ml, kemudian ditambahkan dengan 2 ml larutan pereaksi DPPH 80 ppm dalam vial, kocok, biarkan ditempat gelap selama 30 menit dan kemudian diamati absorbansinya pada panjang gelombang maksimum yang telah ditentukan (517 nm). Pengamatan terhadap larutan kontrol dari 2 ml etanol ditambah 2 ml DPPH 80 ppm.

7.7 Analisa data. Hasil pengukuran absorbansi yang diperoleh selanjutnya digunakan untuk menghitung persentase aktivitas penangkap radikal bebas dari berbagai konsentrasi uji. Harga IC_{50} dihitung dari persamaan regresi linear antara log konsentrasi uji versus % inhibisi. Rumus prosentase peredaman sebagai berikut :

$$\text{Peredaman} = \frac{\text{Absorbansi blanko} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi blanko}} \times 100\%$$

8. Uji aktivitas antioksidan terhadap glutathion peroksidase

8.1 Penentuan dosis.

8.1.1 Glibenklamid. Dosis glibenklamid pada manusia 70 kg adalah 5 mg. Faktor konversi manusia dengan berat badan 70 kg ke tikus dengan berat badan 200 gram adalah 0,018. Sehingga dosis glibenklamid adalah 0,09 mg/200 gram BB tikus atau 0,45 mg/kg BB tikus.

8.1.2 Aloksan monohidrat. Dosis aloksan yang digunakan pada penelitian ini adalah 36 mg/200 gram BB tikus atau 180 mg/kg BB tikus, yang diberikan secara intraperitoneal.

8.1.3 Sediaan uji. Penentuan dosis dilakukan setelah melakukan orientasi dengan mengkonversi rendemen pengeringan dan ekstrak buah jambang dari manusia 70 kg ke tikus 200 gram (faktor konversi 0,018), maka dosis yang diberikan kepada tikus dalam penelitian ini yaitu dosis I (100 mg/Kg BB tikus), dosis II (200 mg/Kg BB tikus), dan dosis III (400 mg/Kg BB tikus) banyaknya ekstrak kental buah jambang yang digunakan dihitung berdasarkan berat badan dari masing-masing tikus.

8.2 Pembuatan Bahan uji.

8.2.1 Glibenklamid. Suspensi glibenklamid 0,09 mg/ml dibuat dengan cara melarutkan serbuk glibenklamid sebanyak 9 mg dalam CMC Na 0,5% sampai volume 100 ml.

8.2.2 CMC Na 0,5%. Larutan CMC Na konsentrasi 0,5% dibuat dengan cara melarutkan 0,5 gram serbuk CMC Na sedikit demi sedikit ke dalam air suling panas sambil diaduk pada volume 100 ml air suling hingga mengembang sampai homogen.

8.2.3 Aloksan. Larutan aloksan 25 mg/ml adalah larutan yang digunakan sebagai penginduksi diabetes. Larutan aloksan dibuat dengan cara melarutkan serbuk aloksan sebanyak 2,5 gram dalam NaCl 0,9% hingga volume 100 ml.

8.3 Penentuan hewan uji. Hewan uji yang digunakan adalah tikus putih jantan galur wistar dan tidak cacat dengan berat sekitar 180-220 g sebanyak 30 ekor yang kemudian dibagi menjadi 6 kelompok, masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor tikus. Tikus-tikus tersebut kemudian diaklimatisasi selama satu minggu.

8.4 Perlakuan hewan uji. Tikus yang telah beradaptasi dengan lingkungannya kemudian ditimbang, tikus yang digunakan sebanyak 30 ekor secara acak yang dibagi menjadi 6 kelompok perlakuan, masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor, sebelumnya tikus dipuasakan terlebih dahulu selama 10 jam sebelum diberi perlakuan.

Kelompok 1 : Kontrol normal tanpa perlakuan.

Kelompok 2 : Kontrol negatif (tikus diberikan CMC Na 0,5%)

Kelompok 3 : Kontrol pembanding (tikus diberikan glibenklamid 0,45 mg/kg BB tikus)

Kelompok 4 : Tikus diberikan ekstrak etanol buah jamblang dengan dosis 100 mg/Kg BB tikus selama 14 hari.

Kelompok 5 : Tikus diberikan ekstrak etanol buah jamblang dengan dosis 200 mg/Kg BB tikus selama 14 hari.

Kelompok 6 : Tikus diberikan ekstrak etanol buah jamblang dengan dosis 400 mg/Kg BB tikus selama 14 hari.

8.5 Prosedur uji diabetes aloksan. Pada hari pertama sebelum tikus diberikan perlakuan, dilakukan pengambilan darah untuk pengukuran kadar glukosa awal (T_0). Pada hari yang sama juga diberikan larutan aloksan monohidrat 180 mg/kg BB tikus secara intraperitoneal. Setelah 5 hari diinduksi dengan larutan aloksan, setiap hewan uji dengan kadar gula darah > 200 mg/dL (positif diabetes) dikelompokkan kemudian diambil darahnya untuk pengukuran kadar glukosa darah hari pertama (T_1). Pengambilan darah dilakukan pada pembuluh darah mata (*venous plexus*) tikus.

9. Pemeriksaan aktivitas antioksidan terhadap GPx.

Pemeriksaan kadar GPx supernatan jernih hati dilakukan dengan *Glutation Peroxidase Assay Kit* merek *Bio Vision* disimpan pada suhu -20°C dan terlindung dari sinar matahari langsung. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Pusat Studi Pangan dan Gizi Universitas Gajah Mada, Yogyakarta.

9.1 Preparasi sampel. Hati segar tikus $\pm 1,25$ g dicacah dalam kondisi dingin dalam 5 ml larutan *phosphate buffer saline* (PBS) yang mengandung 11,5 g/L KCl. Homogenat disentrifugasi pada 4.000 rpm selama 10 menit sebanyak 2

kali hingga diperoleh supernatan jernih. Supernatan diambil untuk pengujian sedangkan sedimennya dibuang.

9.2 Pengukuran aktivitas GPx. Pengukuran menggunakan metode Lawrence dan Burk (1976) yang dimodifikasi. Sebanyak 200 µl supernatan hati ditambahkan 200 µl buffer fosfat 0,1 M pH 7,0 yang mengandung 0,1 mM EDTA, 200 µl glutathion tereduksi (GSH) 10 mM dan 200 µl enzim glutathion reduktase (2,4 unit). Kemudian diinkubasi selama 10 menit pada suhu 37°C, ditambahkan 200 µl NADPH 1,5 mM dan diinkubasi lagi selama 3 menit pada suhu yang sama dan dilanjutkan dengan penambahan 200 µl H₂O₂ 1,5 mM. Laju perubahan serapan selama konversi NADPH menjadi NADP⁺ diukur secara spektrofotometri pada $\lambda = 340$ nm selama 3 menit. Aktivitas GSH-Px dinyatakan sebagai µmol NADPH yang dioksidasi menjadi NADP⁺ menit⁻¹ mg⁻¹ protein dengan koefisien ekstrinsik (6,22 mM⁻¹ cm⁻¹) untuk NADPH. Perhitungannya adalah sebagai berikut :

$$\text{M unit GSH-Px} = \frac{\text{Abs} \times V_t \times 2 \times 1000 \times 1/\text{mgprotein}}{6,22 \times V_s}$$

Keterangan :

Abs = perubahan absorbansi

V_t = volume total

6,22 = koefisien ekstrinsik dari NADPH

2 = 2 mol GSH yang setara dengan 1 mol NADPH

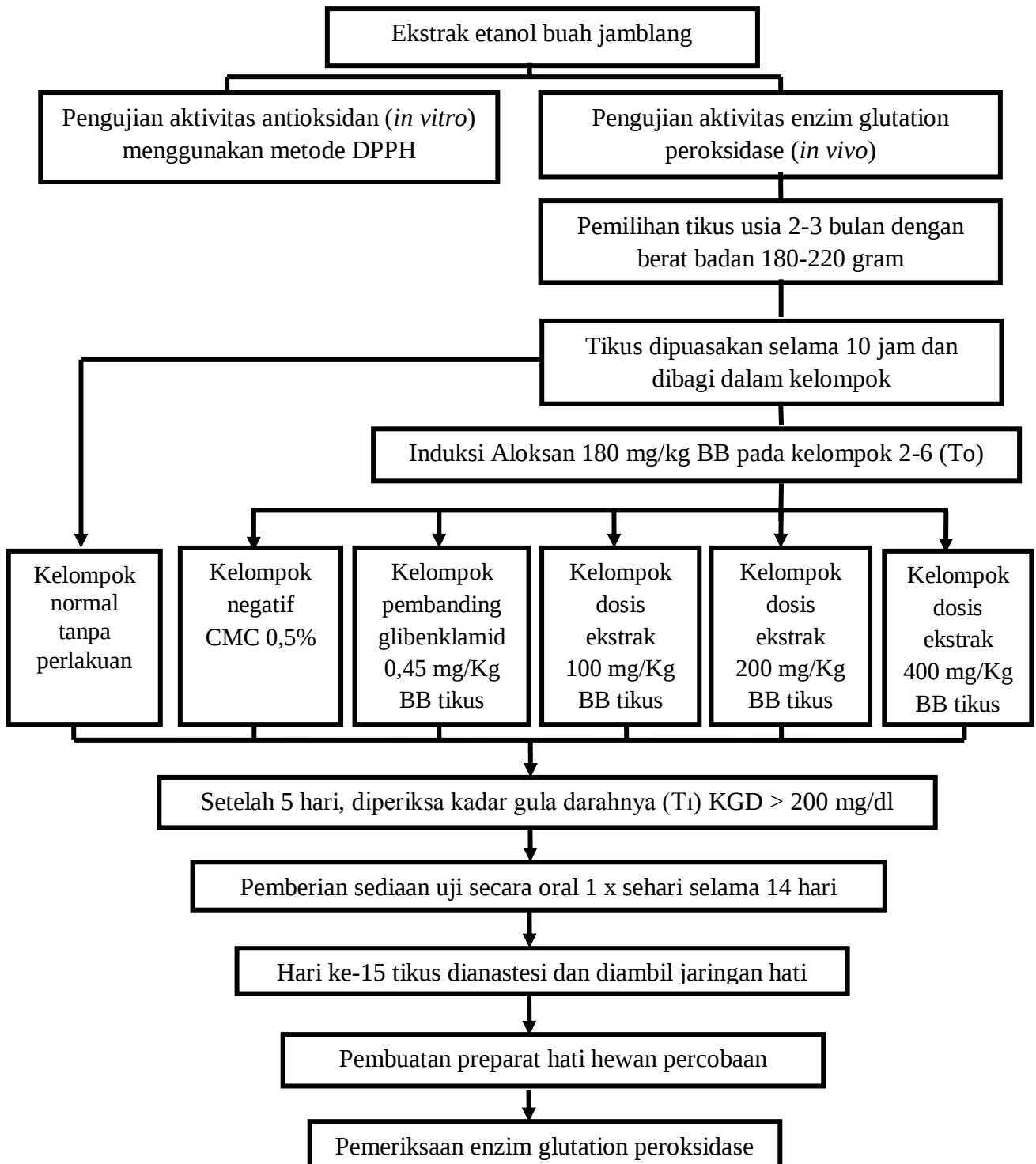
1000 = perubahan menjadi mili unit

V_s = volume sampel

E. Analisa Statistik

Analisa statistik yang digunakan penelitian ini adalah melihat apakah data tersebut terdistribusi normal atau tidak yaitu menggunakan uji distribusi normal (*Saphiro Wilk*). Jika data terdistribusi normal ($p > 0,05$), analisis data dilanjutkan dengan uji parametrik (*One Way ANOVA*) untuk mengetahui perbedaan yang nyata diantara perlakuan. Jika hasil uji *One Way ANOVA* dan uji *Lavene Statistic* menunjukkan hasil normal ($p > 0,05$), selanjutnya dilakukan uji *Post Hoc* untuk melihat aktivitas glutathion peroksidase yang efektif diantara kelompok perlakuan. jika hasilnya data tidak homogen ($p < 0,05$), maka dilakukan uji non parametrik menggunakan uji *Mann-Whitney*.

F. Skema Penelitian



Gambar 12. Skema Penelitian

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Determinasi Buah Jamblang

Determinasi tanaman jamblang dilakukan di Laboratorium Biologi Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Muhammadiyah surakarta. Kunci determinasi :

1b, 2b, 3b, 4b, 12b, 13b, 14b, 17b, 18b, 19b, 20b, 21b, 22b, 23b, 24b, 25b, 26b, 27a, 28b, 29b, 30b, 31a, 32b, 403b, 404b, 405a, 406a, 407b, ... → Familia : *Myrtaceae*

1a, 2b, 3b, 7b, 8b, 9b, 10b, ... → : *syzygium*

1b, 7b, 8b, 11a, 13b, 14b, 15a, 16b, 18a, 19a, . → spesies : *Syzygium cumini* (L.) Skeels. Untuk hasil deskripsi tanaman jambalang terdapat pada lampiran 1.

B. Pembuatan Serbuk Buah Jamblang

Buah jamblang dalam penelitian ini diperoleh dari desa Ngerambe, Kabupaten Ngawi, provinsi Jawa Timur pada bulan September 2017. Berat basah buah jamblang yang diperoleh adalah 36 Kg kemudian dibersihkan menggunakan air mengalir dengan tujuan untuk menghilangkan kotoran yang masih menempel dan setelah itu ditimbang kembali buah jamblang tersebut, berat yang diperoleh adalah 35 Kg. Kemudian buah jamblang dipisahkan dari bijinya dan didapatkan berat buah jamblang tanpa biji sebesar 18 Kg. Selanjutnya buah jamblang dikeringkan dalam oven dengan suhu 50°C selama 6 hari. Pengeringan ini bertujuan untuk mengurangi kadar air dalam buah jamblang sehingga mencegah timbulnya jamur yang dapat menurunkan mutu dan khasiat dari buah jamblang. Setelah melalui proses pengeringan dengan oven didapatkan berat kering sebesar 1,8 Kg. Buah jamblang yang telah kering dibuat serbuk dengan menggunakan alat penggiling. Selanjutnya serbuk diayak dengan pengayak nomor 40 untuk memperoleh serbuk yang halus. Simplisia dibuat menjadi serbuk untuk

memperluas permukaan partikel simplisia yang kontak dengan pelarut sehingga penyaringan dapat berlangsung efektif.

Penentuan persentase berat kering terhadap berat basah dilakukan dengan cara menimbang buah jamblang yang masih basah, kemudian hasilnya dibandingkan dengan berat buah jamblang yang sudah kering. Hasil persentase berat kering terhadap berat basah buah jamblang dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Rendemen pengeringan buah jamblang

Simplisia	Berat basah (Kg)	Berat kering (Kg)	Rendemen (%)
Buah jamblang	18	1,8	10

Buah jamblang sebanyak 18 Kg dikeringkan dan setelah dikeringkan beratnya menjadi 1,8 Kg sehingga persentase berat kering terhadap berat basah adalah 10%. Hasil perhitungan % rendemen dapat dilihat pada lampiran 4.

