

LAPORAN AKHIR
PENELITIAN UNGGULAN PERGURUAN TINGGI



PENGEMBANGAN PRODUK MINUMAN BUAH SALAK
VARIETAS BONGKOK DI KABUPATEN SUMEDANG
SEBAGAI ANTIDIABETIK SECARA
IN VITRO DAN IN VIVO

Tahun ke- 1 dari rencana 3 tahun

Oleh :

Dr. Ir. Leni Herliani Afrianti, MP (NIDN 0421046801)

Dr. Ir. Nana Sutisna Achyadi, MP (NIDN 0019095502)

Dr. Ir. Yudi Garnida, MP (NIDN 0421106701)

UNIVERSITAS PASUNDAN
BANDUNG
OKTOBER 2016

RINGKASAN

Ditemukan senyawa 2-metilester-1-H-pirrol-4-asam karboksilat dan 3 β -hidroksistigmastan-5(6)-en dari ekstrak etilasetat buah salak Bongkok (*Salacca edulis Reinw.*) yang beraktivitas sebagai antioksidan ternyata berkorelasi terhadap inhibisi enzim xantin oksidase, menurunkan asam urat serum darah tikus Wistar, sitotoksik sel kanker payudara T47D SKBR-3, MCF-7 dan menghambat α -glukosidase, sel β -glukosidase dan α -amilase. Buah yang mengandung senyawa aktif antioksidan yang menghambat hidrolisis karbohidrat, absorpsi glukosa, enzim α -glukosidase dan aldose reduktase dan meregenerasi sel- β sehingga dapat mengontrol kadar glukosa darah (antidiabetes). Maka timbul pemikiran untuk pengujian lebih lanjut terhadap antidiabetes dari ekstrak dan produk minuman dari buah salak varietas Bongkok. Berdasarkan kemampuannya mencegah berbagai penyakit maka untuk aplikasi dan pengembangan ilmu pengetahuan, khususnya pencegahan penyakit Diabetes Melitus (DM) maka buah salak Bongkok dimanfaatkan menjadi produk minuman buah untuk kesehatan. Kegunaan penelitian ini adalah meningkatkan nilai tambah dan nilai ekonomi buah salak Bongkok sebagai antidiabetes melalui mekanisme yang tepat sehingga diharapkan pencegahan DM menjadi efektif yaitu melalui penghambatan α -glukosidase, pemerangkapan radikal bebas pemicu DM, regenerasi sel- β pankreas, peningkatan kepekaan reseptor insulin.

Tujuan jangka panjang dari penelitian adalah buah salak Bongkok sebagai produk unggulan Kabupaten Sumedang yang memberikan kontribusi dalam produk kesehatan yang pada gilirannya dapat meningkatkan perekonomian masyarakat setempat.

Target khusus adalah 1) mengembangkan minuman kesehatan yang aman, mengembangkan industri pangan berbasis kesehatan, mempertahankan keanekaragaman hayati; 2) melakukan uji aktivitas terhadap antidiabetes dari produk minuman buah salak Bongkok secara in vitro dan in vivo.

Metode kegiatan yang akan dilakukan dalam penelitian ini meliputi studi pustaka, Uji aktivitas antidiabetes dari produk minuman buah salak Bongkok. Luaran yang akan dicapai dari hasil penelitian ini adalah paket teknologi pembuatan produk minuman dari buah salak Bongkok, publikasi ilmiah dalam Jurnal Nasional, Jurnal Internasional, dan memperoleh paten (HKI) .

Kebaruan dari penelitian ini adalah paket teknologi pembuatan produk minuman dari buah salak Bongkok, pengujian aktivitas antidiabetes dari produk buah salak Bongkok secara in vitro dan in vivo.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa secara in vitro buah salak bongkok memiliki property sebagai antidiabetes.

Kata kunci: Buah salak Bongkok, antidiabetik, in vitro, in vivo, ekstrak, jus buah, teh buah, tikus

PRAKATA

Assalamualaikum Wr., Wb.,

Puji syukur kepada Allah SWT yang di dalam kemurahanNya senantiasa memberi pertolongan, kesehatan dan kesempatan kepada peneliti sehingga dapat menyelesaikan laporan akhir penelitian ini.

Pada kesempatan ini penulis mengucapkan rasa hormat dan terima kasih yang tulus kepada Dr. Ir. Yudi Garnida, MP ditengah kesibukan beliau sebagai Dekan Fakultas Teknik Universitas Pasundan sewaktu penulis melaksanakan penelitian ini masih bersedia meluangkan waktu menjadi anggota dan dengan kesabaran ikut memberi pengarahan hingga selesainya laporan penelitian ini.

Dr. Ir. Nana Sutisna Achyadi, MP atas kesediaan beliau menjadi anggota peneliti di tengah kesibukan beliau yang luar biasa sebagai staf pengajar di Program Studi Teknologi Pangan Universitas Pasundan, telah memberikan bimbingan, memantau dan dengan sabar membagi ilmu serta memfasilitasi proses penelitian hingga penyelesaian laporan ini.

Pada kesempatan ini penulis meyampaikan terima kasih kepada Prof. Dr. Prof. Dr. Ir. H. Eddy Jusuf Sp., M.Si., M.Kom selaku Rektor Universitas Pasundan, Dr. Ir. Yusep Ikrawan, M.Eng selaku Ketua Program Studi Teknologi Pangan Universitas Pasundan atas semua bantuan dan dukungannya.

Penulis mengucapkan terima kasih kepada para staf pengajar di Program Studi Teknologi Pangan Universitas Pasundan atas dukungannya selama peneliti melakukan penelitian hingga penulisan laporan ini.

Penulis mengucapkan terima kasih kepada pihak Kemenristekdikti atas dana hibah dan dukungannya selama peneliti melakukan penelitian hingga penulisan laporan ini.

Dan terakhir kepada semua pihak yang tak sempat penulis sebutkan namanya satu-persatu, dengan rendah hati penulis haturkan terima kasih atas bantuannya selama ini, hanya Allah SWT yang dapat membalas budi baik Bapak/Ibu/Saudara/i, mohon maaf bila ada

kesalahan baik yang disengaja maupun yang tak disengaja. Semoga ilmu yang diperoleh bermanfaat bagi banyak orang.

Bandung, Oktober 2016

Leni Herliani Afrianti

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Masalah

Diabetes Mellitus (DM) adalah sindroma yang ditandai oleh gula darah yang tinggi (hiperglikemia) merupakan penyakit gangguan metabolisme karbohidrat akibat kekurangan insulin yang menimbulkan glikosuria, diikuti gangguan metabolisme lemak, protein, elektrolit dan air. Gejalanya meliputi poliuria (banyak kencing), polidipsia (banyak minum) dan polifagia (banyak makan). Gejala DM apabila kadar glukosa darah pada manusia dalam status berpuasa lebih dari 120 mg/dl (Burtis *et al.*, 1988). DM dibedakan atas DM tipe 1 (DM-1) atau *insulin-dependent diabetes mellitus* (IDDM) dan DM tipe 2 (DM-2) atau *noninsulin-dependent diabetes mellitus* (NIDDM). DM-1 terjadi gangguan katabolisme yang disebabkan tidak terdapat insulin dalam sirkulasi, glucagon plasma meningkat, sel β pankreas gagal merespon semua stimulus insulogenik, sehingga diperlukan pemberian insulin eksogen untuk memperbaiki katabolisme, mencegah ketosis dan menurunkan hiperglukagonemia dan menurunkan kadar glukosa darah (Katzung, 2002; Tiwari dan Rao, 2002). Penderita DM cenderung meningkat terus, di Indonesia sekitar 1,5% penduduk menderita DM, diperkirakan tahun 2020 meningkat sebesar 86-138% dari jumlah penderita DM sekarang. (Tjay dan Rahardja, 2003). Senyawa aktif antioksidan pada buah-buahan tersebut dapat menghambat hidrolisis karbohidrat dan absorpsi glukosa, meregenerasi sel- β sehingga meningkatkan pelepasan insulin, menghambat enzim α -glukosidase, menghambat aldose reductase sehingga dapat mengontrol kadar glukosa darah (Dalimartha, 2005c).

Buah salak Bongkok dari Kabupaten Sumedang mempunyai rasa asam, sepat, dan agak pahit. Penapisan fitokimia buah salak Bongkok menunjukkan adanya flavonoid, alkaloid, terpenoid, tannin katekat dan kuinon. Sedangkan saponin tidak ditemukan, selain itu mengandung vitamin C 8,37 mg/100g (Afrianti, *et al.*, 2006a). Struktur senyawa hasil isolasi dan pemurnian ekstrak etil asetat yang ditetapkan berdasarkan data spektroskopi, yang meliputi spektrum UV, IR, RMI 1-D, dan RMI 2-D, didapat dua senyawa senyawa yaitu 3β -hidroksi-stigmastan-5(6)-en dan Asam 2-metilester-*1-H*-pirol-4-karboksilat (Afrianti *et al.*, 2008; Afrianti *et al.*, 2009; Afrianti *et al.*, 2010a). Senyawa asam metil pirol-2,4 dikarboksilat menunjukkan peredaman radikal bebas

dengan IC_{50} 3,27 $\mu\text{g/mL}$, sedangkan senyawa 3β -hidroksistigmastan-5(6)-en tidak aktif (Afrianti *et al.*, 2007; Afrianti *et al.*, 2009; Afrianti *et al.*, 2010c). Terungkapnya senyawa asam metil-pirol-2,4-dikarboksilat pada buah salak Bongkok yang mempunyai ikatan rangkap terkonyugasi beraktivitas antioksidan, dan senyawa 3β -hidroksi-stigmastan-5(6)-en yang tidak beraktivitas sebagai antioksidan (Afrianti, 2007). Temuan terbaru menunjukkan bahwa kedua senyawa tersebut dapat menghambat α -amilase, α -glikosidase dan β -glikosidase (Afrianti *et al.*, 2015), karena itu perlu dilakukan penelitian lanjutan dengan penghambatan α -glukosidase, pemerangkapan radikal bebas pemicu DM, regenerasi sel- β pankreas, peningkatan kepekaan reseptor insulin, meningkatkan *glucose up take*, lipogenesis.