Identifikasi secara organoleptis dilakukan berdasarkan pengindraan yang meliputi bentuk, bau, rasa, dan warna. Hasil identifikasi serbuk buah jamblang dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Hasil pemeriksaan organoleptis serbuk buah jamblang

Organoleptis	Hasil
Bentuk	Serbuk
Bau	Khas buah jamblang
Rasa	Pahit
Warna	Coklat keunguan

C. Penetapan Kadar Air Serbuk Buah Jamblang

Serbuk buah jamblang yang diperoleh dilakukan penetapan kadar air dengan cara destilasi menggunakan rangkaian alat *Sterling-Bidwell*. Penetapan kadar air serbuk bertujuan agar mutu dan khasiat serbuk buah jamblang tetap terjaga. Persyaratan kadar air suatu serbuk simplisia yaitu kurang dari 10% (Anonim 1986). Pelarut yang digunakan yaitu xylen karena xylen memiliki titik didih yang lebih tinggi dan berat jenis yang lebih kecil dibandingkan air selain itu xylen tidak bercampur dengan air. Hasil penetapan kadar air serbuk buah jamblang dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 4. Penetapan kadar air serbuk buah jamblang

Berat serbuk (g)	Volume terbaca (mL)	Kadar air (%)±SD
------------------	---------------------	------------------

20,05	1,8	8,97
20,08	1,6	7,96
20,04	1,8	8,98
Rata-rata		8,63±0,6

Penetapan kadar air serbuk buah jamblang dilakukan dengan tiga kali replikasi dan kadar air serbuk buah jamblang yang telah ditetapkan yaitu sebesar 8,63%, hasil tersebut telah memenuhi syarat yaitu tidak lebih dari 10%, sehingga dalam penyimpanan tidak mudah untuk ditumbuhi mikroba. Perhitungan penetapan kadar air dapat dilihat pada lampiran 5.

D. Pembuatan Ekstrak Etanol Buah Jamblang

Proses pembuatan ekstrak etanol buah jamblang dilakukan dengan metode maserasi perbandingan (1:10) menggunakan pelarut etanol 96% sebagai cairan pengestraksi. Proses maserasi dilakukan menggunakan botol kaca berwarna gelap untuk menghindari paparan sinar matahari secara langsung serta dilakukan dalam wadah tertutup rapat sehingga tidak menguap. Serbuk buah jamblang ditimbang 500 gram dan ditambahkan pelarut etanol 96% sebanyak 3750 ml, kemudian dimaserasi selama 5 hari serta selalu dilakukan pengocokan minimal 3 kali sehari. Setelah 5 hari hasil maserasi disaring menggunakan kain flanel dan dilanjutkan dengan menggunakan kertas saring. Ampas atau residu yang tersisa kemudian dialiri kembali dengan etanol 96% sebanyak 1250 ml kemudian dibiarkan selama 2 hari. Maserasi disaring menggunakan kain flanel dan dilanjutkan dengan menggunakan kertas saring. Hasil maserasi diuapkan dengan *rotary evaporator* dan oven sampai berbentuk ekstrak kental. Ekstrak kental yang diperoleh kemudian dilakukan pengujian organoleptis yang bertujuan untuk mengetahui sifat fisik ekstrak yaitu berbentuk kental dengan warna coklat pekat dan berbau khas. Ekstrak selanjutnya ditimbang untuk mengetahui persentase rendemen. Hasil rendemen ekstrak etanol 96% buah jamblang dapat dilihat pada tabel 5.

Tabel 5. Rendemen ekstrak etanol buah jamblang

Berat serbuk (g)	Berat ekstrak (g)	Rendemen (%)
500	154,38	30,87

Dari berat serbuk buah jamblang sebesar 500 gram, senyawa aktif yang tertarik oleh pelarut etanol 96% sebesar 154,38 gram yang terdiri beberapa senyawa berdasarkan hasil identifikasi diantaranya flavonoid, tanin, saponin, steroid dan alkaloid dengan rendemen ekstrak sebesar 30,87 %. Hasil perhitungan dapat dilihat pada lampiran 6.

E. Uji Bebas Alkohol Ekstrak Etanol Buah Jamblang

Ekstrak dari buah jamblang dilakukan uji tes bebas etanol dengan melakukan esterifikasi etanol. Uji positif bebas etanol jika tidak menghasilkan bau ester yang khas dari etanol. Hasil pengujian dapat dilihat pada tabel 6 dan lampiran 7.

Tabel 6. Hasil uji bebas alkohol pada ekstrak buah jamblang

Simplisia	Tes bebas etanol	Hasil uji
Ekstrak kental buah jamblang	Ekstrak + H ₂ SO ₄ pekat + CH ₃ COOH, dipanaskan	Tidak tercium bau ester yang khas

F. Identifikasi Kandungan Senyawa Buah Jamblang

Identifikasi kandungan senyawa dari buah jamblang menggunakan reaksi warna. Hal ini dilakukan mengetahui kebenaran kandungan senyawa yang terkandung dalam buah jamblang.

Tabel 7. Identifikasi reaksi senyawa ekstrak buah jamblang

Kandungan	Prosedur	Hasil	Pustaka	Kesimpulan
Flavonoid	Ekstrak ditambah 5 ml etanol panaskan selama 5 menit, 1 mL HCl pekat dan 0,2 g serbuk mg	merah tua (magenta)	merah tua (magenta)	Positif
Steroid	Ekstrak + kloroform, saring, filtrat + asam asetat anhidrat, dinginkan + asam sulfat pekat	Cincin kecoklatan	cincin coklat	Positif
Saponin	Ekstrak ditambah akuades didihkan 2-3 menit, didinginkan kocok kuat-kuat + 3 tetes HCl 2N	buih yang stabil.	buih yang stabil.	Positif
Tanin	Ekstrak ditambah ditambah besi (III) klorida	Terbentuk warna hijau kehitaman	Terbentuk warna hijau kehitaman	Positif

Alkaloid	Ekstrak ditambah larutan amonia 10% 1,5 mL HCL dan reagen Meyer	Terbentuk endapan putih	Terbentuk endapan putih	Positif
----------	---	-------------------------	-------------------------	---------

Dapat dilihat pada tabel 7, diketahui ekstrak etanol buah jambang mengandung senyawa flavonoid, steroid, saponin, tanin, dan alkaloid. Hasil identifikasi senyawa dapat dilihat pada lampiran 8.

G. Uji Aktivitas Antioksidan terhadap Radikal Bebas DPPH

1. Hasil pengukuran panjang gelombang maksimum

Panjang gelombang maksimum merupakan panjang gelombang yang memiliki absorbansi yang paling tinggi dengan lamda tertentu. Pemilihan panjang gelombang maksimum dilakukan untuk meminimalkan kesalahan pada saat pengukuran sehingga data yang didapat akurat, selain itu pada panjang gelombang maksimum dapat meningkatkan kepekaan pengukuran karena pada panjang gelombang maksimum tersebut, perubahan absorbansi untuk setiap satuan konsentrasi adalah yang paling besar (Gandjar 2007). Hasil pengukuran panjang gelombang maksimum DPPH adalah 515,8 nm dengan absorbansi 0,686. Hasil penetapan panjang gelombang maksimum DPPH dapat dilihat pada lampiran 10.

2. Penetapan *Operating time*

Penentuan *operating time* digunakan untuk menentukan kestabilan absorbansi senyawa DPPH setelah direaksikan dengan senyawa uji. Dari hasil pengukuran *operating time* ekstrak buah jambang waktu stabil dimulai dari menit ke-25 sampai menit ke-30. *Operating time* kuersetin dimulai dari menit ke-24 sampai menit ke-30. Sehingga penelitian ini menggunakan waktu menit 30 untuk *operating time* (Sagar B 2011). Hasil penentuan *operating time* dapat dilihat pada lampiran 12 dan 16.

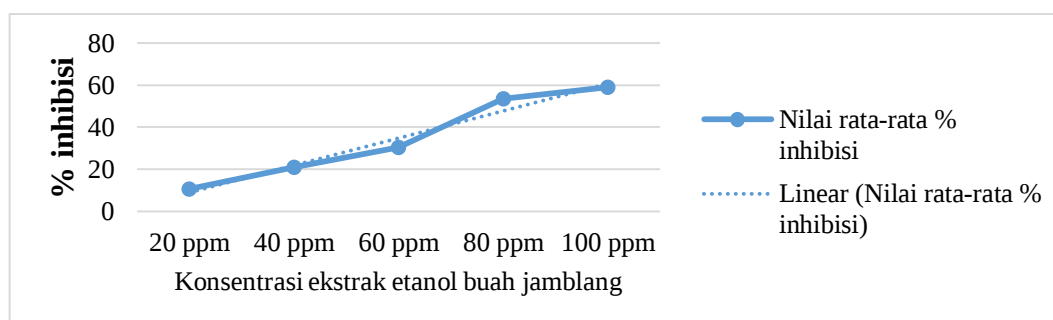
3. Hasil pengujian aktivitas antioksidan terhadap radikal bebas DPPH

Pengujian persen peredaman larutan uji (ekstrak etanol buah jambang) dilakukan dengan metode DPPH. Kuersetin digunakan sebagai pembanding dalam pengujian ini karena kuersetin merupakan glikosida flavonoid yang sudah terbukti memiliki aktivitas antioksidan.

Penambahan larutan uji yang mengandung senyawa aktif yang mampu meredam radikal bebas akan menurunkan konsentrasi DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrilhydrazyl*), diikuti dengan menurunnya serapan dari DPPH karena senyawa aktif dalam larutan uji memberikan atom hidrogen kepada radikal DPPH sehingga tereduksi menjadi DPPH-H (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazin*) dengan ditandai perubahan warna violet larutan DPPH menjadi warna kuning. Proses perubahan warna yang terjadi pada DPPH karena ikatan rangkap terkonjugasi pada DPPH berkurang.

Tabel 8. Nilai rata-rata % inhibisi ekstrak

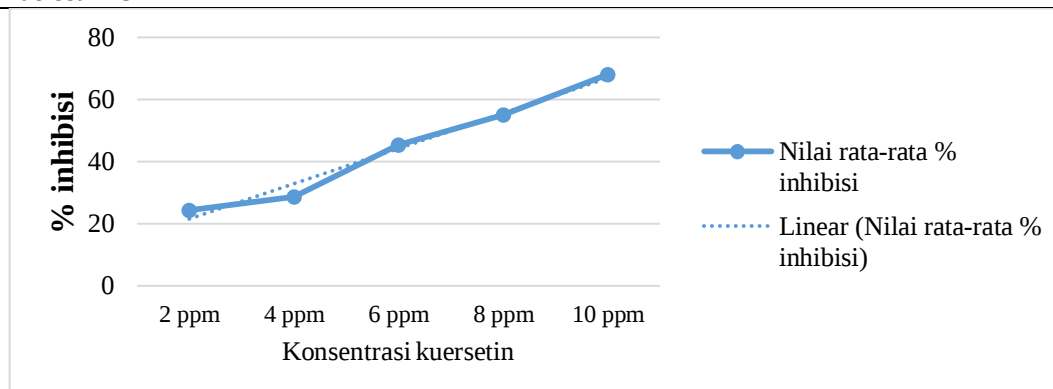
Konsentrasi larutan uji	20 ppm	40 ppm	60 ppm	80 ppm	100 ppm
Nilai rata-rata % inhibisi ekstrak $\pm$ SD	10,54 $\pm$ 0,08	20,99 $\pm$ 0	30,32 $\pm$ 0	53,60 $\pm$ 0,37	59,04 $\pm$ 0



Gambar 13. Konsentrasi larutan uji terhadap nilai rata-rata % inhibisi

Tabel 9. Nilai rata-rata % inhibisi kuersetin

Konsentrasi larutan uji	20 ppm	40 ppm	60 ppm	80 ppm	100 ppm
Nilai rata-rata % inhibisi kuersetin $\pm$ SD	24,39 $\pm$ 0,08	28,62 $\pm$ 0,08	45,43 $\pm$ 0,08	55,00 $\pm$ 0,08	68,03 $\pm$ 0,08



Gambar 14. Konsentrasi larutan uji terhadap nilai rata-rata % inhibisi

Persentase inhibisi adalah banyaknya aktivitas senyawa antioksidan yang dapat menangkap radikal bebas DPPH. Pada penelitian ini pengukuran nilai absorbansi peredaman radikal bebas DPPH dilakukan terhadap ekstrak etanol buah jamblang dan kuersetin sebagai pembanding yang dibuat dengan beberapa seri konsentrasi, setelah mereaksikan larutan uji dengan DPPH dan didiamkan selama 30 menit sehingga terjadi reaksi yang stabil antara senyawa aktif dengan DPPH. Selanjutnya diukur absorbansinya pada panjang gelombang 515,8 nm sesuai dengan hasil yang diperoleh dari pengukuran panjang gelombang maksimum DPPH.

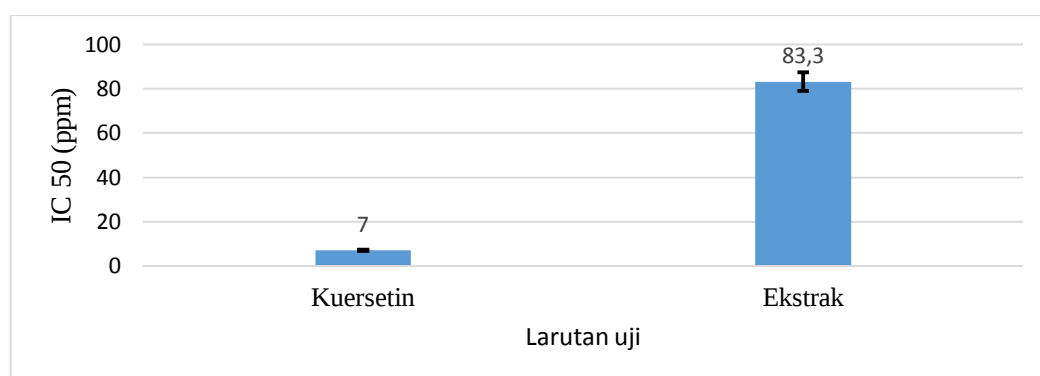
Konsentrasi sampel dan persen inhibisinya diplot masing-masing pada sumbu x dan y pada persamaan regresi linier. Persamaan tersebut digunakan untuk menentukan nilai IC_{50} dari masing-masing replikasi sampel yang dinyatakan dengan nilai y sebesar 50 dan nilai x yang akan diperoleh sebagai IC_{50} dengan menggunakan rumus $Y = a + bx$ (Ikhlas 2013). Semakin kecil harga IC_{50} maka semakin efektif sebagai antioksidan. Aktivitas peredaman radikal bebas biasanya dinyatakan sebagai persen peredaman dari DPPH yang dinyatakan sebagai konsentrasi yang menyebabkan hilangnya 50% aktivitas DPPH (IC_{50}).

Dalam melakukan penelitian ini sangat diperlukan ketelitian dalam memipet volume larutan uji sehingga diperoleh data yang linier. Menurut (Kurniawan 2008) data yang linier adalah data yang memiliki hubungan yang erat antara variabel terikat (% inhibisi) dengan variabel bebas (seri konsentrasi larutan uji) yang dinyatakan dengan nilai r dari regresi linier, hasil yang diperoleh nilai r ekstrak buah jamblang dari 3 kali replikasi adalah 0,983, 0,982, dan 0,981 sedangkan pada pembanding kuersetin 3 kali replikasi nilai r yang diperoleh adalah 0,988 hal ini menunjukkan nilai r yang mendekati 1 dapat dikatakan bahwa % inhibisi memiliki korelasi dengan ekstrak uji .

Nilai IC_{50} ekstrak adalah 83,30 ppm dan nilai IC_{50} kuersetin adalah 7 ppm. Kuersetin merupakan antioksidan dari golongan flavonoid yang cukup efektif dalam meredam aksi destruktif radikal bebas, dengan cara mendonorkan atom hidrogen pada radikal bebas sehingga radikal bebas tersebut menjadi stabil.

Ekstrak etanol buah jamblang memiliki nilai IC_{50} yang tergolong aktif yaitu berada pada kisaran 50-100 ppm (antioksidan aktif) karena mengandung senyawa flavonoid dan fenolik yang mampu untuk melindungi tubuh dari serangan radikal bebas. Flavonoid merupakan salah satu kelompok fenolik yang terdapat pada jaringan tanaman buah jamblang yang dapat berperan sebagai antioksidan, flavonoid mempunyai gugus fenol yang lebih kompleks dengan derajat hidroksilasi yang lebih tinggi. Keberadaan gugus hidroksil pada senyawa fenol dan flavonoid menimbulkan aktivitas antioksidan. Hal ini dapat disebabkan karena atom oksigen pada gugus hidroksil mempunyai pasangan elektron bebas yang cukup untuk menghambat reaktivitas atom reaktif penyusun senyawa radikal bebas (Eleanora 2013).

Hasil uji statistik menggunakan *Independent sampels t-test* bertujuan untuk membandingkan nilai rata-rata IC_{50} kuersetin dengan nilai rata-rata IC_{50} ekstrak, hal ini menunjukkan kedua rata-rata nilai tersebut berbeda secara signifikan ($p < 0,05$) artinya ekstrak etanol buah jamblang tergolong dalam antioksidan aktif mampu menetralkan radikal bebas DPPH dengan nilai rata-rata IC_{50} 83,30 ppm sedangkan kuersetin dengan nilai rata-rata IC_{50} 7 ppm tergolong dalam antioksidan kuat, mekanisme yang terjadi adalah gugus OH pada flavonoid memiliki pasangan elektron yang sangat kuat sehingga mampu mendonorkan satu elektron untuk menetralkan radikal bebas. Hasil uji statistik dapat dilihat pada lampiran 19.



Gambar 15. Aktivitas antioksidan larutan uji berdasarkan nilai IC_{50}

Secara spesifik, suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan sangat kuat jika nilai $IC_{50} < 50$ ppm, aktif 50-100 ppm, sedang 101-250 ppm, lemah 250-500

ppm, dan tidak aktif > 500 ppm (Jun *et al.* 2003). Melihat nilai IC₅₀ ekstrak etanol buah jambang adalah 83,30 ppm, termasuk dalam antioksidan aktif karena mengandung senyawa flavonoid dan fenolik yang mampu meredam radikal bebas dan nilai IC₅₀ kuersetin yang diperoleh adalah sebesar 7 ppm yang tergolong antioksidan kuat. Hasil perhitungan nilai IC₅₀ dapat dilihat pada lampiran 14 dan 18.

H. Uji Aktivitas terhadap Enzim GPx

Kemampuan dari ekstrak etanol buah jambang dalam meningkatkan aktivitas enzim antioksidan dievaluasi dengan mengukur kadar enzim GPx pada homogenat hati tikus yang telah diberi perlakuan ekstrak etanol buah jambang selama 14 hari dengan dosis 100 mg/Kg BB tikus, 200 mg/Kg BB tikus dan 400 mg/Kg BB tikus. Glutathion peroksidase adalah enzim intraseluler yang terdispersi dalam sitoplasma. Enzim glutathion peroksidase berperan penting dalam melindungi sel dari radikal bebas yang berlebih didalam tubuh. GPx adalah aktioksidan endogen yang merupakan awal dari sistem pertahanan dari dalam tubuh terhadap radikal bebas, ketika radikal bebas berlebihan didalam tubuh maka enzim ini akan menetralkan H₂O₂ menjadi 2 molekul air sehingga radikal bebas menjadi netral kembali.

GPx mengkatalisis reaksi perubahan GSH menjadi GSSH, sekaligus mengurangi jumlah hidrogen peroksida (H₂O₂) yang dirubah menjadi 2 molekul air (H₂O). H₂O₂ merupakan senyawa oksigen reaktif non radikal, tetapi mudah berubah menjadi radikal bebas (Droge 2007). Dalam *Gluthation peroxidase activity assay*, GPx mereduksi *Cumene Hydroperoxide* saat terjadi oksidasi glutathion tereduksi (GSH) menjadi glutathion disulfide (GSSH). Selanjutnya GSSH yang dihasilkan direduksi menjadi GSH, reaksi tersebut dikatalisis oleh glutathion reduktase (GR) dengan mengkonsumsi NADPH. Penurunan NADPH diukur pada panjang gelombang 340 nm sebanding dengan aktivitas GPx.

Tabel 10. Data aktivitas enzim GPx kelompok perlakuan pada tikus diabetes.

Kelompok	N	Aktivitas GPx (U/mg)±SD
Kelompok normal	5	69,61±3,72
Kelompok negatif	5	17,90 ^{ac} ±1,48
Kelompok pembanding	5	60,50 ^{ab} ±2,35

Dosis ekstrak 100 mg/Kg BB tikus	5	28,24 ^{abc} ±2,08
Dosis ekstrak 200 mg/Kg BB tikus	5	36,89 ^{abc} ±3,72
Dosis ekstrak 400 mg/Kg BB tikus	5	58,34 ^{ab} ±5,08

Keterangan :

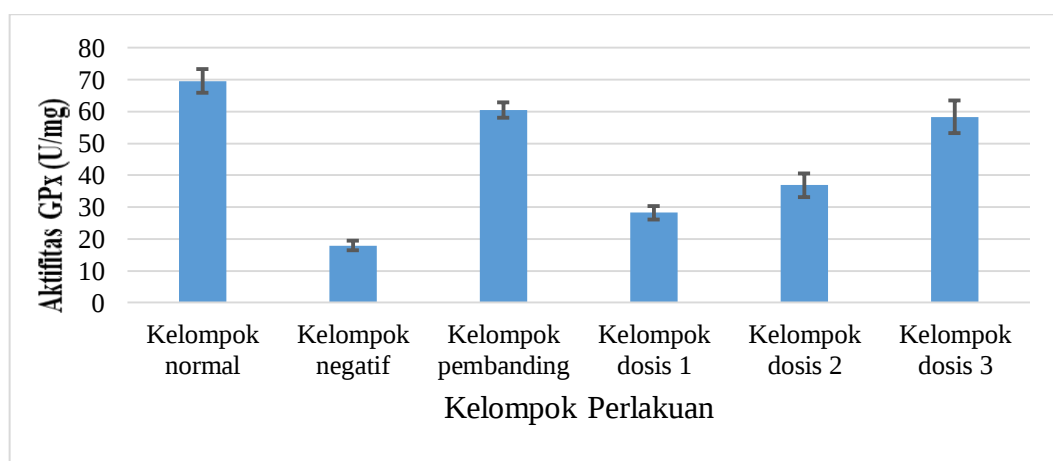
a : berbeda signifikan terhadap kelompok kontrol normal ($p < 0,005$).

b : berbeda signifikan terhadap kelompok kontrol negatif ($p < 0,005$).

c : berbeda signifikan terhadap kelompok kontrol pembanding ($p < 0,005$).

Kelompok normal memberikan gambaran kadar normal enzim antioksidan GPx pada keadaan sehat. Nilai pada kelompok ini digunakan sebagai pembanding untuk melihat adanya perubahan status antioksidan yang terjadi pada kondisi stres oksidatif tikus yang telah diinduksi aloksan. Penggunaan aloksan sebagai penginduksi dalam *diabetes mellitus* karena aloksan merusak substansi esensial di dalam sel β pankreas sehingga terjadi gangguan produksi insulin. Aloksan menginduksi respon gula darah ketika diinjeksi ke hewan percobaan, yang diikuti dengan perubahan dalam konsentrasi plasma insulin yang selanjutnya diikuti dengan perubahan struktur sel β yang nantinya akan menyebabkan nekrosis.

Nilai GPx (U/mg) menyatakan jumlah enzim yang dibutuhkan dalam mengkatalisis oksidasi dari nmol NADPH permenit dalam satu mg protein. Dalam keadaan normal jaringan hati memiliki sistem pertahanan alami berupa enzim antioksidan endogen yaitu SOD, GPx, dan katalase (cat) yang berfungsi menetralkan dan mempercepat degradasi senyawa radikal bebas sehingga kerusakan komponen makromolekul sel dapat dicegah (Valko *et al.* 2007).



Gambar 16. Aktivitas enzim GPx (U/mg) seluruh kelompok perlakuan

Pada grafik tersebut diperoleh hasil rata-rata pengukuran aktivitas enzim GPx kelompok normal dengan nilai tertinggi yaitu 69,61 U/mg. Hal tersebut

disebabkan karena pada kondisi normal organ hati pada tikus bekerja dengan baik dengan mekanisme sistem pertahanan alami berupa enzim antioksidan intrasel yaitu GPx yang berfungsi untuk menetralkan dan mempercepat degradasi senyawa radikal bebas sehingga mencegah kerusakan komponen makromolekul sel dan terjadi keseimbangan antara radikal bebas didalam tubuh oleh aktivitas enzim GPx (Setiawan dan Suhartono 2005).

Kadar enzim GPx pada kelompok kontrol negatif adalah 17,9 U/mg. Hal ini menunjukkan penurunan kadar enzim GPx yang signifikan ($p < 0,05$), jika dibandingkan dengan kelompok kontrol pembanding, dapat dikatakan bahwa kelompok kontrol negatif tidak memiliki efek yang mampu meningkatkan aktivitas enzim GPx dan digunakan sebagai penanda kerusakan oksidatif akibat berlebuhnya radikal bebas dalam tubuh yang ditandai dengan berkurangnya kadar enzim GPx dari keadaan normal, sedangkan pada kelompok pembanding setelah diinduksi aloksan dan diberikan obat glibenklamid dapat meningkatkan kembali kadar enzim GPx sebesar 60,5 U/mg meskipun tidak mencapai keadaan yang sama seperti pada kelompok normal (hanya diberi makan dan minum) sebesar 69,61 U/mg namun glibenklamid mampu meningkatkan kembali aktivitas enzim GPx yang dibuktikan dengan signifikan ($p < 0,05$). Glibenklamid adalah diabetik oral yang bekerja dengan cara meningkatkan sekresi insulin. Glibenklamid bekerja dengan merangsang sekresi insulin dari granula sel-sel beta Langerhans pankreas. Rangsangannya melalui interaksi dengan *ATP-sensitive K channel* pada membran sel-sel beta yang menimbulkan depolarisasi membran dan keadaan ini akan membuka kanal Ca. Dengan membukanya kanal Ca maka ion Ca^{++} akan masuk sel- beta, merangsang granula yang berisi insulin dan akan terjadi sekresi insulin sehingga tidak terjadi hiperglikemia (Liem 2015). Glibenklamid dapat meningkatkan enzim endogen GPx, SOD dan katalase dengan mekanisme menyebabkan homeostasis pada pankreas berjalan baik yang mengakibatkan enzim pertahanan endogen dapat bekerja menetralkan atau menangkap radikal bebas (Shakya *et al.* 2012). Perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$) berdasarkan analisis statistik antara kelompok kontrol negatif jika dibandingkan dengan kelompok normal, kelompok pembanding, dan kelompok variasi dosis ekstrak.

Hal tersebut disebabkan karena selama 14 hari pada kelompok kontrol negatif hanya diberikan pembawa CMC 0,5% dengan kondisi hiperglikemia akibat diinduksi aloksan.

Kondisi hiperglikemia menyebabkan autooksidasi glukosa, glikasi protein, dan aktivasi jalur metabolisme poliol yang selanjutnya mempercepat pembentukan senyawa oksigen reaktif yang dapat menyebabkan modifikasi molekuler berbagai jaringan, hal ini merupakan awal kerusakan oksidatif karena terjadi ketidakseimbangan antara antioksidan protektif dan peningkatan produksi radikal bebas. Radikal bebas yang dihasilkan tidak mampu dinetralkan oleh antioksidan endogen yaitu GPx.

Hasil pengukuran rata-rata aktivitas enzim GPx pada semua kelompok tikus, ekstrak etanol buah jamblang dengan dosis 100 mg/kgbb, 200 mg/kgbb, dan 400 mg/kgbb menunjukkan terjadi peningkatan aktivitas enzim GPx bila dibandingkan dengan rata-rata aktivitas pada kelompok negatif ($p < 0,05$), hal ini terjadi karena pengaruh pemberian ekstrak secara oral selama 14 hari. Berdasarkan hasil statistik pada kelompok dosis 100 mg/kgbb mampu meningkatkan aktivitas enzim GPx bila dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif dengan signifikan ($p < 0,05$) namun bila dibandingkan dengan dosis 200 mg/kgbb, pada dosis ini menunjukkan signifikan ($p < 0,05$) artinya dosis 200 mg/kgbb mampu meningkatkan aktivitas enzim GPx bila dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif dan kelompok dosis 100 mg/kg. Pada dosis 400 mg/kgbb telah efektif untuk meningkatkan aktivitas enzim GPx karena secara signifikan aktivitas enzim GPx sebesar 58,34 U/mg dari dosis 400 mg/kgbb hampir sama nilainya atau tidak memiliki perbedaan secara signifikan dengan kontrol pembanding yaitu glibenklamid dengan nilai 60,5 U/mg ($p > 0,05$).

Peningkatan kadar pada kelompok pembanding dan ketiga kelompok ekstrak buah jamblang menunjukkan adanya pengaruh terhadap peningkatan mekanisme pertahanan adaptif terhadap radikal bebas dan melindungi pankreas dari stres oksidatif. Peningkatan aktivitas pada variasi dosis ekstrak menunjukkan bahwa peningkatan dosis ekstrak etanol buah jamblang mampu meningkatkan aktivitas enzim GPx yang efektifitasnya sebanding dengan besarnya dosis.

Aktivitas senyawa metabolit yang terkandung dalam ekstrak buah jamblang terbukti dapat bertindak sebagai antioksidan. Peningkatan aktivitas GPx dapat dikaitkan dengan kandungan senyawa flavonoid yang terdapat pada buah jamblang. Peran antioksidan pada DM dapat menyebabkan penekanan apoptosis sel beta yang diinduksi stress oksidatif tanpa mengubah tingkat poliferasinya (Monroy dan Mejia 2013).

Flavonoid merupakan salah satu senyawa metabolit sekunder yang paling banyak ditemukan dalam jaringan tanaman, telah diketahui bahwa beberapa senyawa flavonoid yang terkandung pada tanaman memiliki sifat sebagai antioksidan, flavonoid merupakan senyawa pereduksi yang baik menghambat banyak reaksi oksidasi, baik secara enzim maupun non enzim (Redha 2010).