1.2 Urgensi (Keutamaan) Penelitian

Masyarakat Indonesia telah lama mengenal tanaman obat tradisional untuk mengobati berbagai jenis penyakit diantaranya untuk pengobatan diabetes, berbagai jenis tanaman telah dikenal masyarakat untuk mengobati diabetes berdasarkan pengalaman dan keyakinan namun belum terdapat bukti ilmiah mekanisme kerja serta kandungan senyawa dari tanaman-tanaman tersebut. Penelitian ini bertujuan mengetahui ekstrak, fraksi dan produk minuman dari buah salak Bongkok (jus ekstrak dan teh buah) yang mencegah penyakit diabetes melalui 5 mekanisme penyebab diabetes yaitu :1) Penyebab stres oksidatif oleh radikal bebas, dengan menggunakan parameter aktivitas antioksidan meliputi aktivitas pemerangkapan radikal DPPH, nilai SOD, nilai status antioksidan total (SAT) dapat menentukan ekstrak aktif antioksidan, ekstrak aktif dan produk minuman buah salak-antioksidan berspektrum luas yang akan mencegah penyakit DM. Penelitian aktivitas antioksidan dilakukan secara *in vitro*; 2) Penyebab resistensi insulin dikarenakan gangguan fungsi reseptor insulin, penelitian dilakukan pada kultur sel (3T3-L1) dengan parameter lipogenesis, penderita DM mengalami resistensi insulin sehingga tidak mampu merubah glukosa menjadi trigliserida, pada kultur sel HepG2 untuk mengetahui kemampuan *glucose up take*, penderita DM dikarenakan mengalami resistensi insulin makan hati tidak mampu mengambil glukosa. Diharapkan penelitian penapisan terhadap herba tanaman-tanaman yang diyakini sebagai antidiabet dapat menentukan ekstrak aktif, yang memiliki kemampuan lipogenesis merubah glukosa menjadi trigliserida dan kemampuan mengambil glukosa darah yang akan dirubah menjadi glikogen, sehingga diperoleh ekstrak aktif yang mampu memperbaiki resistensi insulin sehingga dapat memperbaiki kerusakan fungsi reseptor insulin; 3) Penyebab

kerusakan sel- β pankreas yang menyebabkan produksi insulin berkurang, penelitian dilakukan secara *in vivo* pada tikus (*R. norvegicus* L.) yang diinduksi *alloxan* dengan parameter perbaikan kerusakan sel- β pankreas.

Diharapkan penelitian penapisan terhadap ekstrak, fraksi-fraksi dan produk minuman buah salak dapat menentukan ekstrak aktif yang mampu meregenerasi sel- β pankreas; 4) Penyebab tingginya aktivitas enzim α -glukosidase yang menghidrolisis karbohidrat menghasilkan glukosa, penelitian dilakukan secara *in vitro* dengan parameter penghambatan α -glukosidase mukosa duodenum sehingga menghambat pelepasan dan absorpsi glukosa darah. Diharapkan penelitian dapat menentukan ekstrak aktif dan produk minuman buah salak Bongkok yang memiliki aktivitas penghambat α -glukosidase, β -glukosidase dan α -amilase.

Penelitian yang dilakukan secara komprehensif yaitu secara *in vitro*, *ex vivo* (kultur sel) dan *in vivo* serta menggunakan berbagai parameter penyebab DM diharapkan pengobatan DM dapat lebih efektif. Penemuan ekstrak aktif dan produk minuman buah - antioksidan, antidiabetik (inhibisi α -glukosidase), antidiabetik (perbaikan resistensi insulin), antidiabetik (perbaikan sel- β pankreas) secara *in vitro* dan *in vivo* dari semua jenis tanaman obat yang diyakini masyarakat dapat menyembuhkan penyakit DM maka pengobatan DM akan lebih efektif karena pengobatan didasarkan penyebab DM.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Jenis Diabetes

Jenis DM berdasarkan waktu dimulainya penyakit yaitu DM-1 (IDDM) dan DM-2 (NIDDM). DM-1 merupakan bentuk DM parah yaitu terjadi kerusakan sel β pankreas sehingga terjadi gangguan produksi insulin sehingga sel tidak dapat menyerap glukosa dari darah sehingga kadar glukosa darah meningkat melebihi 10 mmol/L sehingga kadar glukosa berlebihan dikeluarkan melalui urin dan banyak air (glikoosuria), bila kadar glukosa kurang dari 10 mmol/L glukosa ditahan oleh tubuli

renalis (Tjay dan Rahardja, 2003). DM-2 (NIDMM) merupakan bentuk DM yang lebih ringan, pada umumnya menyerang orang pada usia lebih dari 40 tahun dengan insidensi lebih besar pada orang gemuk dan pada usia lanjut. Penyebab DM-2 adalah akibat proses penuaan sehingga terjadi penyusutan sel-sel β pankreas serta adanya penumpukan amiloid di sekitar sel-sel β . Sel-sel β yang tersisa masih aktif tetapi sekresi insulin berkurang, DM-2 juga disebabkan oleh berkurangnya fungsi reseptor insulin. (Tjay dan Rahardja, 2003).

2.2 Penyebab diabetes

DM merupakan suatu penyakit gangguan metabolisme karbohidrat yang disebabkan oleh kekurangan insulin absolut maupun relatif sehingga menimbulkan hiperglisemia dan glukosuria kemudian disertai gangguan metabolisme protein, lemak, elektrolit dan air. Penyebab DM sangat kompleks, banyak faktor dapat menjadi pemicu timbulnya DM antara lain : 1). Keturunan, diperkirakan 14 – 19 % penderita DM berasal dari keluarga DM; 2). Virus, dapat menyerang sel- β pankreas; 3). Faktor kegemukan mengakibatkan aktivitas insulin di jaringan lemak dan otot menurun; 4). Usia, kelompok NIDDM pada umumnya menyerang orang yang sudah berumur lebih dari 40 tahun; 5). Diet, pola makan tidak sesuai dapat menyebabkan DM, konsumsi tinggi serat pangan, tinggi protein serta rendah karbohidrat dapat mengurangi risiko terserang DM; 6). Hormon seperti glukagon, hormone pertumbuhan, hormon tiroid, epinephrin dan kortison, memiliki aktivitas berlawanan dengan insulin. (Katzung, 2002; Tjay dan Rahardja, 2003).

Penyebab DM adalah kekurangan hormon insulin yang berfungsi memanfaatkan glukosa sebagai sumber energi dan mensintesa lemak sehingga glukosa bertumpuk dalam darah (hiperglikemia) yang akhirnya diekskresikan melalui urin tanpa digunakan (*glycosuria*). Produksi urin penderita DM meningkat dan sering kencing, merasa haus, berat badan menurun dan cepat lelah (Tjay dan Rahardja, 2003).

Resistensi insulin diakibatkan oleh berbagai penyebab yaitu : (1) obesitas, orang gemuk membutuhkan lebih banyak insulin dari pada orang biasa; (2) gangguan jantung (infark); (3) obat-obat kortikosteroida, diuretika tiazida dan betablockers; (4) stimulasi aktivitas sistem simpatikus secara akut (Katzung, 2002; Tjay dan Rahardja, 2003).

2.3 Mekanisme penurunan kadar glukosa darah

Menurut Suryowinoto (2005) mekanisme kerja berbagai tanaman sebagai antidiabet adalah : 1). Mempunyai kemampuan sebagai astringen dapat mempresipitasikan protein selaput lendir usus dan membentuk suatu lapisan yang melindungi usus, sehingga menghambat asupan glukosa sehingga laju peningkatan glukosa darah tidak terlalu tinggi. 2). Mempercepat keluarnya glukosa dari sirkulasi, dengan cara mempercepat peredaran darah yang erat kaitannya dengan kerja jantung dan dengan cara mempercepat filtrasi ekskresi ginjal sehingga produksi urin meningkat, laju ekskresi glukosa melalui ginjal meningkat sehingga kadar glukosa dalam darah menurun. 3). Mempercepat keluarnya glukosa melalui peningkatan metabolisme atau memasukan ke dalam deposit lemak. Proses ini melibatkan pankreas untuk memproduksi insulin.

2.4 Terapi diabetes

Tindakan umum penanganan DM adalah dengan pengaturan diet dengan pembatasan kalori terutama pembatasan lemak total dan lemak jenuh untuk mencapai normalitas kadar glukosa dan lipida darah (Tjay dan Rahardja, 2003). Tujuan pengaturan diet adalah : 1). Mengendalikan dan menurunkan kadar glukosa darah (Wuryastuti, 1992); 2). Mencapai berat badan ideal, melalui diet kalori yang terukur sesuai dengan berat badan, aktivitas fisik, umur dan jenis kelamin (Alzaid dan Rizza, 1993; Tjay dan Rahardja, 2003); 3). Meningkatkan sensitivitas sel – sel target terhadap insulin dan meningkatkan sensitivitas sel β pankreas terhadap rangsangan – rangsangan insulinogenik, sehingga tercapai sistem hormonal yang normal (Moses dan Abrahamson,

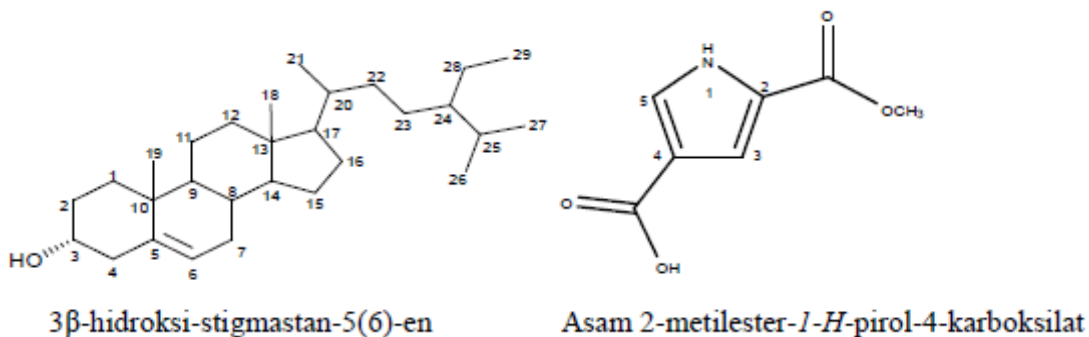
1993); 4). Mencegah, menunda berkembangnya komplikasi kronis (Wuryastuti, 1992); 5). Mengubah abnormalitas pola makan, mencegah malnutrisi (Jubiz, 1979).

Tiazolidinedione meliputi pioglitazone (actos), rosiglitazone (avandia), troglitazone (rezuline) merupakan obat antidiabetik oral yang meningkatkan sensitivitas insulin terhadap jaringan sasaran (Katzung, 2003). Pemberian ekstrak kasar *Pterocarpus marsupium* (dikenal vijayar di India) dengan pelarut air dapat melindungi dan memperbaiki pengaruh *alloxan* pemicu diabetes pada tikus, ditemukan senyawa aktif epikatesin yang dapat mencegah dan memperbaiki sel- β dari pengaruh *alloxan* juga dibuktikan melalui kadar gula darah yang menunjukkan normal (Tiwari dan

Rao, 2002). Senyawa polifenol yang mempunyai aktivitas antioksidan dilaporkan dapat menghambat α -amylase dan sukrase yang ternyata dapat menekan PPHG (Tiwari dan Rao,1997). Senyawa polifenol mampu menghambat transport glukosa melintasi usus melalui penghambatan *glucose co-transporter-1* (S-GLUT-1).

2.5 Buah salak Bongkok

Penapisan fitokimia buah salak Bongkok menunjukkan adanya flavonoid, alkaloid, terpenoid, tannin katekat dan kuinon, dan mengandung vitamin C 8,37 mg/100g (Afrianti, *et al.*, 2006a). Pengujian antioksidan dengan mengukur serapan DPPH, ekstrak etil asetat IC₅₀ 1,6 μ g/mL, ekstrak Etanol IC₅₀ 2,45 μ g/mL.(Afrianti *et al.*, 2006c, 2006d, 2006f). Struktur senyawa hasil isolasi ekstrak etil asetat dengan data spektroskopi (spektrum UV, IR, RMI 1-D, dan RMI 2-D) didapat senyawa 3 β - hidroksi-stigmastan-5(6)-en dan Asam 2-metilester-1-H-pirol-4-karboksilat (Afrianti *et al.*, 2008; Afrianti *et al.*, 2009; Afrianti *et al.*, 2010a). Senyawa asam metil pirol-2,4 dikarboksilat meredam radikal bebas IC₅₀ 3,27 μ g/mL, senyawa 3 β - hidroksi-stigmastan-5(6)-en tidak aktif (Afrianti *et al.*, 2007).