Tanin menurunkan kadar glukosa darah yaitu dengan meningkatkan glikogenesis. Selain itu, tanin juga berfungsi sebagai adstringen atau pengkelat yang dapat mengkerutkan membran epitel usus halus sehingga mengurangi penyerapan sari makanan dan menghambat asupan gula sehingga laju peningkatan gula darah tidak terlalu tinggi (Meidiana dan Widjanarko 2014). Alkaloid terbukti mempunyai kemampuan regenerasi sel β pankreas yang rusak (Arjadi dan Susatyo 2010), juga menstimulasi pelepasan insulin dan memblokir pembentukan glukosa dalam aliran darah (Bhushan *et al.* 2010).

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat ditarik kesimpulan bahwa :

Pertama, ekstrak etanol buah jamblang memiliki aktivitas antioksidan dalam menangkal radikal bebas DPPH dengan nilai IC_{50} 83,30 ppm.

Kedua, ekstrak etanol buah jamblang mampu meningkatkan aktivitas enzim glutathion peroksidase pada tikus yang diinduksi aloksan sebesar 60,5 U/mg.

Ketiga, dosis ekstrak etanol buah jamblang yang paling kuat dalam meningkatkan aktivitas enzim glutathion peroksidase adalah dosis 400 mg/kg BB tikus.

B. Saran

Saran untuk penelitian ini adalah

Pertama, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk melihat senyawa apa saja yang terkandung dalam buah jamblang yang mampu menghambat radikal bebas DPPH dan meningkatkan aktivitas enzim glutathion peroksidase.

Kedua, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan menggunakan metode uji antioksidan yang lain seperti metode uji Trap, metode uji ABTS dan metode uji Frap terkait efek antioksidan pada ekstrak buah jamblang secara *in vitro*.

Ketiga, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan terkait aktifitas enzim SOD dan katalase pada tanaman buah jamblang.

DAFTAR PUSTAKA

- Anderson MM, Requena JR, Crowley JR, Thorpe SR, Heinecke JW. 1999. The myeloperoxidase of human phagocytes generates *N*-carboxymethyl lysine on proteins: a mechanism for producing advance glycation end products at sites of inflammation. *J Clin Invest* 104 (1):103-13.
- Anindhita. 2009. Efek aloksan terhadap kadar glukosa darah tikus wistar [Skripsi]. Semarang: Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.
- Anonim. 1993. *Pedoman Pengujian dan Pengembangan Fitofarmaka, Penapisan Farmakologi dan Pengujian Klinik*. Jakarta: Yayasan Pengembangan Obat Bahan Alam Phyto Medica.
- Anonim. 2008. *MIMS Petunjuk Konsultasi*. Jakarta: PT. Info Master Lisensi.
- Antolovich, Michael, Paul DP, Emilios P, Suzanne MD, Kevin R. 2002. Methods for testing antioxidant activity. *Analyst* 172:183-198.
- Arjadi F, P. Susatyo. 2010. Regenerasi sel pulau Langerhans pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) diabetes yang diberi rebusan daging mahkota dewa (*Phaleria macrocarp* (Scheff) Boerl.) 2 (2).
- Atta-ur-Rahman & Choudary, MI. 2001. Bioactive natural product a potential pharmacopores, a theory of memory, pure appl. *Chem* 73: 555-560
- Ayyanar, M dan Pandurangan, SB. (2012): (*Syzygium cumini* (L.) Skeels.): A review of its fitochemical constituents and traditional uses. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 240-243.
- Beckett AH, Kalsi VS, 2003. *Compelling need for supplementation: how specific nutrients help retard the complication of diabetes melitus*. Disampaikan dalam Symposium "Compeling Need For Nutrient Therapy in The Treatment of Diabetes Mellitus and The Associated Complication", Surabaya, 8 February, 2003.
- BioVision. 2017. Glutathione Peroxidase Activity Assay Kit. [Catalog #K762-100]. <http://www.biovision.com> [27 Oktober 2017].
- Brouillard R. 1982. Chemical Structure of Anthocyanins. Di dalam: Markakis P, editor. *Anthocyanins as Food Colors*. Academic Press, New York.
- Brown JE, Kelly MF. 2007. Inhibition of lipid peroxidation by anthocyanins, anthocyanidins and their phenolic degradation products. *Eur J Lipid Sci Technol* 109:66-71.

- Burda S, Oleszek W. 2001. Antioxidant and antiradical activities of flavonoids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49: 2774-2779.
- Champe Pamela C, Harvey Richard A, Ferrier Denise R. 2011. Biokimia ulasan bergambar edisi-3. Penerbit buku kedokteran. Hlm 412.
- Corwin Ej. 2009. *Buku Saku Patofisiologi*. Edisi Revisi ke-3. Subekti NB, Penerjemah; Jakarta: ECG. Terjemahan dari: *Handbook of Pathophysiology*.
- Dalimartha S. 2008. *1001 Resep Herbal*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2000. *Parameter standar umum ekstrak tumbuhan obat*. Jakarta.
- Departemen Kesehatan. 1995. *Farmakope Indonesia*. Edisi ke-4. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Departemen Kesehatan. 2009. *Pedoman Pengendalian Tikus Khusus di Rumah Sakit*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Draelos. 2010. *Cosmetic Dermatology Products & Procedures*. United Kingdom: Willey-Backwell.
- Eleanore, Y. 2013. Analisis Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Sengon (*Paraserianthes falcataria* (L.) Nielsen) Menggunakan Metode DPPH. [skripsi]. Bogor: Departemen Biokimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Pertanian Bogor.
- Erlund, Iris. 2012. *Chemical Analysis and Pharmacokinetics Of The Flavonoids Quercetin, Hesperitin And Naringenin In Humans*, University of Helsinki 21.
- Gandjar, Ibnu G, Abdul R. 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Gunawan D, Mulyani S. 2007. *Ilmu Obat Alam (Farmakognosi)*. Jilid Pertama. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Haffner SM. 1999. The importance of hyperglycemia in the non fasting state to the development cardiovascular state. *Endocrine Review* 19(5):583-92.
- Halliwell B, Gutteridge JMC. 1999. *Free Radicals in Biology and Medicine*. New York: Oxford University Press.
- Harborne JB. 1987. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Terbitan ke-2. Padmawinata K, Soediro I, penerjemah; Bandung: Institut Teknologi Bandung. Terjemahan dari: *Phytochemical Methods*.

- Heinrich M, Barnes J, Gibbons S, Williamson E. 2009. *Farmakognosi dan Fitoterapi*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran. Hlm 85.
- Herbie Tandi. 2015. Kitab Tanaman Obat : 226. Tumbuhan Obat Untuk Penyembuhan Penyakit Dan Kebugaran Tubuh. Penerbit octopus. Hlm 340
- Hernani dan Rahardjo. 2005. *Tanaman Berkhasiat Antioksidan*. Jakarta : Penebar Swadana.
- Ikhlas Nur. 2013. Uji aktifitas antioksidan ekstrak herba kemangi (*Ocimum americanum* Linn) [Skripsi]. Jakarta: Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Syarif Hidayatullah.
- Jun, M.H.Y., J., Fong, X., Wan, C.S., Yang, C.T., and Ho. Camparison of antioxidant activities of isoflavones form kudzu root (*Pueraria labata* O). *Journal Food Science Institute of Technologist* 68:2117-2122.
- Kelly. G. S. Quercetin *Alternative Medicine Review*, 16(2), 2011.
- Ketaren S. 1986. *Pengantar Teknologi Minyak dan Lemak Pangan*. Jakarta: UI Press. Hlm 125.
- Khlifi S, Hachmini Y, Khalil A, Safi N, Abbouyi A. 2005. In vitro antioxidant effect of Globularia alypum L. Hy dromethanolic extract. *Indian J Pharmacol* 37(4):227-231.
- Khomsan A. 2009. *Rahasia Sehat dengan Makanan Berkhasiat*. Jakarta: Kompas Media Nusantara.
- Kong JM, Chia LS, Goh NK, Chia TF, Brouillard R. 2003. Analysis and biological activities of anthocyanins. *Phytochemistry* 64:923-933.
- Kowluru RA, Tang J, Kern TS. 2001. Abnormalities of retinal metabolism in diabetes and experiment galactosemia. *Diabetes* 50:1938-42.
- Kurniawan D. 2008. Regresi linier. <http://ineddeni.wordpress.com>
- Leimena, B. B., 2008. *Karakterisasi dan Purifikasi Antosianin Pada Buah Duwet*. IPB. Bogor
- Lestario LN. 2003. The potential of java plum (*Syzygium cumini*) as source of food natural antioxidant. *Indonesian Food and Nutrition Progress* 10(1):40-45.
- Liem Steffi, Yuliet, Khumaidi Akhmad. 2015. Uji aktivitas antidiabetes kombinasi glibenklamid dan ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum* Wight.) terhadap mencit (*Mus musculus*) yang diinduksi aloksan. *GALENKA Journal of Pharmacy* vol.1 (1) : 42-47

- Marliani Lia, Kusriani Herni Sari Indah Nur. 2014. Aktivitas antioksidan daun dan buah jamblang (*Syzigium Cumini* L.) Skeel. Prosiding SNaPP2014 Sains, Teknologi, dan Kesehatan.
- Meidiana Okky, Widjanarko SB. 2014. Uji efek ekstrak air daun pandan wangi terhadap penurunan kadar glukosa darah dan histopatologi tikus diabetes mellitus. *Jurnal Pangan dan Agroindustri* 2:16-27.
- Moron UM, Cortazar IC. 2012. Protection against oxidative stress and “IGF-I deficiency conditions”. *Intech* 1:89-116.
- Mukhriani. 2014. Ekstraksi, pemisahan senyawa, dan identifikasi senyawa aktif. *Jurnal Kesehatan* 7(2).
- Mustarichie R, Musfiroh I, Levita J. 2011. *Metode Penelitian Tanaman Obat*. Bandung: Widya Padjajaran. Hlm 8-17.
- Mustofa, M Syamsul. (2015). Pemendekan telomer pada penderita diabetes melitus *Jurnal Kedokteran Yarsi* 23 (3) : 197-211.
- Nabyl. 2012. *Panduan Hidup Sehat Mencegah dan Mengatasi Diabetes Mellitus*. Yogyakarta: Aulia Publishing.
- Nishimura CY. 1998. Aldose reductase in glucose toxicity: A potential targets for the prevention of diabetic complications. *Pharmacological reviews* 50(1):21-33.
- Nugroho AE. 2012. *Farmakologi Obat-obat Penting dalam Pembelajaran Ilmu Farmasi & Dunia Kesehatan*. Yogyakarta: Pustaka pelajar. Hlm 146-152.
- Nuttal SL, Dunne F, Kendal MJ, Martin U. 1999. Age-independent oxidative stress in elderly patiens with non-insulin dependent diabetes mellitus. *Q J Med* 92:33-8.
- Oberley LW. 1988. Free radicals and biabetes. *Free Radic Biol Med* 5(2): 113-24.
- Parkeni. 2011. *Konsensus Pengelolaan dan Pencegahan Diabetes Mellitus Tipe 2 di Indonesia*. Jakarta: Parkeni.
- Paulsen, susan. (2003). *Quercetin Monograph*, diakses tanggal 11 Oktober 2017.
- Porth CM, Matfin G. 2009. Pathophysiology: Concepts of Altered Health States. 8th edition.
- Rahbani-Nobar ME, Rahimi-Pour A, Adi-Beig F, Mirhashemi SM. 1999. Total antioxidant capacity, superoxide dismute and glutathione peroxidase in diabetic patients. *Medical journal of Islamic Academy of Sciences* 12(4):109-14.

- Ramya, S., Neethi rajan, K., and Jaya kumararaj, R. 2012. Profile of bioactive compounds in *Syzygium cumini*—a review. *J. Pharm. Res.* 5, 4548–4553.
- Redha A. 2010. Flavonoid: struktur, sifat antioksidatif dan peranannya dalam sistem biologis. *Jurnal Belian* 9:196-202.
- Robinson T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Edisi IV. Bandung: Institut Teknologi Bandung. Hlm 281.
- Rohrdanz E, Sandra O, Quynh-Hoa T, Regine K. 2002. The phytoestrogen daidzein effects the antioxidant enzyme system rat hepatoma H4HE cells *Journal of Nutrition* 132: 370-375.
- Sacher RA, Mc Pherson RA. 2004. *Tinjauan Klinis Hasil Pemeriksaan Laboratorium*. Jakarta: EGC. Hlm. 518-526.
- Safitri, D. E., 2012. *Stabilitas Antosianin dan Aktivitas Antioksidan pada Minuman Sari Buah Duwet*. IPB. Bogor.
- Sagar B, Kedare S. 2011. *J Food Sci Technol* 48(4):412-422.
- Sangi, M; runtuwene, M.R.J.; Simbala, H.E.I. dan Makang,V.M.A. Analisis Fitokimia Tumbuhan di Kabupaten Minahasa Utara. *Chemistry progres*. 2008,1,47-53.
- Saputra Frans, Sutrisna EM, Nurhayani. 2016. Uji efek ekstrak etanol 96% anggur merah (*Vitis vinifera*) terhadap penurunan kadar trigliserida pada tikus putih (*Rattus Novergicus*) yang diinduksi triton X-100. Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Surakarta. **Biomedika**, Volume 8 Nomor 2.
- Sari P, Wijaya CH, Sajuthi D, Supratman U. 2009. Identifikasi antosianin buah duwet (*Syzygium cumini*) menggunakan kromatografi cair kinerja tinggi (*diode array detection*). *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan* XX(2):102-108
- Sen S, Chakraborty R, Sridhar C, Reddy R, Biplab D. 2010. Free Radicals, Antioxidants, Diseases and Phytomedicines : Current Status and future prospect. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Rivew and Research* 3(1): 021.
- Setiawan B, Suhartono E. 2005. Stres oksidatif dan peran antioksidan pada diabetes melitus. *Majalah kedokteran Indonesia* 55(2): 86-91.
- Setyanto AMN. 2012. Formulasi sediaan krim antioksidan dari ekstrak etanol daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) [Skripsi]. Surakarta: Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi.

- Shakya G, Goud C, Pajaniradje S, Rajagopalan R. 2012. Protective Role of Wheatgrass on Oxidative stress In Streptozotocin Induce Type 2 Diabetic Rats. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. ISSN- 0975-1491. Vol 4, Issue 3.
- Soegondo S. 2013. *Penatalaksanaan Diabetes Mellitus Terpadu*. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Soesilowati S. 2003. Diabetic neuropathy: pathogenesis and treatment. *Acta Medica Indonesiana* 35(1):27-34.
- Sudarmaji S, Haryono B, Suhardi. 2010. *Prosedur Analisis untuk Bahan Makanan dan Pertanian*. Yogyakarta: Liberty.
- Sudoyo AW, Setiyohadi B, Alwi I, Simadibrata M, Setiadi S. 2006. *Buku Ajar Penyakit Dalam*. Jilid 3 Edisi IV. Jakarta: Pusat Penerbitan Departemen Ilmu Penyakit Dalam FKUI. Hlm 1852-1893.
- Sukandar E Y, Andrayati R, Sigit JI, Adnyana IK, Setiadi AAP, Kusnandar. 2008. *ISO Farmakoterapi*. Jakarta: PT. ISFI Penerbitan. Hlm 26-36.
- Sunarni T. 2005. Aktivitas antioksidan penangkap radikal daun kepel (*Stelechocarpus burahol* (BI.) Hook f. & Th.). *Jurnal Farmasi Indonesia* 2:14-15.
- Susilowati N. 2010. Aktivitas antioksidan fraksi-fraksi ekstrak metanolik daun seligi (*Phyllanthus buxifolius*. Muell, Arg) terhadap radikal bebas DPPH (1,1-Difenil-2-pikrilhidrazil) [skripsi]. Surakarta: Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi.
- Szkudelski T. 2001. The Mechanism of Alloxan and Streptozotocin Action in B Cells of Rat Pancreas. *Physiol. Res.* 50: 536-546.
- Tan Hoan, Raharja, Kirana. (2002), *Obat-Obat Penting: Khasiat Penggunaan dan Efek-Efek Sampingnya*, Edisi Kelima, Cetakan Kedua, Penerbit PT. Alex Media Komputindo, Jakarta.
- Teixeira CC. 1997. The effect of (*Syzygium cumini* (L.) Skeels.) on post-prandial blood glucose levels in non-diabetic rats and rats with streptozocin induced diabetes mellitus. *Journal of Ethnopharmacology* 56:209-213.
- Tiwari, Prashant. Bimlesh Kumar, Mandeep Kaur, Gurpreet Kaur, Harleen Kaur. 2011. Phytochemical Screening and Extraction : A Review. *International Pharmaceutica Scienca*. 1 (1): 98-106.
- Ueno Y, Kizaki M, Nakagiri R, Kamiya T, Sumi H, Osawa T. 2002. Dietary glutathione protects rats from diabetic nephropathy and neuropathy. *J Nutr* 132:897-900.

- Vernin, G. Metzger J, Roque C, and Pieribattesti, J.-C. (1991). Volatile constituents of the jamrosa aroma *Syzygium jambos* L. from Reunion Island. *J. Essent.Oil Res.* 3, 83–97.
- Widiowati W. 2008. Potensi antioksidan sebagai antidiabetes. *Jurnal Kedokteran Maranatha* 7(2).
- Winarsi, H (2007) : *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Yogyakarta : Kanisius.
- Biro Pusat Statistik. (1992). *Kemiskinan dan Pemerataan Pendapatan di Indonesia, Tahun 1976-1990*. Jakarta: BPS.
- Windono, T., Soediman, S., Yudawati, U., Ermawati, E., Srielita, Erowati, T. I. (2001). Uji perendaman radikal bebas terhadap 1,1 diphenyl-2-picrilhydrazyl (DPPH) dari ekstrak kulit buah dan biji anggur (*Vitis vinifera* L.) Probolinggo Biru dan Bali. *Artocarpus* 1.
- Youngson R. 2005. *Antioksidan Manfaat Vitamin C & E Bagi Kesehatan*. Jakarta: Arcan.
- Zalukhu Marta Lisnawati, Phyma Agustinus Rudolf, Pinzon Rizaldy Taslim. (2016). Proses Menua, Stres Oksidatif, dan Peran Antioksidan. Fakultas Kedokteran Universitas Kristen Duta Wacana/RS. Bethesda, Yogyakarta, Indonesia. CDK-245/ vol. 43 no. 10.
- Zhang Liang Liang dan Lin Yi Ming. 2009. Antioxidant tannins from *Syzygium cumini* fruit. *African Journal of Biotechnology* Vol. 8 (10), pp. 2301-2309.

Lampiran 1. Surat determinasi buah jamblang



**LABORATORIUM BIOLOGI
FAKULTAS KEGURUAN DAN ILMU PENDIDIKAN
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SURAKARTA**

Jl. A. Yani Tromol Pos 1 Pabelan Kartasura Surakarta 57102.Telp. (0271) 717417 ext 171

SURAT KETERANGAN

No: 679/A.E-I/LAB.BIO/IX/2017

Yang bertanda tangan di bawah ini atas nama Laboratorium Biologi Universitas Muhammadiyah Surakarta menerangkan bahwa:

Nama : Jolifan Regulo Freitas
NIM : 20144147A
Program Studi : S1 Farmasi
Fakultas : Farmasi
Perguruan Tinggi : Universitas Setia Budi
Keperluan : Skripsi

Menyatakan bahwa mahasiswa tersebut telah mendeterminasikan Tanaman **Duwet atau Jamblang (*Syzygium cumini* (L.) Skeels.)** dengan sinonim:

1. *Eugenia cumini* (L.) Druse.
2. *Eugenia jambolana* Lmk.

Pendeterminasian dilakukan pada:

Hari : Kamis
Tanggal : 07 September 2017
Tempat : Laboratorium Biologi

Demikian surat keterangan ini kami buat, harap dipergunakan dengan semestinya.

Surakarta, 07 September 2017

Mengetahui,

Kepala Laboratorium Biologi,

Penanggung jawab determinasi,



Rina Astuti, M.Pd

NIK: 110.1653

Siti Kartika Sari, M.Pd.

Duwet atau Jamblang (*Syzygium cumini* (L.) Skeels.)

Kunci Determinasi :

1b, 2b, 3b, 4b, 12b, 13b, 14b, 17b, 18b, 19b, 20b, 21b, 22b, 23b, 24b, 25b, 26b, 27a, 28b, 29b, 30b, 31a, 32b, 403b, 404b, 405a, 406a, 407b, ... → Familia : Myrtaceae
 1a, 2b, 3b, 7b 8b, 9b, 10b, → Genus : *Syzygium*
 1b, 7b, 8b, 11a, 13b, 14b, 15a, 16b, 18a, 19a, ... → Species: *Syzygium cumini* (L.) Skeels.

Klasifikasi :

Divisio : Spermatophyta
 Sub Divisio : Angiospermae
 Classis : Dicotyledoneae
 Sub Classis : Dialypetalae
 Ordo : Myrtales
 Familia : Myrtaceae
 Genus : *Syzygium*
 Species : *Syzygium cumini* (L.) Skeels.

Sinonim : *Eugenia cumini* (L.) Druse.
Eugenia jambolana Lmk.

Tabel Deskripsi tanaman *Syzygium cumini* (L.) Skeels. :

Keterangan	Deskripsi
Akar dan ciri umum	Tanaman pohon, memiliki perakaran tunggang.
Batang	Batang berkayu, kulit batang coklat dan kasar, silindris, monopodial.
Daun	Daun berwarna hijau, duduk berhadapan, lamina tebal dan beraroma khas, pertulangan menyirip, petiolus pendek, panjang helaian sekitar ± 10 cm dengan lebar $\pm 6,5$ cm, bangun daun bulat telur sampai oval, basis membulat sampai tumpul, apex membulat meruncing.
Buah	Buah buni dengan ujung bebas dan membulat.
Manfaat	Merupakan tanaman yang sering dibudidayakan sebagai tanaman hias dan tanaman obat.

Sumber :

Becker, D.Sc, C.A. and Van den Brink Jr, PH.D., R.C. Bakhuizen. 1965. *Flora of Java (Spermatophytes only)* Vol I. Groningen-The Netherlands: Wolters-Noordhoff N.V.

Steenis, C.G.G.J. van. 2005. *Flora*. Jakarta : PT. Pradnya Paramita.

Tjitrosoepomo, G. 2007. *Taksonomi Tumbuhan Spermatophyta*. Yogyakarta : UGM Press.

Lampiran 2. Ethical clearance

12/5/2017

Form A2



HEALTH RESEARCH ETHICS COMMITTEE
KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN
Dr. Moewardi General Hospital
RSUD Dr. Moewardi



School of Medicine Sebelas Maret University
Fakultas Kedokteran Universitas sebelas Maret

ETHICAL CLEARANCE **KELAIKAN ETIK**

Nomor : 1.074 / XI / HREC / 2017

The Health Research Ethics Committee Dr. Moewardi General Hospital / School of Medicine Sebelas Maret
 Komisi Etik Penelitian Kesehatan RSUD Dr. Moewardi / Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret

Maret University Of Surakarta, after reviewing the proposal design, herewith to certify
 Surakarta, setelah menilai rancangan penelitian yang diusulkan, dengan ini menyatakan

That the research proposal with topic :
 Bahwa usulan penelitian dengan judul

EFEK EKSTRAK ETANOL BUAH JAMBLANG (*Syzygium cumini* (L) Skeels) TERHADAP RADIKAL BEBAS DPPH (in vitro) DAN AKTIVITAS ENZIM GLUTATION PEROKSIDASE PADA TIKUS DIABETES

Principal investigator : Jolifan Regulo Freitas
Peneliti Utama : 20144147A

Location of research : Universitas Gadjah Mada
Lokasi Tempat Penelitian

Is ethically approved
 Dinyatakan layak etik

Issued on : 05 Dec 2017
 Chairman
 Ketua

 Dr. Hari Wujoso, dr., Sp.F.MM
 NIP. 19621022 199503 1 001

Lampiran 3. Sertifikat Pelatihan Hewan Uji

Pusat Studi Pangan dan Gizi
Universitas Gadjah Mada

SERTIFIKAT

Nomor : PSPG-UGM/06/PHC/XI/2018

DIBERIKAN KEPADA

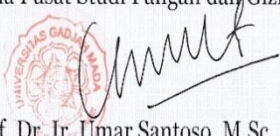
Jolifan Regulo Freitas

sebagai

Peserta

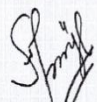
Pada “Pelatihan Dasar Penanganan Hewan Coba”
yang diselenggarakan oleh:
Pusat Studi Pangan dan Gizi
Universitas Gadjah Mada
Yogyakarta, 31 Januari 2018

Kepala Pusat Studi Pangan dan Gizi,



Prof. Dr. Ir. Umar Santoso, M.Sc.

Ketua Pelaksana,



Dr. Siti Helmyati, DCN., M.Kes

Lampiran 4. Perhitungan rendemen pengeringan buah jamblang

Simplisia	Berat basah (Kg)	Berat kering (Kg)	Rendemen (%)
Buah jamblang	18	1,8	10

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{\text{Berat kering (Kg)}}{\text{Berat basah (Kg)}} \times 100 \%$$

$$\begin{aligned} \text{Rendemen (\%)} &= \frac{1,8 \text{ Kg}}{18 \text{ Kg}} \times 100 \% \\ &= 10 \% \end{aligned}$$

Lampiran 5. Penetapan kadar air serbuk buah jamblang

Berat serbuk (g)	Volume terbaca (mL)	Kadar air (%)
20,05	1,8	8,97
20,08	1,6	7,96
20,04	1,8	8,98
Rata-rata		8,7

Perhitungan :

$$\begin{aligned}
 \text{Kadar air}_1 &= \frac{\text{volume terbaca (mL)}}{\text{berat serbuk (g)}} \times 100\% \\
 &= \frac{1,8 \text{ mL}}{20,05 \text{ g}} \times 100\% \\
 &= 8,97 \%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Kadar air}_2 &= \frac{\text{volume terbaca (mL)}}{\text{berat serbuk (g)}} \times 100\% \\
 &= \frac{1,6 \text{ mL}}{20,08 \text{ g}} \times 100\% \\
 &= 7,96 \%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Kadar air}_3 &= \frac{\text{volume terbaca (mL)}}{\text{berat serbuk (g)}} \times 100\% \\
 &= \frac{1,8 \text{ mL}}{20,04 \text{ g}} \times 100\% \\
 &= 8,98 \%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Rata-rata kadar air serbuk buah jamblang} &= \frac{\text{Kadar air}_1 + \text{kadar air}_2 + \text{kadar air}_3}{3} \\
 &= \frac{8,97\% + 7,96\% + 8,98\%}{3} = 8,63\%
 \end{aligned}$$

Lampiran 6. Perhitungan rendemen ekstrak etanol buah jamblang

Simplisia	Berat serbuk (g)	Berat ekstrak (g)	Rendemen (%)
Buah Jamblang	500	154,38	30,87

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{\text{Berat ekstrak (gram)}}{\text{Berat serbuk (gram)}} \times 100\%$$

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{154,38 \text{ gram}}{500 \text{ gram}} \times 100 \%$$

$$= 30,87 \%$$

Lampiran 7. Foto kegiatan penelitian



Buah jamblang dibersihkan



Pengeringan buah jamblang suhu 50°C



Buah jamblang yang kering digiling



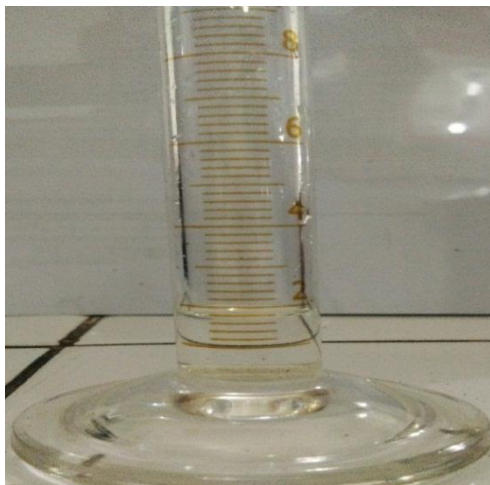
Ayak serbuk buah jamblang



Penetapan kadar air dengan rangkaian alat
Sterling-Bidwell



Hasil penetapan kadar air



Volume air yang diperoleh



Maserasi 500 g serbuk buah jamblang dengan 5 L etanol 96% (1 : 10)



Vakum hasil maserasi



Evaporasi filtrat



Ekstrak etanol buah jamblang



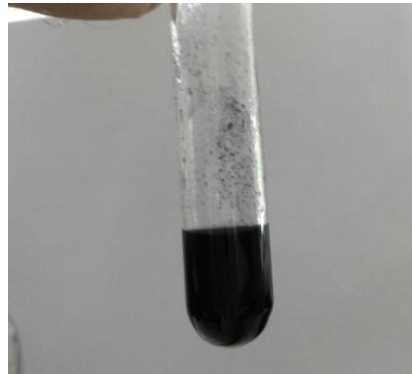
Uji bebas alkohol

Lampiran 8. Identifikasi kandungan senyawa secara kuantitatif



Flavonoid

Ekstrak ditambah 5 ml etanol panaskan selama 5 menit, 1 mL HCl pekat dan 0,2 g serbuk mg → merah tua (magenta).



Tanin

Ekstrak ditambah ditambah besi (III) klorida → warna hijau kehitaman



Saponin

Ekstrak ditambah akuades didihkan 2-3 menit, didinginkan kocok kuat-kuat → buih yang stabil.



Steroid

Ekstrak + kloroform, saring. filtrat + asam asetat anhidrat, dinginkan + asam sulfat pekat → cincin coklat



Alkaloid

Ekstrak ditambah larutan amonia 10% 1,5 mL HCL dan reagen Meyer → endapan putih.