Gambar 1. Struktur Senyawa dalam Buah Salak Bongkok

Penghambatan aktivitas enzim xantin oksidase ekstrak etil asetat buah salak Bongkok menunjukkan IC_{50} 24,75 $\mu\text{g/mL}$, ekstrak etanol dapat menghambat xantin oksidase dengan IC_{50} 44,95 $\mu\text{g/mL}$ dan senyawa asam metil pirol-2,4 dikarboksilat mampu menghambat aktivitas xantin oksidase dengan IC_{50} 48,86 $\mu\text{g/mL}$ (Afrianti *et al.*, 2010a; Afrianti *et al.*, 2011a; Afrianti *et al.*, 2011b). Secara *in vivo* diketahui ekstrak etil asetat dapat berfungsi sebagai antihiperurikemia karena dapat menghambat aktivitas enzim xantin oksidase yang pada akhirnya menghambat pembentukan produksi asam urat pada tikus jantan galur Wistar (Afrianti *et al.*, 2011a; Afrianti *et al.*, 2011b). Ekstrak etanol sebagai antihiperurikemia mempunyai dua mekanisme kerja yaitu sebagai urikostatik yaitu dapat menurunkan kadar asam urat dalam serum dan urikosurik yaitu meningkatkan ekskresi asam urat melalui urin tikus Wistar (Afrianti *et al.*, 2012a). Hasil pengujian memperlihatkan bahwa isolat Asam 2-metilester-1-H-pirol-4-karboksilat mempunyai aktivitas antikanker payudara T47D *in vitro* IC_{50} 1,1942 $\mu\text{g/mL}$ dan MCF7 IC_{50} 12,56 $\mu\text{g/mL}$ (Afrianti *et al.*, 2012b). Sedangkan senyawa 3β-hidroksi-stigmastan-5(6)-en mempunyai aktivitas antikanker payudara T47D –dengan (IC_{50} = 1.1942 $\mu\text{g/mL}$) dan sel kanker payudara MCF7 IC_{50} 45.414 $\mu\text{g/mL}$. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa Asam 2-metilester-1-H-pirol-4-karboksilat dan 3β-hidroksi-stigmastan- 5(6)-en mempunyai efek sitotoksik pada sel T47D lebih tinggi daripada MCF7 (Afrianti *et al.*, 2015a).

Pengujian antidiabetes dengan penghambatan α -glucosidase pada 3β-hidroksistigmastan-5(6)-en dengan IC_{50} 23,55 \pm 3,44 $\mu\text{g/mL}$ dan asam 2-metilester-1-H-pirol-4-karboksilat IC_{50} 18,19 \pm 2,19 $\mu\text{g/mL}$. Sedangkan penghambatan α -amilasepada 3β-hidroksi-stigmastan-5(6)-en dengan IC_{50} 48,56 \pm 5,53 $\mu\text{g/mL}$ dan asam 2-metilester-1-H-pirol-4-karboksilat IC_{50} 28,23 \pm 1,91

$\mu\text{g/mL}$. Selanjutnya penghambatan β -glucosidase pada 3β -hidroksi-stigmastan-5(6)-en dengan $\text{IC}_{50} = 20,47 \pm 1,89 \mu\text{g/mL}$ dan Asam 2-metilester-*l*-H-pirol-4-karboksilat $\text{IC}_{50} = 86,90 \pm 3,09 \mu\text{g/mL}$ (Afrianti *et al.*, 2015b).

BAB III

TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN

3.1 Tujuan Penelitian

1. Mengetahui aktivitas antioksidan dari ekstrak, fraksi-fraksi, jus ekstrak dan teh buah salak dibandingkan antioksidan (α -tokoferol, butylated hydroxyanisol) dengan menggunakan parameter antioksidan pemerangkapan radikal bebas *1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl* (DPPH); nilai superoksida dismutase (SOD), total fenol, pemerangkapan H_2O_2 (katalase)
2. Mengetahui aktivitas penghambatan enzim α -glukosidase dari ekstrak, fraksi-fraksi, jus ekstrak dan teh buah salak dibandingkan obat oral *glucobay* penghambat enzim α -glukosidase
3. Mengetahui aktivitas lipogenesis ekstrak, fraksi-fraksi, jus ekstrak dan the buah salak pada kultur sel 3T3-L1 secara *ex vivo*
4. Mengetahui aktivitas *glucose-up take* ekstrak, fraksi-fraksi, jus ekstrak dan teh buah salak pada kultur sel Hep-G2 secara *ex vivo*
5. Mengetahui aktivitas antioksidan dan antidiabetik secara *in vivo* pada tikus (*Rattus norvegicus* L) yang diinduksi *alloxan* dari ekstrak aktif antioksidan, jus ekstrak dan teh buah salak dengan parameter kadar glukosa darah, histopatologi sel- β pankreas, aktivitas antioksidan (nilai superoksida dismutase (SOD), aktivitas glutation peroksidase (GPx), kadar malonaldehida (MDA).
6. Mengetahui aktivitas kadar ekstrak dan fraksi-fraksi, jus ekstrak dan the buah salak dalam menurunkan kadar TNF- α dan IL-6 pada tikus hiperglisemia
7. Manfaat praktis adalah dengan pemberian ekstrak, fraksi aktif, jus ekstrak dan teh buah salak sebagai antioksidan; inhibisi α -glukosidase; perbaikan resistensi reseptor insulin; kemampuan meregenerasi sel- β pankreas dapat mencegah dan menghambat DM

3.2 Tujuan Penelitian

1. Mengembangkan buah salak Bongkok menjadi produk diversifikasi dari buah salak Bongkok yaitu jus ekstrak dan teh buah salak yang dapat dikomersialisasikan dan memberi nilai tambah dalam bidang pangan;
2. Kontribusi terhadap kesehatan masyarakat terutama sebagai produk minuman kesehatan yang dapat mencegah penyakit diabetes;
3. Sosialisasi dan promosi produk minuman jus ekstrak dan teh buah salak Bongkok yang dapat dikomersialisasikan / diimplementasikan guna menunjang perekonomian Kabupaten Sumedang;
4. Publikasi ilmiah dalam Jurnal Nasional, Jurnal Internasional dan Prosiding,dan
5. Paten produk minuman jus ekstrak dan teh buah salak Bongkok.

BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 Bahan dan alat penelitian

Bahan terdiri dari buah salak (*Salacca edulis* Reinw.) Bongkok dari Desa Bongkok, Kabupaten Sumedang. Bahan kimia adalah etanol teknis 95 %, n-heksan, etil asetat, butanol dan aquades. DPPH (1,1-diphenyl 1-2- pycrylhydrazyl) (Sigma) dan metanol PA, SAT (KIT Total Antioxidant Status (Randox) , kontrol TAS, SOD (KIT Superoxide dismutase (Randox), CAT katalase, H₂O₂, buffer, PBS, DMSO, 2- deoksiribosa, EDTA, TCA, TBA, NaOH, α -glucosidase (*Saccharomyces* sp), buffer fosfat, bovine serum albumine (WAKO), p-nitrophenyl α -D-glucopyranosida, Na₂CO₃.

Alat adalah *tunnel dryer*, maserator, *rotary vacuum evaporator*, timbangan analitik, mikro-pipet, stopwatch, thermometer, spektrofotometer, *water-bath*.

4.2 Tempat penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Kimia Bahan Alam dan Biomolekular Pangan Program Studi Teknologi Pangan Universitas Pasundan Bandung Jl Setiabudi no 193 Bandung.

4.3 Tahap penelitian

1. Penelitian tahap I (tahun pertama)

Penelitian tahap I: ekstraksi buah salak Bongkok, fraksionasi dan uji aktivitas antioksidan, uji penghambatan enzim α -glucosidase, α -amilase dan β -glucosidase *in vitro* pada ekstrak, fraksi, jus dan teh buah dibandingkan *glucobay*.

4.4 Rancangan percobaan

1. Rancangan percobaan uji aktivitas antioksidan ekstrak, fraksi, jus buah dan teh buah salak Bongkok secara *in vitro*

Penelitian dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) (10 level) konsentrasi uji antioksidan: 100 µg/mL (K1); 50 µg/mL (K2); 25 µg/mL (K3); 12,5 µg/mL (K4); 6,25 µg/mL (K5); 3,125 µg/mL (K6); 1,56 µg/mL (K7); 0,78 µg/mL (K8); 0,39 µg/mL (K9); 0,19 µg/mL (K9), 0,9 µg/mL (K10), pada ekstrak etanol (X1), fraksi heksan (X2), fraksi etil asetat (X3), fraksi butanol (X4), fraksi air (X5), jus buah (X6), Teh buah (X7), BHA (X8), α -tokoferol (X9). Terdapat 90 perlakuan, pengulangan 2 kali. Jika ada perbedaan yang nyata dilanjutkan dengan uji jarak berganda Duncan (UJBD) (Steel dan Torrie, 1993).

2. Rancangan percobaan uji aktivitas inhibisi α -glukosidase ekstrak, fraksi, jus buah dan teh buah salak secara *in vitro*

Penelitian inhibisi α -glukosidase menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL), 10 level konsentrasi: 100 µg/mL (K1); 50 µg/mL (K2); 25 µg/mL (K3); 12,5 µg/mL (K4); 6,25 µg/mL (K5); 3,125 µg/mL (K6); 1,56 µg/mL (K7); 0,78 µg/mL (K8); 0,39 µg/mL (K9); 0,19 µg/mL (K9), 0,9 µg/mL (K10), pada ekstrak (X1), fraksi heksan (X2), fraksi etil asetat (X3), fraksi butanol (X4), fraksi air (X5), jus buah (X6), teh buah (X7) dan glucobay (X8). Terdapat 80 perlakuan, pengulangan 2 kali. Jika ada perbedaan yang nyata dilanjutkan dengan uji jarak berganda Duncan (UJBD) (Steel dan Torrie, 1993).

4.5 Prosedur kerja penelitian

4.5.1 Ekstraksi buah salak Bongkok

Ekstraksi dengan etanol 95% (maserasi), 1 kg simplisia buah salak direndam dalam 2,5 L etanol (24 jam). Filtrat etanol ditampung, ampas buah direndam lagi dengan 2,5 L etanol (sampai 4 x perendaman). Filtrat tampungan I, II dan III dievaporasi, diperoleh ekstrak kental buah salak.

4.5.2 Fraksionasi

Ekstrak kental dilakukan fraksionasi dengan pelarut *n*-heksana, etil asetat, butanol dan air, diupkan diperoleh fraksi-fraksi (*n*-heksana, etil asetat, butanol dan air).

4.5.3 Uji antioksidan ekstrak, fraksi

1. Uji aktivitas pemerangkapan DPPH (Unlu *et al.*, 2003), (Han *et al.*, 2004), Frum and Viljoen (2006) 200 µL DPPH 0,077 mmol dalam metanol, ditambah 50 µL sampel (pada *microplate*). Campuran diinkubasi (suhu kamar, 30°), diukur

absorbansinya (517 nm) dengan *microplate reader*. Kontrol negatif (DPPH, 250 μ L), blanko (methanol absolut, 250 μ L)

4.5.4 Uji aktivitas pemerangkapan H₂O₂

200 μ L sampel ditambah 200 μ L H₂O₂ (2 mM/L dalam PBS pH 7,4). Campuran direaksikan (10 menit). Diukur absorbansi (230 nm). Kontrol negatif H₂O₂ murni (tanpa PBS) 1 mL. Blanko (PBS/dapar fosfat) 1,6 mL.