Lampiran 9. Radikal bebas DPPH

Penimbangan DPPH

$$80 \text{ ppm} = \frac{80 \text{ mg}}{1000 \text{ ml}} = \frac{8 \text{ mg}}{100 \text{ ml}}$$

Untuk membuat larutan DPPH konsentrasi 80 ppm maka ditimbang DPPH sebanyak 8 mg.

Pembuatan larutan DPPH

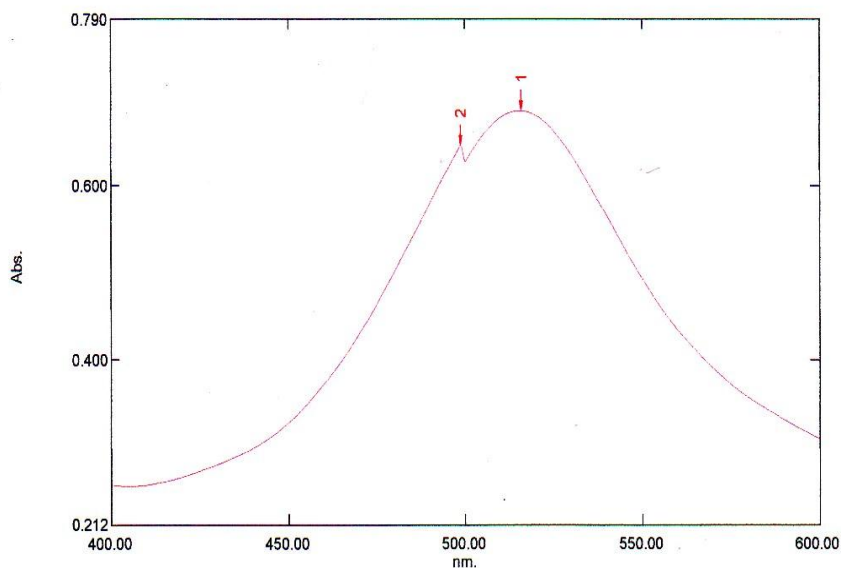
DPPH yang telah ditimbang menggunakan neraca elektrik sebanyak 8 mg, dilarutkan dengan etanol p.a sampai tanda batas dalam labu takar 100 ml yang telah ditutupi dengan alumunium foil sehingga diperoleh konsentrasi DPPH sebesar 80 ppm.

Lampiran 10. Penetapan panjang gelombang maksimum DPPH

Spectrum Peak Pick Report

26/03/2018 08:02:53 AM

Data Set: File_180326_120701 - RawData



[Measurement Properties]
Wavelength Range (nm.): 400.00 to 600.00
Scan Speed: Fast
Sampling Interval: 0.2
Auto Sampling Interval: Enabled
Scan Mode: Single

No.	P/V	Wavelength	Abs.	Description
1	⬆	515.80	0.686	
2	⬆	498.80	0.646	
3	⬇	500.20	0.628	
4	⬇	405.20	0.255	

[Instrument Properties]
Instrument Type: UV-1800 Series
Measuring Mode: Absorbance
Slit Width: 1.0 nm
Light Source Change Wavelength: 340.0 nm
S/R Exchange: Normal

[Attachment Properties]
Attachment: None

[Operation]
Threshold: 0.0010000
Points: 4
InterPolate: Disabled
Average: Disabled

[Sample Preparation Properties]
Weight:
Volume:
Dilution:
Path Length:
Additional Information:

Lampiran 11. Ekstrak etanol buah jamblang

Penimbangan ekstrak kental

$$1000 \text{ ppm} = 1000 \text{ mg/L} = 1 \text{ mg/ml} \text{ sehingga } 1000 \text{ ppm} = \frac{1000 \text{ mg}}{1000 \text{ ml}} = \frac{100 \text{ mg}}{100 \text{ ml}}$$

Untuk membuat larutan induk ekstrak konsentrasi 1000 ppm maka ditimbang ekstrak kental sebanyak 100 mg.

Pembuatan larutan induk ekstrak

Ekstrak yang telah ditimbang menggunakan neraca elektrik sebanyak 100 mg, dilarutkan dengan etanol p.a sampai tanda batas dalam labu takar 100 ml.

Pembuatan seri konsentrasi

Larutan induk ekstrak 1000 ppm dibuat seri konsentrasi 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm dan 100 ppm.

Konsentrasi (ppm)	Pengenceran (ml)	Volume yang dibuat (ml)
20	1	50
40	2	50
60	3	50
80	4	50
100	5	50

Contoh perhitungan pembuatan konsentrasi 20 ppm

$$C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$$

$$1000 \text{ ppm} \times V_1 = 20 \text{ ppm} \times 50 \text{ ml}$$

$$V_1 = 1 \text{ ml}$$

Larutan induk ekstrak 1000 ppm dipipet sebanyak 1 ml, 2 ml, 3 ml, 4 ml, dan 5 ml kemudian masing-masing dilarutkan dengan etanol p.a sampai tanda batas dalam labu takar 50 ml.

Lampiran 12. Penetapan *operating time* ekstrak buah jamblang**Kinetics Data Print Report**

26/03/2018 08:17:51 AM

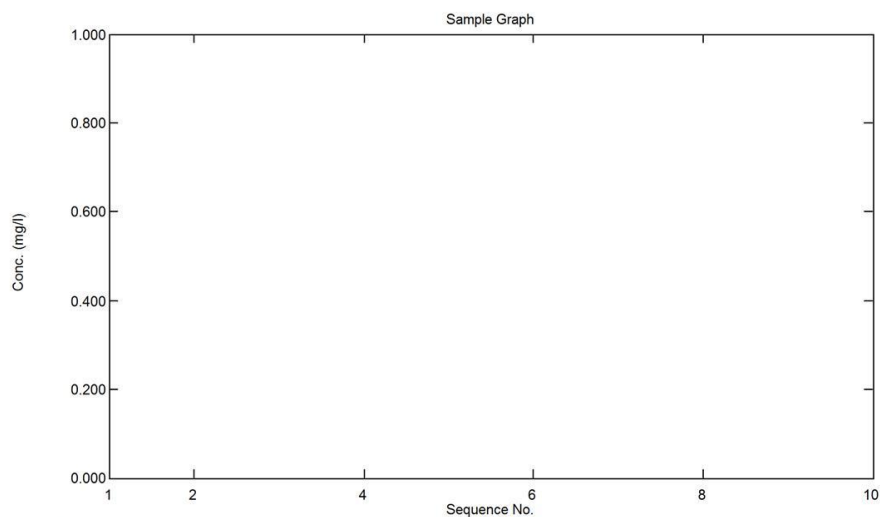
Time (Minutes)	RawData ...
1.000	0.107
2.000	0.107
3.000	0.105
4.000	0.105
5.000	0.100
6.000	0.100
7.000	0.100
8.000	0.099
9.000	0.099
10.000	0.099
11.000	0.099
12.000	0.098
13.000	0.099
14.000	0.099
15.000	0.099
16.000	0.098
17.000	0.098
18.000	0.098
19.000	0.098
20.000	0.097
21.000	0.098
22.000	0.098
23.000	0.097
24.000	0.097
25.000	0.096
26.000	0.096
27.000	0.096
28.000	0.096
29.000	0.096
30.000	0.096

Lampiran 13. Data ekstrak

Sample Table Report

26-03-18 09:18:09 AM

File Name: C:\Program Files\Shimadzu\UVProbe\Data\joli freitas\File_180326_084521
ekstrak.pho



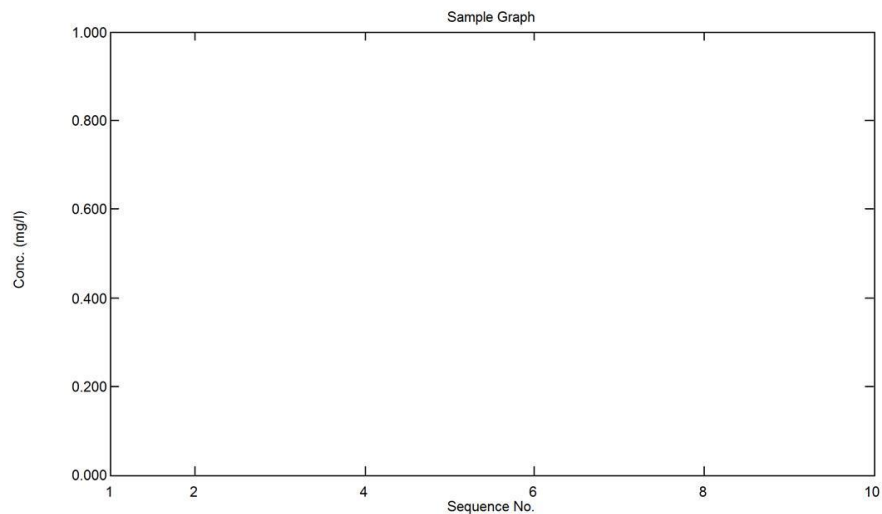
Sample Table

	Sample ID	Type	Ex	Conc	WL515.8	Comments
1	20ppm eks	Unk-Repeat			0.614	
2	20ppm eks-2	Unk-Repeat			0.614	
3	20ppm eks-3	Unk-Repeat			0.613	
4	20ppm eks-Av	Average		*****	0.614	Avg of preceding 3 Samples
5	40ppm	Unk-Repeat			0.542	
6	40ppm-2	Unk-Repeat			0.542	
7	40ppm-3	Unk-Repeat			0.542	
8	40ppm-Avg	Average		*****	0.542	Avg of preceding 3 Samples
9	60ppm	Unk-Repeat			0.478	
10	60ppm-2	Unk-Repeat			0.478	
11	60ppm-3	Unk-Repeat			0.478	
12	60ppm-Avg	Average		*****	0.478	Avg of preceding 3 Samples
13	80 ppm	Unk-Repeat			0.321	
14	80 ppm-2	Unk-Repeat			0.318	
15	80 ppm-3	Unk-Repeat			0.316	
16	80 ppm-Avg	Average		*****	0.318	Avg of preceding 3 Samples
17	100ppm	Unk-Repeat			0.281	
18	100ppm-2	Unk-Repeat			0.281	

Sample Table Report

26-03-18 09:18:09 AM

File Name: C:\Program Files\Shimadzu\UVProbe\Data\joli freitas\File_180326_084521
ekstrak.pho



Sample Table

	Sample ID	Type	Ex	Conc	WL515.8	Comments
19	100ppm-3	Unk-Repeat			0.281	
20	100ppm-Avg	Average		*****	0.281	Avg of preceding 3 Samples
21						

Lampiran 14. Perhitungan IC₅₀ ekstrak buah jambang

Replikasi	konsentrasi	Absorbansi	% Inhibisi	IC ₅₀ (ppm)
Replikasi 1	20	0,614	10,4956	83,49
	40	0,542	20,9912	
	60	0,478	30,3206	
	80	0,321	53,2070	
	100	0,281	59,0379	
Replikasi 2	20	0,614	10,4956	83,28
	40	0,542	20,9912	
	60	0,478	30,3206	
	80	0,318	53,6443	
	100	0,281	59,0379	
Replikasi 3	20	0,613	10,6414	83,14
	40	0,542	20,9912	
	60	0,478	30,3206	
	80	0,316	53,9359	
	100	0,281	59,0379	

$$\begin{aligned}
 \% \text{ Inhibisi} &= \frac{\text{Absorbansi blanko} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi blanko}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,686 - 0,614}{0,686} \times 100\% \\
 &= 10,4956
 \end{aligned}$$

Replikasi 1

$$a = -3,9797$$

$$b = 0,6465$$

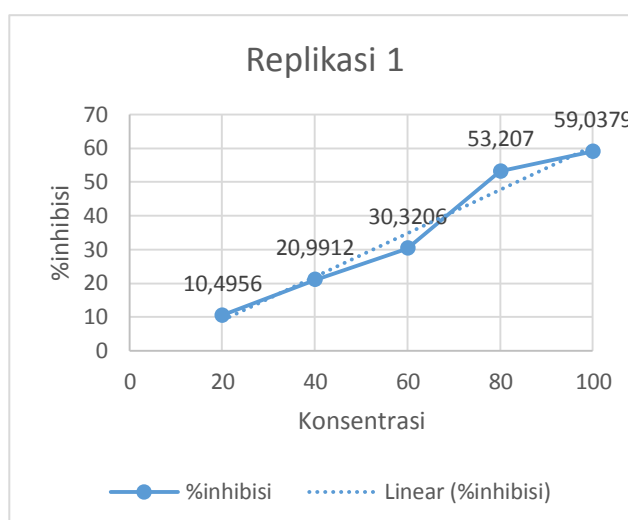
$$r = 0,9836$$

$$y = a + bx$$

$$50 = -3,9797 + 0,6465x$$

$$x = (50 - (-3,9797)) / 0,6465$$

$$x = 83,4953 \sim 83,49 \text{ ppm}$$



Replikasi 2

$$a = -4,0234$$

$$b = 0,6487$$

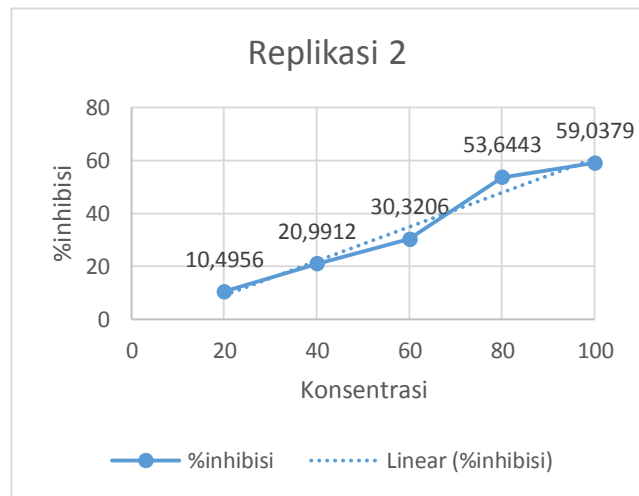
$$r = 0,9824$$

$$y = a + bx$$

$$50 = -4,0234 + 0,6487x$$

$$x = (50 - (-4,0234)) / 0,6487$$

$$x = 83,2795 \sim 83,28 \text{ ppm}$$

**Replikasi 3**

$$a = -3,9359$$

$$b = 0,6486$$

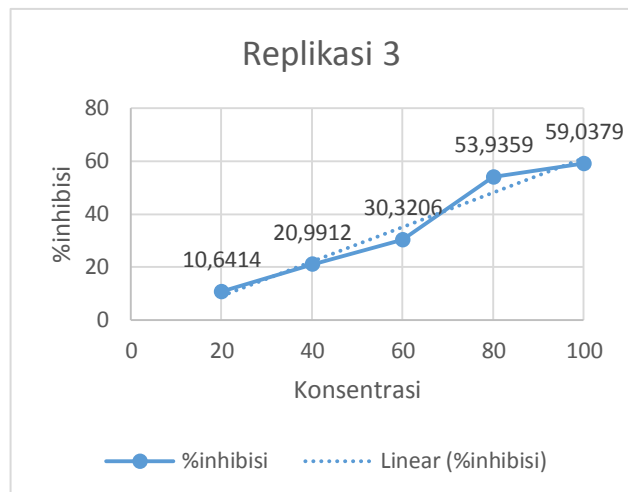
$$r = 0,9813$$

$$y = a + bx$$

$$50 = -3,9359 + 0,6486x$$

$$x = (50 - (-3,9359)) / 0,6486$$

$$x = 83,1445 \sim 83,14 \text{ ppm}$$



$$\text{Rata-rata nilai IC}_{50} \text{ ekstrak} = \frac{83,49 + 83,28 + 83,14}{3} = 83,30 \text{ ppm}$$

Lampiran 15. Kuersetin

Penimbangan kuersetin

$$50 \text{ ppm} = 5 \text{ mg}/100 \text{ ml} = \frac{5 \text{ mg}}{100 \text{ ml}}$$

Pembuatan larutan induk kuersetin

Kuersetin yang telah ditimbang menggunakan neraca elektrik sebanyak 5 mg, dilarutkan dengan etanol p.a sampai tanda batas dalam labu takar 100 ml.