4.5.5 Uji aktivitas antioksidan total fenol

100 μ L sampel, standar (EGCG) direaksikan 75 μ L follin 10 %, 60 μ L Na₂CO₃ 7,5 % (*microplate*). Campuran diinkubasi (45^o – 50^oC/oven, 10 menit), diukur pada 750 nm (*microplate reader*).

4.5.6 Uji aktivitas pemerangkapan radikal anion superoksida (SOD) (Randox Laboratories, 2004)

Membuat Reagen 1, *mixed substrat*, 20 mL Buffer. Reagen 3 *mixed xanthine oxidase*, 10 mL aquabides. Reagen 4 (larutan standar) *mixed* larutan standar, 10 mL aquabides (standard S6). Larutan S5: 5 mL S6 ditambah 5 mL sample diluent (Ransod diluent). Larutan S4 yaitu 5 mL S5 ditambah 5 mL sample diluent. Larutan S3 yaitu 5 mL S4 ditambah 5 mL sample diluent. Larutan S2 yaitu 3 mL S3 ditambah 6 mL sample diluent. Ekstrak dilarutkan metanol (500 μ g/mL, 250 μ g/mL, 125 μ g/mL, 62,5 μ g/mL, 31,25 μ g/mL, 15,625 μ g/mL).

4.5.7 Prosedur uji antidiabetik inhibisi α -glukosidase

α -Glukosidase (*Saccharomyces* sp.) 1,0 mg dilarutkan 100 ml buffer fosfat (pH 7,0)/200 mg bovine serum albumina. Enzim ditambah air 1/50, campuran reaksi berisi 500 μ L (200 mM p-nitrophenyl α -D-glukopyranosid), 990 μ L (100 mM buffer fosfat (pH 7,0)), 10 μ L sample/DMSO diuji, campuran reaksi diinkubasi (37^o C, 5'), ditambah 500 μ L enzim, iinkubasi 15 menit. Inkubasi berhenti dengan penambahan 200 μ L (200 mM larutan Na₂CO₃), jumlah pnitrofenol diukur absorbansi (400 nm).

BAB V

HASIL DAN LUARAN YANG DICAPAI

5.1 Hasil Penelitian

Hasil yang didapat pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

Hasil penelitian menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan, inhibisi alfa glucosidase, alfa amilase dan beta glucosidase, paling tinggi terdapat pada kelompok ekstrak etanol buah salak Bongkok dibandingkan dengan sampel lainnya.

Namun hasil penelitian juga menunjukkan pada sampel jus buah terdapat aktivitas antidiabetes yang cukup baik. Sehingga dapat disimpulkan bahwa minuman jus buah salak Bongkok memang berpotensi membantu dalam memperbaiki pencernaan dan metabolisme glukosa di dalam tubuh manusia.

5.2 Luaran yang dicapai

Luaran yang dicapai dalam penelitian ini terdiri dari beberapa luaran yaitu

1. Produk minuman jus buah salak Bongkok
2. Produk teh buah salak Bongkok
3. Draft paten pembuatan minuman the buah salak Bongkok (terlampir)
4. Artikel yang telah di-*submission*.(terlampir)

5. **BAB VI**

6. **RENCANA TAHAPAN BERIKUTNYA**

7.

8. Rencana tahapan berikutnya yang akan dilakukan adalah melakukan pengujian in vivo dengan menggunakan hewan uji yaitu mencit dan ex vivo dengan menggunakan lini sel 3t3-L1.

9.

10. DAFTAR PUSTAKA

11.

12. Afrianti LH, Sukandar EY, Ibrahim S, Adnyana IK, 2006a. Aktivitas antioksidan
13. ekstrak daging buah salak varietas Bongkok (*Salacca Edulis* Reinw.). *J Acta*
14. *Pharmaceutica, Vol.XXXI,NO 1, Maret 2006. ISSN : 0216-616X*
15. Afrianti LH, Sukandar EY, Ibrahim S, Adnyana IK, 2006b. Isolasi, elusidasi
16. struktur dan aktivitas antioksidan ekstrak buah salak Bongkok. Prosiding
17. Seminar Nasional Persatuan Ahli Teknologi Pangan Indonesia (PATPI),UGM
18. Yogyakarta
19. Afrianti LH, Sukandar EY, Ibrahim S, Adnyana IK, 2006c. Aktivitas antioksidan
20. ekstrak daging buah salak varietas Bongkok. *Jurnal Acta Pharmaceutica. ITB,*
21. *ISSN : 0216-616X*
22. Afrianti LH, Sukandar EY, Ibrahim S, Adnyana IK, 2006d. The use of salacca
23. fruit variety of Bongkok extract as antioxidant and inhibitor of uric acid.
24. Seminar Internasional PUDSEA, UGM Yogyakarta.
25. Afrianti LH, Sukandar EY, Ibrahim S, Adnyana IK, 2006e. The 4-
26. (methoxycarbonyl) -1H-pyrrole-2-carboxylic acid from salak fruit var.
27. Bongkok and antioxidant activity. Seminar Internasional ICMNS, ITB
28. Bandung.
29. Afrianti LH, Sukandar EY, Ibrahim S, Adnyana IK. 2007a. Xanthine Oxidase
30. inhibitor activity of terpenoid and pyrrole compounds isolated from snake
31. fruit (*Salacca edulis* Reinw) Cv. Bongkok, *J of Applied Sciences 7(20):*
32. *3127-3130. ISSN : 1812-5654.*
33. Afrianti LH, Sukandar EY, Ibrahim S, Adnyana IK. 2007b. Beta-hidroksistigmastan-
34. 5(6)en dan 2-metilester-1-H-pirol-4-asam karboksilat buah salak
35. (*salacca edulis* Reinw) varietas Bongkok dan penghambatan aktivitas xanthin
36. oksidase. *Jurnal Infomatek Unpas ISSN : 1411-0865*
37. Afrianti LH, Sukandar EY, Ibrahim S, Adnyana IK. 2009a. Pengaruh konsentrasi
38. asam sitrat dan asam tartrat dalam formula granul efervesen ekstrak buah
39. salak varietas bongkok (*salacca edulis. Reinw*). Simposium Nasional Kimia
40. Bahan Alam XVII UNDIP, Semarang.
41. Afrianti LH, Sukandar EY, Ibrahim S, Adnyana IK. 2009b. Pengaruh konsentrasi
42. asam sitrat dan konsentrasi asam tartrat terhadap karakteristik tablet
43. effervescent ekstrak buah salak varietas bongkok (*salacca edulis* Reinw.).
44. Seminar Nasional PATPI, Jakarta
45. Afrianti LH, Sukandar EY, Ibrahim S, Adnyana IK. 2009b . Effect of Etylacetate
46. Extract of Snake Fruit (*Salacca edulis* Reinw.) var. Bongkok as
47. Anthyhiperuricemia on Wistar Male Rat. Bandung International Conference
48. of Medicinal ITB, Bandung
49. Afrianti LH, Sukandar EY, Ibrahim S, Adnyana IK. 2009c Terpenoid and Pyrrole
50. compound from *Salacca edulis* (Reinw.) var. Bongkok and inhibitor
51. xanthine oxidase. 11th Asean Food Conference 2009, Sabah Brunei
52. Afrianti LH, Sukandar EY, Ibrahim S, Adnyana IK.2010a. Senyawa asam 2-
53. metilester-1-H-pirol-4karboksilat dalam ekstrak etil asetat buah salak
54. Bongkok sebagai antioksidan dan antihiperurikemia. *J. Teknologi dan*

55. Industri Pangan. Vol XXI(1);66-72. ISSN 1979-7788
56. Afrianti LH.2010b. Komparasi antioksidan, evaluasi fisik granul dan tablet
57. efervesen ekstrak buah salak Bongkok (*Salacca edulis Reinw*). J. Prestasi.
58. Jurnal Pendidikan untuk meningkatkan kualitas SDM, No 1 tahun 1,61-
59. 72.ISSN 2087-2682
60. Afrianti LH.2010c. Determination of antioxidant activity and inhibition of xanthin
61. oxidase of ethyl acetate extract from snake fruit (*salacca edulis reinw.*)
62. variety of Bongkok. 6th Conference on Medicinal and Aromatic Plants of
63. Southeast European Countries, Antalya Turkey 18-22 April 2010
64. Afrianti LH, Sukandar EY, Ibrahim S, Adnyana IK. 2011a. Antihiperurikemia
65. ekstrak etil asetat dan etanol buah salak varietas bongkok (*salacca edulis*
66. *reinw.*) pada tikus galur wistar. Jurnal Teknologi Industri Pangan, vol XXII
67. No 1 th 2011. Hal 7-10
68. Afrianti LH, Sukandar EY, Ibrahim S, Adnyana IK. 2011b. The Influence of
69. Citric Acid and Tartrat Acid on The Formulation of Tablet Containing *Snake*
70. *fruit (Salacca edulis Reinw.) var. Bongkok* Extract by a Wet Granulation
71. Method. The 15th International Congress Phytopharm 2011 pada tanggal 25-
72. 27 Juli 2011 di Nuremberg Jerman.
73. Afrianti LH, Sukandar EY, Ibrahim S, Adnyana IK. 2011c Antioxidant and
74. Antihyperuricemic of Compounds from Snake Fruit (*Salacca edulis Reinw.*)
75. cv. Bongkok. The 15th International Congress Phytopharm 2011 pada tanggal
76. 25-27 Juli 2011 di Nuremberg Jerman.
77. Afrianti LH, Sukandar EY, Ibrahim S, Adnyana IK. 2011d. Antihyperuricemic
78. effect of Ethanol Extract of Snake fruit (*Salacca edulis Reinw.*) var. Bongkok
79. on Wistar Male Rat. The 12th Asean Food Conference 2011 pada tanggal 16-
80. 18 Juni 2011 di BITEC Bangna Thailand.
81. Afrianti LH, Sukandar EY, Ibrahim S, Adnyana IK. 2012a. Antihyperuricemic
82. Effect of Ethanol Extract of Snake fruit (*Salacca edulis Reinw.*) var. Bongkok
83. on Wistar Male Rat. Journal of Science and Engineering, 2 (2012), 271-276.
84. online (ISSN 2159-581X).
85. Afrianti LH, Sukandar EY, Ibrahim S, Adnyana IK. 2012b. Compound of 2-
86. amino-1-pyrrole metilester-4-carboxylic acid and salacca edulis Reinw fruit
87. variety Bongkok extracts againts breast cancer T47D SKBR-3. MCF-7, and
88. normal cells HBL-100, in vitro. 6-8 September 2012, Johns Hopkins
89. University, Rickville, MD, USA.
90. Afrianti, LH., Pranata W., Suliasih N., Widowaty W, Fauziah N., Maesaroh,
91. Erawijantari PP., Anticancer Activity of 3-hydroxystigmastan-5(6)-en (β -
92. sitosterol) Compound from *Salacca edulis Reinw*. Variety of Bongkok in MCF-7 and
93. T47D cell line, 2015, International Conference on Biotechnology
94. Agriculture Engineering, Kyoto, Japan 6-7 April 2015.
95. Afrianti, LH., Garnida Y., Widowaty W, Fauziah N., Maesaroh, Erawijantari PP,
96. 2015. Potent α -Glucosidase, α -Amylase, and β -glucosidase Inhibitor Activity
97. of Ethanol Extract, 3-hydroxystigmastan-5(6)-en (terpenoid), and Pyrolle-
98. 2,4-dicarboxylic acid-methyl ester from *Salacca edulis Reinw.* variety
99. Bongkok for Antidiabetic Agent. Akan dipresentasikan pada World Congress

99. Pharmacology 22-23 July 2015, Brisbane Australia.
100. Alzaid, A. and R.A.Rizza.1993. Insulin Resistance and Its Role in the
101. Pathogenesis of Glucose Tolerance and Non Insulin Independent Diabetes
102. Mellitus. Perspectives Gained from in vivo studies, In : *Insulin Resistance*
103. (Moller, D.E. ed). John Wiley and Sons Ltd. Baffins Lane,
104. Anonimus. 2005 a. Mewaspadai Komplikasi Diabetes. <http://www.dyvia.com>
105. Anonimus. 2005b. Mengenal Diabetes Mellitus.RS PKU Muhammadiyah
106. Yogyakarta.<http://www.suara-uhammadiyah.or.id/new/content/view/124/27/>
107. Arisandi, Y, Y. Andriani. 2006. Khasiat Berbagai Tanaman Untuk Pengobatan.
108. Eksa Media. Jakarta.
109. Burtis,G., J. Davis and S. Martin. 1988. Applied Nutrition and Diet Therapy.
110. W.B.Saunders Company. Harcourt Brace Jovanovich Inc. Philadelphia
111. Dalimarta, S. 2005a. Atals Tumbuhan Obat Indonesia. JilidI. Trubus Agriwidya.
112. Jakarta.
113. Dalimarta, S. 2005b. Atals Tumbuhan Obat Indonesia. Jilid II. Trubus Agriwidya.
114. Jakarta.
115. Dalimarta, S. 2005c. Atals Tumbuhan Obat Indonesia. Jilid III. Trubus
116. Agriwidya. Jakarta
117. Halliwell, B., J.M.C. Gutteridge. 1999. Free Radicals in Biology and Medicine.
118. OxfordUniversity Press. New York
119. Haugland, R.P. 2002. Handbook of Fluorescent Probes and Research Products.
120. Molecular Probes.
121. Humason,G.L. 1979. Animal tissue technique 4th ed. San Francisco. W.H.
122. Freeman and Company.
123. Jubiz, W. 1979. Endocrinology A. Logical Approach for Clinicians. Mc. Graw-
124. Hill Kogakusha, LTD. Tokyo
125. Kariadi, S.H. K.S. 2001. Peranan Radikal Bebas dan Antioksidan Pada Penyakit
126. Degeneratif Khususnya Diabetes Mellitus. Bagian Penyakit dalam. Fakultas
127. Kedokteran/RS Hasan Sadikin. Bandung.
128. Katzung, B.M. 2002. Farmakologi Dasar dan Klinik. Bagian Farmakologi
129. Fakultas Kedokteran, Universitas Airlangga. Salemba Medika. Jakarta. Kishida,
E., A. Kamura, S. Tokumaru, M. Oribe, H. Iguchi, dan S. Kojo. 1993.
130. Re-evaluation of Malondialdehyde and Thiobarbituric Acid-Reactive
131. Substances as Indices of Autoxidation Based on Oxygen Consumption. J.
132. Agric. Food Chem 41(1):1-4
133. Kobayashi, K.,Y. Saito, I. Nakazawa, F. Yashizaki. 2000. Biol. Pharm. Bull.
134. 2000. 23, 1250-125
135. Leong L.P., dan Shui G.. 2002. An Investigation of antioxidant capacity of fruits
136. in Singapore markets, Food Chem., 76. 69-75.
137. Moses, A.C. and M.J.Abrahamson. 1993. Therapeutic Approaches to Insulin
138. Resistance, In : *Insulin Resistance* (Moller, D.E. ed). John Wiley & Sons
139. Ltd. Baffins Lane
140. Ohkawa, H., N. Ohishi, dan K. Yagi. 1979. Assay for Lipid Peroxides in Animal
141. Tissues by Thiobarbituric Acid Reaction. Analytical Biochemistry 95:351-
142. 358

143. Randox Laboratories Ltd. 1994. Total Antioxidant Status. Ardmore, Diamond
 144. Road, Crumlin, Co. Antrim, United Kingdom. BT294 QY
 145. Randox Laboratories Ltd. 2004. Superoxide Dismutase (SOD). Ardmore,
 146. Diamond Road, Crumlin, Co. Antrim, United Kingdom, BT29 4QY.
 147. Safitri, R. 2002. Karakterisasi Sifat Antioksidan In Vitro Beberapa Senyawa Yang
 148. Terkandung Dalam Tumbuhan Secang (*Caesalpinia sappan* L.). Disertasi.
 149. Program Pasca Sarjana Universitas Padjadjaran. Bandung.
 150. Suryadhana, A. 2000. Pengaruh Ekstrak Daun Sambiloto (*Andrographis*
 151. *paniculata* Ness) Secara Oral Terhadap Uji Toleransi Glukosa Darah Pada
 152. Tikus Putih. Kongres Nasional Obat Tradisional Indonesia (KONAS OTI),
 153. Prosiding Abstrak Sidang Pleno & Simposium Ilmiah,. Surabaya.
 154. Suryowinoto. S. 2005. Mengenal Beberapa Tanaman Yang Digunakan
 155. Masyarakat Sebagai Antidiabetik Untuk Menurunkan Kadar Gula Dalam
 156. Darah. Badan Pengawas Obat dan Makanan. <http://www.pom.go.id/default.asp>
 157. Tiwari, A.K., J.M. Rao. 2002. Diabetes mellitus and multiple therapeutic
 158. approaches of phytochemicals : Present status and future prospect. *Current*
 159. *Science*, vol 83, no1 (30-38).
 160. Tjay, T.H., K, Rahardja. 2003. Obat-obat Penting Khasiat, Penggunaan dan
 Efekefek
 161. Sampingnya. Elex Media Komputindo Kelompok Gramedia, Jakarta.
 162. Unlu, G.V., F. Candan, A. Sokmen, D. Dafarera, M. Polssiou, M. Sokmen, E.
 163. Domez, B. Tepe. 2003. Antimicrobial and Antioxidant Activity of the
 164. Essential Oil and Methanol Extracts of *Thymus pectinatus* Fisch. et Mey.
 165. Var. *pectinatus* (Lamiaceae). *J. Agric. Food Chem.* 2003, 51, 63-67.
 166. Wuryastuti, H. 1992. Peranan Nutrisi dalam Kesehatan dan Penyakit. Pusat Antar
 167. Universitas (PAU) Pangan dan Gizi. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta
 168.

169. LAMPIRAN 1

170. Deskripsi

171. **METODA PEMBUATAN TEA SALAK BONGKOK**

172.

173. **Bidang Teknik Invensi**

174. Invensi ini berhubungan dengan suatu metoda untuk membuat teh salak Bongkok dengan penggunaan metoda freeze dry sehingga diperoleh the yang memiliki kandungan senyawa aktif yang lebih baik.

175.

176. **Latar Belakang Invensi**

177. Teh pada umumnya berasal dari tanaman *Camelia sinensis*. Namun kini the menjadi istilah umum yang mengacu pada simplisia kering yang dimanfaatkan untuk minuman yang digunakan dengan cara diseduh.

178. Adapun faktor-faktor yang mempengaruhi karakteristik teh, yaitu

- Kadar air
- Aroma
- Rasa
- Kandungan senyawa aktif

179. Proses yang dilakukan untuk membuat the tersebut pada umumnya adalah menggunakan metoda pengeringan suhu tinggi. Namun hal ini berdampak pada penurunan kualitas dari teh tersebut, baik pada karakteristik fisika, kimia maupun biokimia. Oleh karena itu dilakukan suatu pendekatan atau metoda lain yang dapat mempertahankan kualitas dari the buah.

180. Berdasarkan penelusuran paten mengenai metode pengeringan the buah salak belum ada paten yang ditemukan yang memiliki kesamaan.

181.

182. **Uraian Singkat Invensi**

183. Invensi ini bertujuan untuk mengatasi kelemahan-kelemahan invensi terdahulu dan tujuan selanjutnya adalah

untuk mendapatkan metoda yang lebih baik dalam membuat the buah salak.

184.

185.

186.

187.

188.

189. **Klaim**

1. Suatu metoda untuk mengeringkan buah salak menjadi simplisia kering dengan menggunakan teknik freeze drying.
2. Kematangan salak yang digunakan adalah baru matang.
3. Pengirisan buah salak dilakukan dengan ukuran memanjang sesuai buah dengan lebar 0,5 cm.
4. Pengemasan dilakukan dengan menggunakan polyvinyl.

190.

191.

192. **Abstrak**

193.

194. **METODA PEMBUATAN TEA SALAK BONGKOK**

195.

196. Invensi ini berhubungan dengan suatu metoda untuk membuat teh salak Bongkok dengan penggunaan metoda freeze dry sehingga diperoleh the yang memiliki kandungan senyawa aktif yang lebih baik.

197.

198. **LAMPIRAN 2**

199. **DRAFT ARTIKEL**

200.

201. **ANTIDIABETIC PROPERTY OF SALACCA OF BONGKOK
JUICE**

202.

203. **Leni Herliani Afrianti, Nana Sutisna Achyadi, Yudi Garnida, Yelliantty**

204.

205.

206.

207. **ABSTRACT**

208. Ditemukan senyawa 2-metilester-1-H-pirrol-4-asam karboksilat dan 3 β -hidroksistigmastan-5(6)-en dari ekstrak etilasetat buah salak Bongkok (*Salacca edulis Reinw.*) yang beraktivitas sebagai antioksidan ternyata menghambat α -glikosidase, sel β -glikosidase dan α -amilase. Buah yang mengandung senyawa aktif antioksidan yang menghambat hidrolisis karbohidrat, absorpsi glukosa, enzim α -glukosidase dan aldose reduktase dan meregenerasi sel- β sehingga dapat mengontrol kadar glukosa darah (antidiabetes). Tujuan penelitian ini adalah melakukan uji aktivitas terhadap antidiabetes dari produk minuman buah salak Bongkok secara in vitro.

209. Metoda penelitian yang digunakan adalah melakukan preparasi sampel jus salak, teh buah salak, ekstrak dan fraksi. Kemudian dilakukan uji aktivitas antioksidan, inhibisi α -glikosidase, sel β -glikosidase dan α -amilase.

210. Hasil penelitian menunjukkan adanya perbedaan aktivitas antioksidan, inhibisi α -glikosidase, sel β -glikosidase dan α -amilase antara sampel jus salak, teh buah salak, ekstrak dan fraksi.

211.

212.

213. Key words: antidiabetic, Bongkok, functional beverage, salacca

214.