Pembuatan seri konsentrasi

Larutan induk kuersetin 50 ppm dibuat seri konsentrasi 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm dan 10 ppm.

Konsentrasi (ppm)	Pengenceran (ml)	Volume yang dibuat (ml)
2	2	50
4	4	50
6	6	50
8	8	50
10	10	50

Contoh perhitungan pembuatan konsentrasi 20 ppm

$$C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$$

$$50 \text{ ppm} \times V_1 = 2 \text{ ppm} \times 50 \text{ ml}$$

$$V_1 = 2 \text{ ml}$$

Larutan induk kuersetin 50 ppm dipipet sebanyak 2 ml, 4 ml, 6 ml, 8 ml, dan 10 ml kemudian masing-masing dilarutkan dengan etanol p.a sampai tanda batas dalam labu takar 50 ml.

Lampiran 16. Penetapan *operating time* kuersetin**Kinetics Data Print Report**

27/03/2018 09:36:58 AM

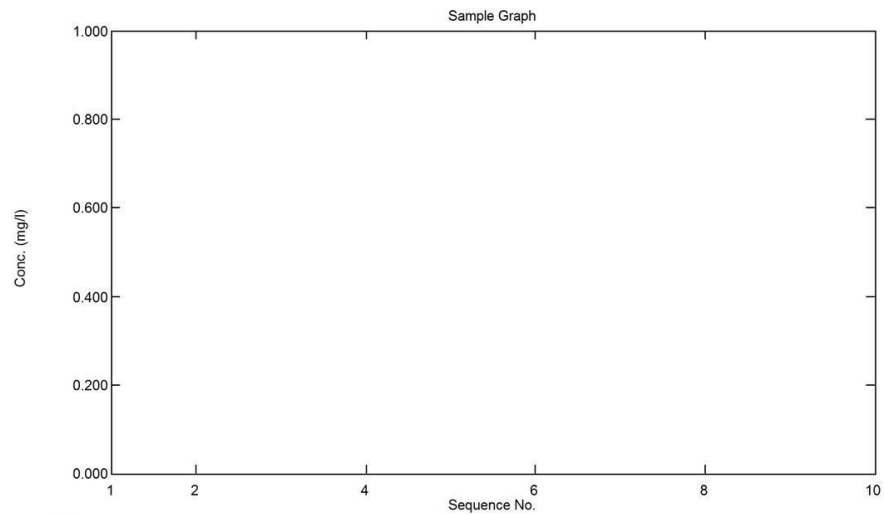
Time (Minutes)	RawData ...
1.000	0.097
2.000	0.095
3.000	0.096
4.000	0.095
5.000	0.095
6.000	0.094
7.000	0.094
8.000	0.094
9.000	0.093
10.000	0.093
11.000	0.093
12.000	0.093
13.000	0.092
14.000	0.092
15.000	0.092
16.000	0.092
17.000	0.092
18.000	0.091
19.000	0.091
20.000	0.091
21.000	0.090
22.000	0.090
23.000	0.090
24.000	0.089
25.000	0.089
26.000	0.089
27.000	0.089
28.000	0.089
29.000	0.089
30.000	0.089

Lampiran 17. Data kuersetin

Sample Table Report

27-03-18 10:36:42 AM

File Name: I:\joli\kuersetin.pho



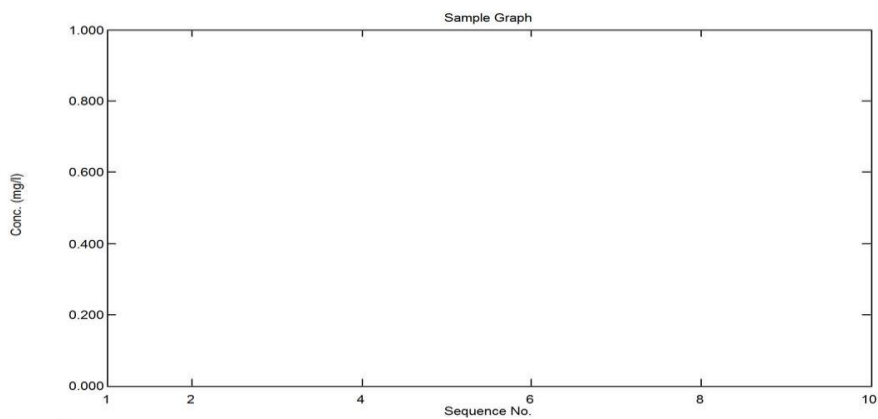
Sample Table

	Sample ID	Type	Ex	Conc	WL515.8	Comments
1	20 ppm Q	Unk-Repeat			0.519	
2	20 ppm Q-2	Unk-Repeat			0.519	
3	20 ppm Q-3	Unk-Repeat			0.518	
4	20 ppm Q-Avg	Average		*****	0.519	Avg of preceding 3 Samples
5	40 ppm Q	Unk-Repeat			0.490	
6	40 ppm Q-2	Unk-Repeat			0.490	
7	40 ppm Q-3	Unk-Repeat			0.489	
8	40 ppm Q-Avg	Average		*****	0.490	Avg of preceding 3 Samples
9	60ppm Q	Unk-Repeat			0.375	
10	60ppm Q-2	Unk-Repeat			0.374	
11	60ppm Q-3	Unk-Repeat			0.374	
12	60ppm Q-Avg	Average		*****	0.374	Avg of preceding 3 Samples
13	80ppm Q	Unk-Repeat			0.309	
14	80ppm Q-2	Unk-Repeat			0.309	
15	80ppm Q-3	Unk-Repeat			0.308	
16	80ppm Q-Avg	Average		*****	0.309	Avg of preceding 3 Samples
17	100ppm Q	Unk-Repeat			0.220	
18	100ppm Q-2	Unk-Repeat			0.219	

Sample Table Report

27-03-18 10:36:42 AM

File Name: I:\joli\kuersetin.pho



Sample Table						
	Sample ID	Type	Ex	Conc	WL515.8	Comments
19	100ppm Q-3	Unk-Repeat			0.219	
20	100ppm Q-Av	Average		*****	0.219	Avg of preceding 3 Samples
21						

Lampiran 18. Perhitungan IC₅₀ kuersetin

Replikasi	konsentrasi	Absorbansi	% Inhibisi	IC ₅₀ (ppm)
Replikasi 1	2	0,519	24,3440	7,02
	4	0,490	28,5714	
	6	0,375	45,3352	
	8	0,309	54,9562	
	10	0,220	67,9300	
Replikasi 2	2	0,519	24,3440	7,00
	4	0,490	28,5714	
	6	0,374	45,4810	
	8	0,309	54,9562	
	10	0,219	68,0758	
Replikasi 3	2	0,518	24,4897	6,99
	4	0,489	28,7172	
	6	0,374	45,4810	
	8	0,308	55,1020	
	10	0,219	68,0758	

$$\begin{aligned}
 \% \text{ Inhibisi} &= \frac{\text{Absorbansi blanko} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi blanko}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,686 - 0,519}{0,686} \times 100\% \\
 &= 24,3440\%
 \end{aligned}$$

Replikasi 1

$$a = 10,1603$$

$$b = 5,6778$$

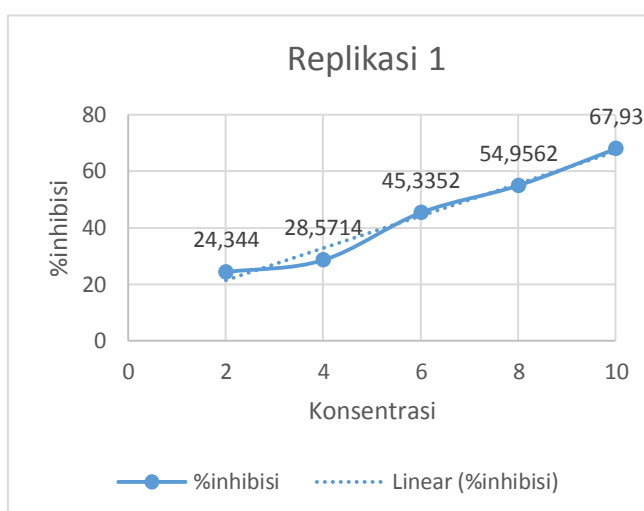
$$r = 0,9889$$

$$y = a + bx$$

$$50 = 10,1603 + 5,6778x$$

$$x = (50 - 10,1603) / 5,6778$$

$$x = 7,0167 \sim 7,02 \text{ ppm}$$



Replikasi 2

$$a = 10,1313$$

$$b = 5,6924$$

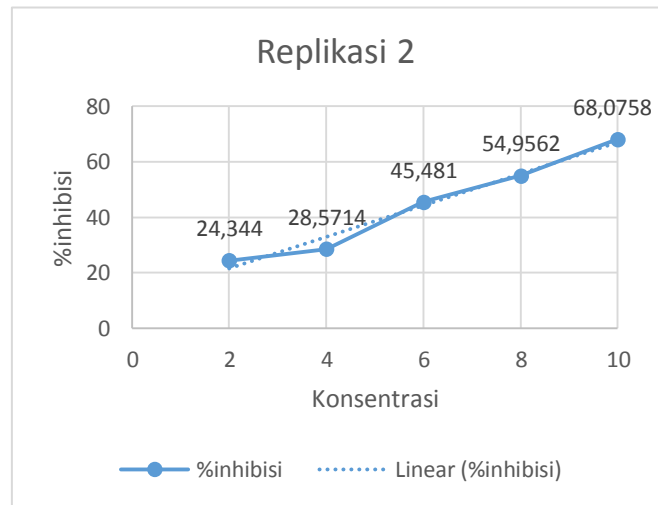
$$r = 0,9887$$

$$y = a + bx$$

$$50 = 10,1313 + 5,6924$$

$$x = (50 - 10,1313) / 5,6924$$

$$x = 7,0038 \sim 7,00 \text{ ppm}$$

**Replikasi 3**

$$a = 10,3060$$

$$b = 5,6778$$

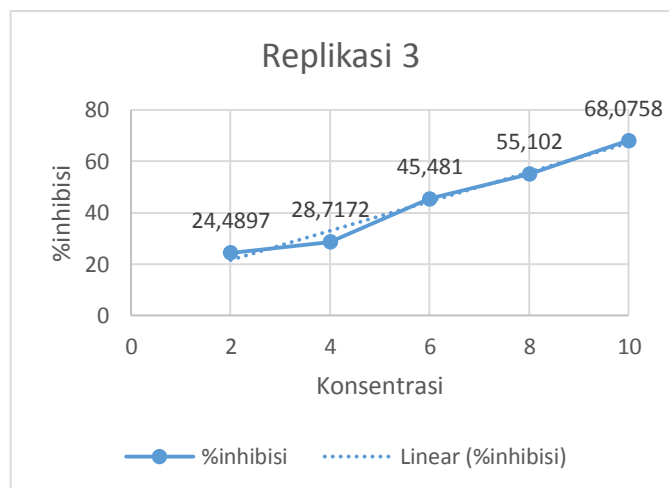
$$r = 0,9889$$

$$y = a + bx$$

$$50 = 10,3060 + 5,6778$$

$$x = (50 - 10,3060) / 5,6778$$

$$x = 6,9910 \sim 6,99 \text{ ppm}$$



$$\text{Rata-rata nilai IC}_{50} \text{ kuersetin} = \frac{7,02 + 7,00 + 6,99}{3} = 7,00 \text{ ppm}$$

Lampiran 19. Hasil uji statistik *Independent sampels t-test* rata-rata nilai IC₅₀ kuersetin dan ekstrak

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
IC50_kuersetin	3	7.0033	.01528	6.99	7.02
IC50_ekstrak	3	83.3033	.17616	83.14	83.49

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		IC50_kuersetin	IC50_ekstrak
N		3	3
Normal Parameters ^{a, b}	Mean	7.0033	83.3033
	Std. Deviation	.01528	.17616
Most Extreme Differences	Absolute	.253	.219
	Positive	.253	.219
	Negative	-.196	-.189
Kolmogorov-Smirnov Z		.438	.380
Asymp. Sig. (2-tailed)		.991	.999

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Dari data uji *One-Sample Kolmogorov-Smirnov* diperoleh IC₅₀ kuersetin dengan signifikasi = 0,991 > 0,05 (H_0 diterima) dan IC₅₀ ekstrak dengan signifikasi = 0,999 > 0,05. Disimpulkan data tersebut terdistribusi normal sehingga dapat dilakukan analisis *Independent sampels t-test*.

Group Statistics

kelompok	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
IC50 kuersetin	3	7.0033	.01528	.00882
ekstrak	3	83.3033	.17616	.10171

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
									95% Confidence Interval of the Difference	
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
IC50	Equal variances assumed	4.908	.091	-744.385	4	.000	-76.30000	.10209	-76.58345	-76.01655
	Equal variances not assumed			-747.385	2.030	.000	-76.73308	.10209	-76.73308	-75.86692

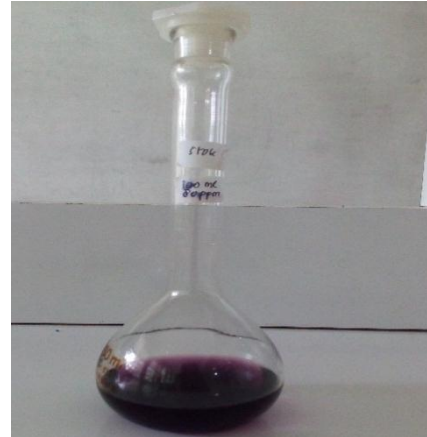
Hasil *Lavene's Test for Equality of Variances* menunjukkan signifikansi = 0,091 > 0,05 yang berarti kedua varians adalah sama.

Hasil *t-test Equality of Means* menunjukkan signifikansi = 0,000 < 0,05 yang berarti rata-rata nilai IC₅₀ kuersetin dan ekstrak adalah berbeda secara signifikan.