215. **INTRODUCTION**

216. Diabetes Mellitus (DM) is a syndrome characterized by high blood sugar (hyperglycemia) is a disease of carbohydrate metabolism disorder due to a deficiency of insulin that causes glycosuria, followed by disorders of fat metabolism, protein, electrolytes and water. Symptoms include polyuria (lots of urine), polydipsia (much to drink) and polyphagia (eat lots). Symptoms of diabetes when blood glucose levels in humans in the fasting status of more than 120 mg / dl (Burtis et al., 1988). DM distinguished DM type 1 (DM-1) or insulin-dependent diabetes mellitus (IDDM) and type 2 diabetes mellitus (DM-2) or noninsulin-dependent diabetes

217. mellitus (NIDDM). DM-1 interference catabolism as there is no insulin in the circulation, glucagon increased plasma, cell β pancreas fails to respond to all stimuli insulogenik, so that the necessary administration of exogenous insulin to correct catabolism, prevent ketosis and lower hiperglukagonemia and lowering blood glucose levels (Katzung, 2002 ; Tiwari and Rao, 2002). People with diabetes tend to increase steadily, in Indonesia about 1.5% of the population suffering from diabetes, estimated in 2020 increased by 86-138% of the number of people with diabetes now. (Tjay and Rahardja, 2003). The active compound of antioxidants in these fruits can inhibit carbohydrate hydrolysis and the absorption of glucose, β -cells to regenerate so that increases insulin secretion, inhibits the enzyme α -glucosidase, thus inhibiting aldose reductase can control blood glucose levels (Dalimartha, 2005c).
218. Fruits Salak Bongkok of Sumedang District has a sour taste, astringent, and somewhat bitter. Phytochemical screening fruits Salak Bongkok indicate flavonoids, alkaloids, terpenoids, tannins katekat and quinones. While saponin was not found, besides containing vitamin C 8.37 mg / 100g (Afrianti, et al., 2006a) .Struktur isolated compounds and the purification of the ethyl acetate extract were determined based on spectroscopic data, covering the spectrum of UV, IR, NMR 1 -D, and RMI 2-D, obtained two compounds, namely compounds 3β -hydroxy-stigmastan-5 (6) -en and Acid 2-methylester-1-H-pyrrole-4-carboxylate (Afrianti et al., 2008; Afrianti et al., 2009; Afrianti et al., 2010a). Pyrrole acid compound methyl-2,4 dicarboxylic showed reduction of free radicals with IC₅₀ of 3.27 ug / mL, while the compounds 3β -hidroksistigmastan-5 (6) -en inactive (Afrianti et al., 2007; Afrianti et al., 2009 ; Afrianti et al., 2010c). Disclosure of the acid compound methyl-pyrrole-2,4-dicarboxylic acid in fruits Salak Bongkok which have antioxidant activity of conjugated double bonds, and the compound-stigmastan 3β -hydroxy-5 (6) -en that does not move as antioxidants (Afrianti, 2007). Recent findings indicate that the two compounds can inhibit α -amylase, α -glycosidase and β -glycosidase (Afrianti et al., 2015), because it needs to do further research with α -glucosidase inhibition, trapping free radicals trigger DM, regeneration cell- pancreatic β , increasing the sensitivity of insulin receptors, increasing the take up glucose, lipogenesis.

219.

220. **METHODS**

221. **Extraction of fruit**

222. Extraction with 95% ethanol (maceration), 1 kg simplisia fruits soaked in 2.5 L of ethanol (24 hours). The filtrate ethanol accommodated, fruit pulp soaked again with 2.5 L of ethanol (up to 4 x immersion). The filtrate bin I, II and III evaporated, condensed extract obtained fruits.

223. **Fractionation**

224. Extract thick done solvent fractionation with n-hexane, ethyl acetate, butanol and water, evaporated obtained fractions (n-hexane, ethyl acetate, butanol and water).

225. **Preparation of Juice**

226. Fruit peeled and separated from the seeds. Then washed and blanching. Fruit and then crushed and screened. The filtrate is then pasteurized and put into the bottle.

227. **Preparation of tea**

228. Fruit peeled and separated from the seeds. Then washed and dried at 50 ° C until the moisture content is determined.

229. **Antioxidant activity assay**

230. Make Reagents 1, mixed substrate, 20 mL Buffer. Reagent 3 mixed xanthine oxidase, 10 mL aquabidest. Reagent 4 (the standard solution) mixed standard solution, 10 mL aquabidest (standard S6). S5 solution: 5 mL sample S6 plus 5 mL diluent (Ransod diluent). The solution S4 S5 which is 5 mL plus 5 mL sample diluent. S3 solution is 5 mL sample S4 plus 5 mL diluent. Ie 3 mL solution S2 S3 plus 6 mL sample diluent. Diluted methanol extract (500 mg / mL, 250 mg / mL, 125 mg / mL, 62.5 mg / mL, 31.25 mg / mL, 15.625 mg / mL).

231. **Inhibition of α -glukosidase**

232. α -glukosidase (Saccharomyces sp.) 1.0 mg dissolved 100 ml of phosphate buffer (pH 7.0) / 200 mg bovine serum albumina. Enzyme plus 1/50 of water, the reaction mixture containing 500 mL (200 mM p-nitrophenyl α -D-glukopyranosid), 990 mL (100 mM phosphate buffer (pH 7.0)), 10 mL sample / DMSO tested, the reaction mixture was incubated (370 C, 5 '), plus 500 mL enzyme, iinkubasi 15 minutes. Incubation was stopped by addition of 200 mL (200 mM solution of Na₂CO₃), amount pnitrofenol measured absorbance (400 nm).

233.

234.

235. **RESULTS AND DISCUSSION**

236. The results showed that there are differences in the results of antioxidant activity in some samples. The highest antioxidant activity seen in the sample extract ethanol, while the lowest is in the sample steeping tea.

237.

238. The results showed that there are differences in the results of alpha-glucosidase inhibition in several samples. alpha-glucosidase inhibition highest seen in the sample extract ethanol, while the lowest is in the sample water fraction.

239.

240.

241. The results showed that there are differences in the results of inhibition of alpha-amylase in some samples. alpha-amylase inhibition highest seen in the sample extract ethanol, while the lowest is in the sample water fraction.

242.

243.

244. The results showed that there are differences in the results of beta-glucosidase inhibition in several samples. beta-glucosidase inhibition highest seen in the sample extract ethanol, while the lowest is in the sample water fraction.

245.

246.

247.

248.

249.

250.

251. The comparison reveals that ethanol extract has potential antidiabetic best compared to other samples. But ethanol extracts requires continued efforts in the utilization or application. Fruit juice samples show good results regarding the potential antidiabetic. Although not as high as ethanol extracts, but as an antidiabetic activity remains.

252. Likewise with fruit tea. Property of antidiabetic relatively lower than fruit juice, but still have the ability antidiabetic. Even the ability of alpha-amylase inhibition is still slightly better than fruit juice.
253. Based on the above results it can be concluded that the Salak Bongkok juice beverages and fruit tea has anti-diabetic activity. In addition, it can be inferred that the Salak Bongkok can be used as functional drinks that are good for health.

254.

255.

256. **REFERENCES**

257. Afrianti LH, Sukandar EY, Ibrahim S, Adnyana IK, 2006a. Aktivitas antioksidan ekstrak daging buah salak varietas Bongkok (*Salacca Edulis* Reinw.). *J Acta Pharmaceutica, Vol.XXXI,NO 1, Maret 2006. ISSN : 0216-616X*
- 258.
259. Afrianti LH, Sukandar EY, Ibrahim S, Adnyana IK, 2006b. Isolasi, elusidasi struktur dan aktivitas antioksidan ekstrak buah salak Bongkok. Prosiding Seminar Nasional Persatuan Ahli Teknologi Pangan Indonesia (PATPI),UGMYogyakarta
260. Afrianti LH, Sukandar EY, Ibrahim S, Adnyana IK, 2006c. Aktivitas antioksidan ekstrak daging buah salak varietas Bongkok. *Jurnal Acta Pharmaceutica. ITB, ISSN : 0216-616X*
261. Afrianti LH, Sukandar EY, Ibrahim S, Adnyana IK, 2006d. The use of salacca fruit variety of Bongkok extract as antioxidant and inhibitor of uric acid. Seminar Internasional PUDSEA, UGM Yogyakarta.
262. Afrianti LH, Sukandar EY, Ibrahim S, Adnyana IK, 2006e. The 4-(methoxycarbonyl) -1H-pyrrole-2-carboxylic acid from salak fruit var. Bongkok and antioxidant activity. Seminar Internasional ICMNS, ITB Bandung.
263. Afrianti LH, Sukandar EY, Ibrahim S, Adnyana IK. 2007a. Xanthine Oxidase inhibitor activity of terpenoid and pyrrole compounds isolated from snake fruit (*Salacca edulis* Reinw) Cv. Bongkok, *J of Applied Sciences 7(20): 3127-3130. ISSN : 1812-5654.*
264. Afrianti LH, Sukandar EY, Ibrahim S, Adnyana IK. 2007b. Beta-hidroksistigmastan- 5(6)en dan 2-metilester-1-H-pirol-4-asam karboksilat buah salak (*salacca edulis* Reinw) varietas Bongkok dan penghambatan aktivitas xanthin oksidase. *Jurnal Infomatek Unpas ISSN : 1411-0865*
265. Afrianti LH, Sukandar EY, Ibrahim S, Adnyana IK. 2009a. Pengaruh konsentrasi asam sitrat dan asam tartrat dalam formula granul efervesen ekstrak buah salak varietas bongkok (*salacca edulis. Reinw*). Simposium Nasional Kimia Bahan Alam XVII UNDIP, Semarang.

266. Afrianti LH, Sukandar EY, Ibrahim S, Adnyana IK. 2009b. Pengaruh konsentrasi asam sitrat dan konsentrasi asam tartrat terhadap karakteristik tablet effervescent ekstrak buah salak varietas bongkok (*salacca edulis* Reinw.). Seminar Nasional PATPI, Jakarta
267. Afrianti LH, Sukandar EY, Ibrahim S, Adnyana IK. 2009b . Effect of Etylacetate Extract of Snake Fruit (*Salacca edulis* Reinw.) var. Bongkok as Anthyhipericemia on Wistar Male Rat. Bandung International Conference of Medicinal ITB, Bandung
268. Afrianti LH, Sukandar EY, Ibrahim S, Adnyana IK. 2009c Terpenoid and Pyrrole compound from *Salacca edulis* (Reinw.) var. Bongkok and inhibitor xanthine oxidase. 11th Asean Food Conference 2009, Sabah Brunei
269. Afrianti LH, Sukandar EY, Ibrahim S, Adnyana IK. 2010a. Senyawa asam 2-metilester-1-H-pirol-4karboksilat dalam ekstrak etil asetat buah salakBongkok sebagai antioksidan dan antihiperurikemia. J. Teknologi danIndustri Pangan. Vol XXI(1);66-72. ISSN 1979-7788
270. Afrianti LH. 2010b. Komparasi antioksidan, evaluasi fisik granul dan tabletefervesen ekstrak buah salak Bongkok (*Salacca edulis* Reinw). J. Prestasi.Jurnal Pendidikan untuk meningkatkan kualitas SDM, No 1 tahun 1,61-72.ISSN 2087-2682
271. Afrianti LH. 2010c. Determination of antioxidant activity and inhibition of xanthinoxidase of ethyl acetate extract from snake fruit (*salacca edulis reinw.*)variety of Bongkok. 6th Conference on Medicinal and Aromatic Plants of Southeast European Countries, Antalya Turkey 18-22 April 2010
272. Afrianti LH, Sukandar EY, Ibrahim S, Adnyana IK. 2011a. Antihiperurikemia ekstrak etil asetat dan etanol buah salak varietas bongkok (*salacca edulisreinw.*) pada tikus galur wistar. Jurnal Teknologi Industri Pangan, vol XXIINo 1 th 2011. Hal 7-10
273. Afrianti LH, Sukandar EY, Ibrahim S, Adnyana IK. 2011b. The Influence ofCitric Acid and Tartrat Acid on The Formulation of Tablet Containing *Snakefruit* (*Salacca edulis Reinw.*) var. *Bongkok* Extract by a Wet Granulation Method. The 15th International Congress Phytopharm 2011 pada tanggal 25- 27 Juli 2011 di Nuremberg Jerman.
274. Afrianti LH, Sukandar EY, Ibrahim S, Adnyana IK. 2011c Antioxidant andAntihyperuricemic of Compounds from Snake Fruit (*Salacca edulis* Reinw.)cv. Bongkok. The 15th International Congress Phytopharm 2011 pada tanggal25-27 Juli 2011 di Nuremberg Jerman.
275. Afrianti LH, Sukandar EY, Ibrahim S, Adnyana IK. 2011d. Antihyperuricemic effect of Ethanol Extract of Snake fruit (*Salacca edulis* Reinw.) var. Bongkok on Wistar Male Rat. The 12th Asean Food Conference 2011 pada tanggal 16- 18 Juni 2011 di BITEC Bangna Thailand.

276. Afrianti LH, Sukandar EY, Ibrahim S, Adnyana IK. 2012a. Antihyperuricemic Effect of Ethanol Extract of Snake fruit (*Salacca edulis* Reinw.) var. Bongkok on Wistar Male Rat. *Journal of Science and Engineering*, 2 (2012), 271-276. online (ISSN 2159-581X).
277. Afrianti LH, Sukandar EY, Ibrahim S, Adnyana IK. 2012b. Compound of 2-
278. amino-1-pyrrole metilester-4-carboxylic acid and salacca edulis Reinw fruit
279. variety Bongkok extracts againts breast cancer T47D SKBR-3. MCF-7, and
280. normal cells HBL-100, in vitro. 6-8 September 2012, Johns Hopkins
281. University, Rickville, MD, USA.
282. Afrianti, LH., Pranata W., Suliasih N., Widowaty W, Fauziah N., Maesaroh,
283. Erawijantari PP., Anticancer Activity of 3-hydroxystigmastan-5(6)-en (β -
284. sitosterol) Compound from *Salacca edulis* Reinw. Variety of Bongkok in MCF-7
and T47D cell line, 2015, International Conference on Biotechnology
285. Agriculture Engineering, Kyoto, Japan 6-7 April 2015.
286. Afrianti, LH., Garnida Y., Widowaty W, Fauziah N., Maesaroh, Erawijantari PP,
287. 2015. Potent α -Glucosidase, α -Amylase, and β -glucosidase Inhibitor Activity
288. of Ethanol Extract, 3-hydroxystigmastan-5(6)-en (terpenoid), and Pyrolle-
289. 2,4-dicarboxylic acid-methyl ester from *Salacca edulis* Reinw. variety
290. Alzaid, A. and R.A.Rizza.1993. Insulin Resistance and Its Role in the
291. Pathogenesis of Glucose Tolerance and Non Insulin Independent Diabetes
292. Mellitus. Perspectives Gained from in vivo studies, In : *Insulin Resistance*
293. (Moller, D.E. ed). John Wiley and Sons Ltd. Baffins Lane,
294. Arisandi, Y, Y. Andriani. 2006. Khasiat Berbagai Tanaman Untuk Pengobatan.
295. Eksa Media. Jakarta.
296. Burtis,G., J. Davis and S. Martin. 1988. Applied Nutrition and Diet Therapy.
297. W.B.Saunders Company. Harcourt Brace Jovanovich Inc. Philadelphia Dalimarta,
S. 2005a. Atals Tumbuhan Obat Indonesia. JilidI. Trubus Agriwidya. Jakarta.
298. Dalimarta, S. 2005b. Atals Tumbuhan Obat Indonesia. Jilid II. Trubus Agriwidya.
299. Jakarta.
300. Dalimarta, S. 2005c. Atals Tumbuhan Obat Indonesia. Jilid III. Trubus Agriwidya.
Jakarta

301. Halliwell, B., J.M.C. Gutteridge. 1999. Free Radicals in Biology and Medicine.
302. OxfordUniversity Press. New York
303. Haugland, R.P. 2002. Handbook of Fluorescent Probes and Research Products.
304. Molecular Probes.
305. Humason,G.L. 1979. Animal tissue technique 4th ed. San Francisco. W.H.
306. Freeman and Company.
307. Jubiz, W. 1979. Endocrinology A. Logical Approach for Clinicians. Mc. Graw-
308. Hill Kogakusha, LTD. Tokyo
309. Kariadi, S.H. K.S. 2001. Peranan Radikal Bebas dan Antioksidan Pada Penyakit
310. Degeneratif Khususnya Diabetes Mellitus. Bagian Penyakit dalam. Fakultas
311. Kedokteran/RS Hasan Sadikin. Bandung.
312. Katzung, B.M. 2002. Farmakologi Dasar dan Klinik. Bagian Farmakologi
313. Fakultas Kedokteran, Universitas Airlangga. Salemba Medika. Jakarta. Kishida,
E., A. Kamura, S. Tokumaru, M. Oribe, H. Iguchi, dan S. Kojo. 1993.
314. Re-evaluation of Malondialdehyde and Thiobarbituric Acid-Reactive
315. Substances as Indices of Autoxidation Based on Oxygen Consumption. J.
316. Agric. Food Chem 41(1):1-4
317. Kobayashi, K.,Y. Saito, I. Nakazawa, F. Yashizaki. 2000. Biol. Pharm. Bull.
318. 2000. 23, 1250-125
319. Leong L.P., dan Shui G.. 2002. An Investigation of antioxidant capacity of fruits
320. in Singapore markets, Food Chem., 76. 69-75.
321. Moses, A.C. and M.J.Abrahamson. 1993. Therapeutic Approaches to Insulin
322. Resistance, In : *Insulin Resistance* (Moller, D.E. ed). John Wiley & Sons
323. Ltd. Baffins Lane
324. Ohkawa, H., N. Ohishi, dan K. Yagi. 1979. Assay for Lipid Peroxides in Animal
325. Tissues by Thiobarbituric Acid Reaction. Analytical Biochemistry 95:351-
326. 358
327. Randox Laboratories Ltd. 1994. Total Antioxidant Status. Ardmore, Diamond
328. Road, Crumlin, Co. Antrim, United Kingdom. BT294 QY

329. Randox Laboratories Ltd. 2004. Superoxide Dismutase (SOD). Ardmore,
330. Diamond Road, Crumlin, Co. Antrim, United Kingdom, BT29 4QY.
331. Tiwari, A.K., J.M. Rao. 2002. Diabetes mellitus and multiple therapeutic approaches of phytochemicals : Present status and future prospect. *Current Science*, vol 83, no1 (30-38).
332. Tjay, T.H., K, Rahardja. 2003. Obat-obat Penting Khasiat, Penggunaan dan Efekefek
333. Sampingnya. Elex Media Komputindo Kelompok Gramedia, Jakarta.
334. Unlu, G.V., F. Candan, A. Sokmen, D. Dafarera, M. Polssiou, M. Sokmen, E.
335. Domez, B. Tepe. 2003. Antimicrobial and Antioxidant Activity of the Essential Oil and Methanol Extracts of *Thymus pectinatus* Fisch. et Mey. Var. *pectinatus* (Lamiaceae). *J. Agric. Food Chem.* 2003, 51, 63-67.
336. Wuryastuti, H. 1992. Peranan Nutrisi dalam Kesehatan dan Penyakit. Pusat Antar Universitas (PAU) Pangan dan Gizi. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta
337.

338. **ANTIDIABETIC PROPERTY OF SALACCA OF BONGKOK
JUICE**

339.

340. **Leni Herliani Afrianti, Nana Sutisna Achyadi, Yudi Garnida, Yelliantty**

341.

342.

343.

344. **ABSTRACT**

345. Ditemukan senyawa 2-metilester-1-H-pirrol-4-asam karboksilat dan 3 β -hidroksistigmastan-5(6)-en dari ekstrak etilasetat buah salak Bongkok (*Salacca edulis Reinw.*) yang beraktivitas sebagai antioksidan ternyata menghambat α -glikosidase, sel β -glikosidase dan α -amilase. Buah yang mengandung senyawa aktif antioksidan yang menghambat hidrolisis karbohidrat, absorpsi glukosa, enzim α -glukosidase dan aldose reduktase dan meregenerasi sel- β sehingga dapat mengontrol kadar glukosa darah (antidiabetes). Tujuan penelitian ini adalah melakukan uji aktivitas terhadap antidiabetes dari produk minuman buah salak Bongkok secara *in vitro*.

346. Metoda penelitian yang digunakan adalah melakukan preparasi sampel jus salak, teh buah salak, ekstrak dan fraksi. Kemudian dilakukan uji aktivitas antioksidan, inhibisi α -glikosidase, sel β -glikosidase dan α -amilase.

347. Hasil penelitian menunjukkan adanya perbedaan aktivitas antioksidan, inhibisi α -glikosidase, sel β -glikosidase dan α -amilase antara sampel jus salak, teh buah salak, ekstrak dan fraksi.

348.

349.

350. Key words: antidiabetic, Bongkok, functional beverage, salacca

351.

352. **INTRODUCTION**

353. Diabetes Mellitus (DM) is a syndrome characterized by high blood sugar (hyperglycemia) is a disease of carbohydrate metabolism disorder due to a deficiency of insulin that causes glycosuria, followed by disorders of fat metabolism, protein, electrolytes and water. Symptoms include polyuria (lots of urine), polydipsia (much to drink) and polyphagia (eat lots). Symptoms of diabetes when blood glucose levels in humans in the fasting status of more than 120 mg / dl (Burtis et al., 1988). DM distinguished DM type 1 (DM-1) or insulin-dependent diabetes mellitus (IDDM) and type 2 diabetes mellitus (DM-2) or noninsulin-dependent diabetes

354. mellitus (NIDDM). DM-1 interference catabolism as there is no insulin in the circulation, glucagon increased plasma, cell β pancreas fails to respond to all stimuli insulogenik, so that the necessary administration of exogenous insulin to correct catabolism, prevent ketosis and lower hiperglukagonemia and lowering blood glucose

levels (Katzung, 2002 ; Tiwari and Rao, 2002). People with diabetes tend to increase steadily, in Indonesia about 1.5% of the population suffering from diabetes, estimated in 2020 increased by 86-138% of the number of people with diabetes now. (Tjay and Rahardja, 2003). The active compound of antioxidants in these fruits can inhibit carbohydrate hydrolysis and the absorption of glucose, β -cells to regenerate so that increases insulin secretion, inhibits the enzyme α -glucosidase, thus inhibiting aldose reductase can control blood glucose levels (Dalimartha, 2005c).