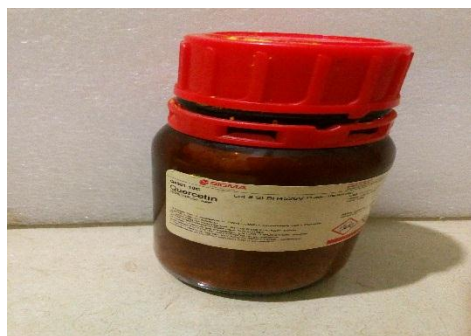
Lampiran 20. Foto alat, bahan dan hasil uji aktivitas antioksidan secara *in vitro*



DPPH



Larutan DPPH 80 ppm



Kuersetin



Larutan kuersetin 50 ppm



Seri konsentrasi
kuersetin



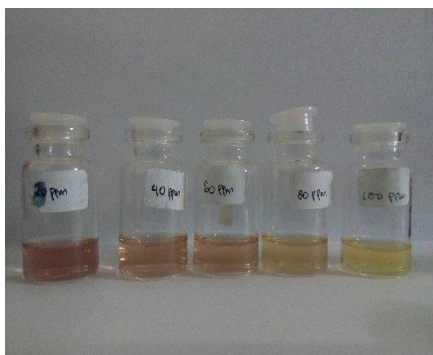
Larutan ekstrak 1000 ppm



Seri konsentrasi ekstrak



Ekstrak direaksikan DPPH



Hasil reaksi ekstrak
dan DPPH



Kuersetin direaksikan DPPH



Hasil reaksi
kuersetin



Spektrofotometer UV-Vis

Lampiran 21. Perhitungan dosis

1. Aloksan

Pembuatan aloksan sebagai penginduksi diabetes dibuat dengan konsentrasi 1% dengan cara :

$$\begin{aligned}\text{Aloksan 1\%} &= 1 \text{ g}/100 \text{ mL} \\ &= 1000 \text{ mg}/100 \text{ mL} \\ &= 10 \text{ mg/mL}\end{aligned}$$

Larutan aloksan 1% sebagai pengiduksi dibuat dengan cara ditimbang sebanyak 1 g kemudian dilarutkan ke dalam 100 mL larutan NaCl. Dosis aloksan untuk tikus adalah 180 mg/kgBB secara intraperitoneal.

$$\begin{aligned}180 \text{ mg/g BB tikus} &= \frac{200 \text{ g}}{1000 \text{ g}} \times 180 \text{ mg} \\ &= 36 \text{ mg}/200 \text{ g BB tikus}\end{aligned}$$

Jadi, volume pemberian untuk tikus dengan berat badan 200 g adalah :

$$\begin{aligned}\text{Volume pemberian aloksan} &= \frac{36 \text{ mg}}{10 \text{ mg}} \times 1 \text{ mL} \\ &= 3 \text{ mL untuk } 200 \text{ g BB tikus}\end{aligned}$$

2. CMC Na 0,5%

$$\begin{aligned}\text{Konsentrasi CMC 0,5\%} &= 0,5 \text{ g}/100 \text{ mL aquadest} \\ &= 500 \text{ mg}/100 \text{ mL aquadest} \\ &= 5 \text{ mg/mL}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Larutan stok CMC 0,5\% dibuat } 100 \text{ mL} &= \frac{100 \text{ mL}}{100 \text{ mL}} \times 500 \text{ mg} \\ &= 500 \text{ mg}/100 \text{ mL aquadest} \\ &= 0,5 \text{ g}/100 \text{ mL aquadest}\end{aligned}$$

Ditimbang serbuk CMC 0,5% kemudian disuspensikan dengan aquadest panas *ad* 100 mL sampai homogen. Suspensi ini digunakan sebagai kontrol negatif dan *suspending agent*.

3. Glibenklamid

Dosis terapi glibenklamid sekali pemakaian untuk manusia 70 Kg adalah 5 mg. Faktor konversi dari manusia 70 Kg ke tikus 200 gram adalah 0,018 sehingga dosis glibenklamid untuk tikus 200 gram adalah $5 \text{ mg} \times 0,018 = 0,09 \text{ mg}/200 \text{ gram BB tikus}$ (0,45 mg/Kg BB tikus).

- Larutan stok glibenklamid 0,009%

$$\frac{9 \text{ mg}}{100 \text{ mL}} = \frac{0,009 \text{ gram}}{100 \text{ mL}} = 0,009 \% \text{ b/v} \sim 0,09 \text{ mg/mL}$$

- Volume pengorolan glibenklamid :

$$\text{Volume (mL)} = \frac{0,09 \text{ mg}}{0,09 \text{ mg}} \times 1 \text{ mL} = 1 \text{ mL untuk 200 gram tikus}$$

Jadi, volume pemberian untuk tikus yang memiliki berat 200 gram dengan larutan stok glibenklamid 0,009% adalah 1 mL.

4. Dosis ekstrak etanol buah jamblang

1. Dosis ekstrak buah jamblang 100 mg/kg BB

Faktor konversi dari manusia BB 70 Kg → tikus BB 200 g adalah 0,018

Dosis ekstrak untuk tikus BB 200 g = $100 \text{ mg} \times 0,018$

$$= 1,8 \text{ mg}/200 \text{ g BB tikus}$$

$$= 9 \text{ mg/Kg BB tikus}$$

Contoh :

Dosis ekstrak buah jamblang 100 mg/Kg BB untuk tikus BB 180 g

$$\begin{aligned} \text{Dosis untuk tikus} &= \frac{180 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 1,8 \text{ mg} \\ &= 1,62 \text{ mg} \end{aligned}$$

2. Dosis ekstrak buah jamblang 200 mg/Kg BB

Faktor konversi dari manusia BB 70 Kg → tikus BB 200 g adalah 0,018

Dosis ekstrak untuk tikus BB 200 g = $200 \text{ mg} \times 0,018$

$$= 3,6 \text{ mg}/200 \text{ g BB tikus}$$

$$= 18 \text{ mg/Kg BB tikus}$$

Contoh :

Dosis ekstrak buah jamblang 200 mg/Kg BB untuk tikus BB 180 g

$$\text{Dosis untuk tikus} = \frac{180 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 3,6 \text{ mg}$$

$$= 3,24 \text{ mg}$$

3. Dosis ekstrak buah jamblang 400 mg/Kg BB tikus

Faktor konversi dari manusia BB 70 Kg → tikus BB 200 g adalah 0,018

Dosis ekstrak untuk tikus BB 400 g = 400 mg x 0,018

$$= 7,2 \text{ mg}/200 \text{ g BB tikus}$$

$$= 36 \text{ mg/Kg BB tikus}$$

Contoh :

Dosis ekstrak buah jamblang dosis 400 mg/Kg untuk tikus BB 180 g

$$\text{Dosis untuk tikus} = \frac{180 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 7,2 \text{ mg}$$

$$= 6,48 \text{ mg}$$

Lampiran 22. Hasil pengukuran aktivitas enzim GPx hati tikus

Kelompok	Kode Hewan	Absorban	Aktivitas GPx (U/mg)	Rata-rata aktivitas GPx
Kontrol normal	K.1	0,084	64,82	69,61
	K.2	0,090	69,45	
	K.3	0,092	71,00	
	K.4	0,097	74,86	
	K.5	0,088	67,91	
Kontrol negatif	DM.1	0,021	16,21	17,90
	DM.2	0,024	18,52	
	DM.3	0,026	20,06	
	DM.4	0,022	16,98	
	DM.5	0,023	17,75	
Kontrol pembanding	Gliben.1	0,080	61,74	60,50
	Gliben.2	0,077	59,42	
	Gliben.3	0,082	63,28	
	Gliben.4	0,079	60,96	
	Gliben.5	0,074	57,11	
Dosis ekstrak I	(100)1	0,038	29,32	28,24
	(100)2	0,037	28,55	
	(100)3	0,035	27,01	
	(100)4	0,040	30,87	
	(100)5	0,033	25,47	
Dosis ekstrak II	(200)1	0,054	41,67	36,89
	(200)2	0,049	37,81	
	(200)3	0,050	38,59	
	(200)4	0,042	32,41	
	(200)5	0,044	33,95	
Dosis ekstrak III	(400)1	0,079	60,96	58,34
	(400)2	0,074	57,11	
	(400)3	0,085	65,59	
	(400)4	0,068	52,48	
	(400)5	0,072	55,56	

Contoh perhitungan :

$$\begin{aligned}
 \text{Kadar GPx} &= \frac{\text{Absorbansi} \times V_t \times 2 \times 1000 \times 1/\text{mg protein}}{6,22 \times V_s} \\
 &= \frac{(0,084 \times 1,2 \times 2 \times 1000 \times 1)}{(6,22 \times 0,2)} \times 10 = 64,82 \text{ U/mg}
 \end{aligned}$$

Keterangan :

Dosis glibenklamid : 0,45 mg/Kg BB tikus
 Dosis aloksan : 180 mg/Kg BB tikus
 Dosis ekstrak I : 100 mg/Kg BB tikus
 Dosis ekstrak II : 200 mg/Kg BB tikus
 Dosis ekstrak III : 400 mg/Kg BB tikus

Lampiran 23. Hasil uji statistik menggunakan *Shapiro-wilk test* terhadap aktivitas enzim GPx

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
kelompok normal	.154	5	.200*	.994	5	.992
kelompok negatif	.141	5	.200*	.979	5	.928
Kontrol pembanding	.177	5	.200*	.981	5	.942
Dosis ekstrak I	.158	5	.200*	.990	5	.980
dosis ekstrak 2	.198	5	.200*	.957	5	.787
dosis ekstrak 3	.196	5	.200*	.974	5	.901

a. Lilliefors Significance Correction

*. This is a lower bound of the true significance.

Descriptives

aktivitas_GPx

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
kelompok normal	5	69.6080	3.72002	1.66364	64.9890	74.2270	64.82	74.86
kelompok negatif	5	17.9040	1.48112	.66238	16.0649	19.7431	16.21	20.06
Kontrol pembanding	5	60.5020	2.35245	1.05205	57.5810	63.4230	57.11	63.28
Dosis ekstrak I	5	28.2440	2.08357	.93180	25.6569	30.8311	25.47	30.87
Dosis ekstrak 2	5	36.8860	3.71816	1.66281	32.2693	41.5027	32.41	41.67
Dosis ekstrak 3	5	58.3400	5.07464	2.26945	52.0390	64.6410	52.48	65.59
Total	30	45.2473	19.28299	3.52058	38.0469	52.4477	16.21	74.86

Test of Homogeneity of Variances

aktivitas_GPx

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.872	5	24	.137

ANOVA

aktivitas_GPx

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	10521.240	5	2104.248	192.802	.000
Within Groups	261.937	24	10.914		
Total	10783.177	29			

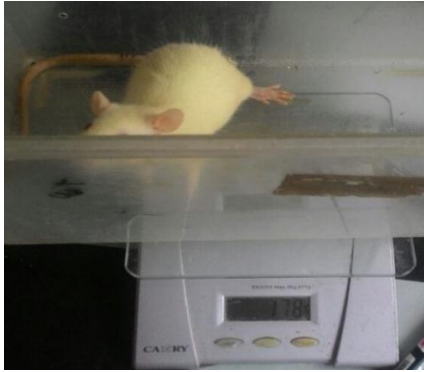
Multiple Comparisons

aktivitas GPx
Tukey HSD

(I) kelompok	(J) kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kelompok normal	kelompok negatif	51.70400 [*]	2.08941	.000	45.2437	58.1643
	Kontrol pembanding	9.10600 [*]	2.08941	.003	2.6457	15.5663
	Dosis ekstrak I	41.36400 [*]	2.08941	.000	34.9037	47.8243
	Dosis ekstrak 2	32.72200 [*]	2.08941	.000	26.2617	39.1823
	Dosis ekstrak 3	11.26800 [*]	2.08941	.000	4.8077	17.7283
kelompok negatif	kelompok normal	-51.70400 [*]	2.08941	.000	-58.1643	-45.2437
	Kontrol pembanding	-42.59800 [*]	2.08941	.000	-49.0583	-36.1377
	Dosis ekstrak I	-10.34000 [*]	2.08941	.001	-16.8003	-3.8797
	Dosis ekstrak 2	-18.98200 [*]	2.08941	.000	-25.4423	-12.5217
	Dosis ekstrak 3	-40.43600 [*]	2.08941	.000	-46.8963	-33.9757
Kontrol pembanding	kelompok normal	-9.10600 [*]	2.08941	.003	-15.5663	-2.6457
	kelompok negatif	42.59800 [*]	2.08941	.000	36.1377	49.0583
	Dosis ekstrak I	32.25800 [*]	2.08941	.000	25.7977	38.7183
	Dosis ekstrak 2	23.61600 [*]	2.08941	.000	17.1557	30.0763
	Dosis ekstrak 3	2.16200	2.08941	.901	-4.2983	8.6223
Dosis ekstrak I	kelompok normal	-41.36400 [*]	2.08941	.000	-47.8243	-34.9037
	kelompok negatif	10.34000 [*]	2.08941	.001	3.8797	16.8003
	Kontrol pembanding	-32.25800 [*]	2.08941	.000	-38.7183	-25.7977
	Dosis ekstrak 2	-8.64200 [*]	2.08941	.004	-15.1023	-2.1817
	Dosis ekstrak 3	-30.09600 [*]	2.08941	.000	-36.5563	-23.6357
Dosis ekstrak 2	kelompok normal	-32.72200 [*]	2.08941	.000	-39.1823	-26.2617
	kelompok negatif	18.98200 [*]	2.08941	.000	12.5217	25.4423
	Kontrol pembanding	-23.61600 [*]	2.08941	.000	-30.0763	-17.1557
	Dosis ekstrak I	8.64200 [*]	2.08941	.004	2.1817	15.1023
	Dosis ekstrak 3	-21.45400 [*]	2.08941	.000	-27.9143	-14.9937
Dosis ekstrak 3	kelompok normal	-11.26800 [*]	2.08941	.000	-17.7283	-4.8077
	kelompok negatif	40.43600 [*]	2.08941	.000	33.9757	46.8963
	Kontrol pembanding	-2.16200	2.08941	.901	-8.6223	4.2983
	Dosis ekstrak I	30.09600 [*]	2.08941	.000	23.6357	36.5563
	Dosis ekstrak 2	21.45400 [*]	2.08941	.000	14.9937	27.9143

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Lampiran 24. Foto alat, bahan dan kegiatan uji aktivitas enzim GPx hati tikus



Penimbangan BB Tikus



Pemberian Pakan Tikus



Induksi Aloksan



Oral ekstrak buah jambang



Pengambilan darah tikus



Darah tikus



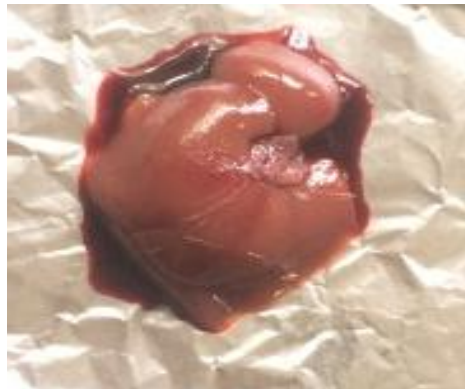
Tikus dianestesi inhalasi
dengan eter



Korbankan tikus dengan
cara dislokasi leher



Pembedahan dan pengambilan
organ hati tikus



Hati tikus



Aloksan



Larutan Na CMC 0,5%



NaCl 0,9%



Kit assay GOD-PAP



Sentrifugase



Spektrofotometer UV-Vis