355. Fruits Salak Bongkok of Sumedang District has a sour taste, astringent, and somewhat bitter. Phytochemical screening fruits Salak Bongkok indicate flavonoids, alkaloids, terpenoids, tannins katekat and quinones. While saponin was not found, besides containing vitamin C 8.37 mg / 100g (Afrianti, et al., 2006a) .Struktur isolated compounds and the purification of the ethyl acetate extract were determined based on spectroscopic data, covering the spectrum of UV, IR, NMR 1 -D, and RMI 2-D, obtained two compounds, namely compounds 3β -hydroxy-stigmastan-5 (6) -en and Acid 2-methylester-1-H-pyrrole-4-carboxylate (Afrianti et al., 2008; Afrianti et al., 2009; Afrianti et al., 2010a). Pyrrole acid compound methyl-2,4 dicarboxylic showed reduction of free radicals with IC₅₀ of 3.27 ug / mL, while the compounds 3β -hidroksistigmastan-5 (6) -en inactive (Afrianti et al., 2007; Afrianti et al., 2009 ; Afrianti et al., 2010c). Disclosure of the acid compound methyl-pyrrole-2,4-dicarboxylic acid in fruits Salak Bongkok which have antioxidant activity of conjugated double bonds, and the compound-stigmastan 3β -hydroxy-5 (6) -en that does not move as antioxidants (Afrianti, 2007). Recent findings indicate that the two compounds can inhibit α -amylase, α -glycosidase and β -glycosidase (Afrianti et al., 2015), because it needs to do further research with α -glucosidase inhibition, trapping free radicals trigger DM, regeneration cell- pancreatic β , increasing the sensitivity of insulin receptors, increasing the take up glucose, lipogenesis.

356.

357. **METHODS**

358. **Extraction of fruit**

359. Extraction with 95% ethanol (maceration), 1 kg simplisia fruits soaked in 2.5 L of ethanol (24 hours). The filtrate ethanol accommodated, fruit pulp soaked again with 2.5 L

of ethanol (up to 4 x immersion). The filtrate bin I, II and III evaporated, condensed extract obtained fruits.

360. **Fractionation**

361. Extract thick done solvent fractionation with n-hexane, ethyl acetate, butanol and water, evaporated obtained fractions (n-hexane, ethyl acetate, butanol and water).

362. **Preparation of Juice**

363. Fruit peeled and separated from the seeds. Then washed and blanching. Fruit and then crushed and screened. The filtrate is then pasteurized and put into the bottle.

364. **Preparation of tea**

365. Fruit peeled and separated from the seeds. Then washed and dried at 50 ° C until the moisture content is determined.

366. **Antioxidant activity assay**

367. Make Reagents 1, mixed substrate, 20 mL Buffer. Reagent 3 mixed xanthine oxidase, 10 mL aquabidest. Reagent 4 (the standard solution) mixed standard solution, 10 mL aquabidest (standard S6). S5 solution: 5 mL sample S6 plus 5 mL diluent (Ransod diluent). The solution S4 S5 which is 5 mL plus 5 mL sample diluent. S3 solution is 5 mL sample S4 plus 5 mL diluent. Ie 3 mL solution S2 S3 plus 6 mL sample diluent. Diluted methanol extract (500 mg / mL, 250 mg / mL, 125 mg / mL, 62.5 mg / mL, 31.25 mg / mL, 15.625 mg / mL).

368. **Inhibition of α -glukosidase**

369. α -glukosidase (Saccharomyces sp.) 1.0 mg dissolved 100 ml of phosphate buffer (pH 7.0) / 200 mg bovine serum albumina. Enzyme plus 1/50 of water, the reaction mixture containing 500 mL (200 mM p-nitrophenyl α -D-glukopyranosid), 990 mL (100 mM phosphate buffer (pH 7.0)), 10 mL sample / DMSO tested, the reaction mixture was incubated (370 C, 5 '), plus 500 mL enzyme, iinkubasi 15 minutes. Incubation was stopped by addition of 200 mL (200 mM solution of Na₂CO₃), amount pnitrofenol measured absorbance (400 nm).

370.

371.

372. **RESULTS AND DISCUSSION**

373. The results showed that there are differences in the results of antioxidant activity in some samples. The highest antioxidant activity seen in the sample extract ethanol, while the lowest is in the sample steeping tea.

374.

375. The results showed that there are differences in the results of alpha-glucosidase inhibition in several samples. alpha-glucosidase inhibition highest seen in the sample extract ethanol, while the lowest is in the sample water fraction.

376.

377.

378. The results showed that there are differences in the results of inhibition of alpha-amylase in some samples. alpha-amylase inhibition highest seen in the sample extract ethanol, while the lowest is in the sample water fraction.

379.

380.

381. The results showed that there are differences in the results of beta-glucosidase inhibition in several samples. beta-glucosidase inhibition highest seen in the sample extract ethanol, while the lowest is in the sample water fraction.

382.

383.

384.

385.

386.

387.

388. The comparison reveals that ethanol extract has potential antidiabetic best compared to other samples. But ethanol extracts requires continued efforts in the utilization or application. Fruit juice samples show good results regarding the potential antidiabetic. Although not as high as ethanol extracts, but as an antidiabetic activity remains.

389. Likewise with fruit tea. Property of antidiabetic relatively lower than fruit juice, but still have the ability antidiabetic. Even the ability of alpha-amylase inhibition is still slightly better than fruit juice.

390. Based on the above results it can be concluded that the Salak Bongkok juice beverages and fruit tea has anti-diabetic activity. In addition, it can be inferred that the Salak Bongkok can be used as functional drinks that are good for health.

391.

392.

393. **REFERENCES**

394. Afrianti LH, Sukandar EY, Ibrahim S, Adnyana IK, 2006a. Aktivitas antioksidan ekstrak daging buah salak varietas Bongkok (*Salacca Edulis* Reinw.). *J Acta Pharmaceutica*, Vol.XXXI,NO 1, Maret 2006. ISSN : 0216-616X

395.

396. Afrianti LH, Sukandar EY, Ibrahim S, Adnyana IK, 2006b. Isolasi, elusidasi struktur dan aktivitas antioksidan ekstrak buah salak Bongkok. Prosiding Seminar Nasional Persatuan Ahli Teknologi Pangan Indonesia (PATPI),UGMYogyakarta

397. Afrianti LH, Sukandar EY, Ibrahim S, Adnyana IK, 2006c. Aktivitas antioksidan ekstrak daging buah salak varietas Bongkok. *Jurnal Acta Pharmaceutica*. ITB, ISSN : 0216-616X

398. Afrianti LH, Sukandar EY, Ibrahim S, Adnyana IK, 2006d. The use of salacca fruit variety of Bongkok extract as antioxidant and inhibitor of uric acid. Seminar Internasional PUDSEA, UGM Yogyakarta.

399. Afrianti LH, Sukandar EY, Ibrahim S, Adnyana IK, 2006e. The 4-(methoxycarbonyl) -1H-pyrrole-2-carboxylic acid from salak fruit var. Bongkok and antioxidant activity. Seminar Internasional ICMNS, ITB Bandung.

400. Afrianti LH, Sukandar EY, Ibrahim S, Adnyana IK. 2007a. Xanthine Oxidase inhibitor activity of terpenoid and pyrrole compounds isolated from snake fruit (*Salacca edulis* Reinw) Cv. Bongkok, *J of Applied Sciences* 7(20): 3127-3130. ISSN : 1812-5654.

401. Afrianti LH, Sukandar EY, Ibrahim S, Adnyana IK. 2007b. Beta-hidroksistigmastan- 5(6)en dan 2-metilester-1-H-pirol-4-asam karboksilat buah salak (*salacca edulis* Reinw) varietas Bongkok dan penghambatan aktivitas xanthin oksidase. *Jurnal Infomatek Unpas* ISSN : 1411-0865

402. Afrianti LH, Sukandar EY, Ibrahim S, Adnyana IK. 2009a. Pengaruh konsentrasi asam sitrat dan asam tartrat dalam formula granul efervesen ekstrak buah salak varietas bongkok (*salacca edulis. Reinw*). Simposium Nasional Kimia Bahan Alam XVII UNDIP, Semarang.

403. Afrianti LH, Sukandar EY, Ibrahim S, Adnyana IK. 2009b. Pengaruh konsentrasi asam sitrat dan konsentrasi asam tartrat terhadap karakteristik tablet effervescent ekstrak buah salak varietas bongkok (*salacca edulis* Reinw.). Seminar Nasional PATPI, Jakarta

404. Afrianti LH, Sukandar EY, Ibrahim S, Adnyana IK. 2009b . Effect of Etylacetate Extract of Snake Fruit (*Salacca edulis* Reinw.) var. Bongkok as Anthyhiperuricemia on Wistar Male Rat. Bandung International Conference of Medicinal ITB, Bandung
405. Afrianti LH, Sukandar EY, Ibrahim S, Adnyana IK. 2009c Terpenoid and Pyrrole compound from *Salacca edulis* (Reinw.) var. Bongkok and inhibitor xanthine oxidase. 11th Asean Food Conference 2009, Sabah Brunei
406. Afrianti LH, Sukandar EY, Ibrahim S, Adnyana IK. 2010a. Senyawa asam 2-metilester-1-H-pirol-4karboksilat dalam ekstrak etil asetat buah salak Bongkok sebagai antioksidan dan antihiperurikemia. J. Teknologi dan Industri Pangan. Vol XXI(1);66-72. ISSN 1979-7788
407. Afrianti LH. 2010b. Komparasi antioksidan, evaluasi fisik granul dan tabletefervesen ekstrak buah salak Bongkok (*Salacca edulis* Reinw). J. Prestasi. Jurnal Pendidikan untuk meningkatkan kualitas SDM, No 1 tahun 1,61-72. ISSN 2087-2682
408. Afrianti LH. 2010c. Determination of antioxidant activity and inhibition of xanthinoxidase of ethyl acetate extract from snake fruit (*salacca edulis reinw.*) variety of Bongkok. 6th Conference on Medicinal and Aromatic Plants of Southeast European Countries, Antalya Turkey 18-22 April 2010
409. Afrianti LH, Sukandar EY, Ibrahim S, Adnyana IK. 2011a. Antihiperurikemia ekstrak etil asetat dan etanol buah salak varietas bongkok (*salacca edulis* reinw.) pada tikus galur wistar. Jurnal Teknologi Industri Pangan, vol XXI No 1 th 2011. Hal 7-10
410. Afrianti LH, Sukandar EY, Ibrahim S, Adnyana IK. 2011b. The Influence of Citric Acid and Tartrat Acid on The Formulation of Tablet Containing *Snakefruit* (*Salacca edulis* Reinw.) var. *Bongkok* Extract by a Wet Granulation Method. The 15th International Congress Phytopharm 2011 pada tanggal 25- 27 Juli 2011 di Nuremberg Jerman.
411. Afrianti LH, Sukandar EY, Ibrahim S, Adnyana IK. 2011c Antioxidant and Antihyperuricemic of Compounds from Snake Fruit (*Salacca edulis* Reinw.) cv. Bongkok. The 15th International Congress Phytopharm 2011 pada tanggal 25-27 Juli 2011 di Nuremberg Jerman.
412. Afrianti LH, Sukandar EY, Ibrahim S, Adnyana IK. 2011d. Antihyperuricemic effect of Ethanol Extract of Snake fruit (*Salacca edulis* Reinw.) var. Bongkok on Wistar Male Rat. The 12th Asean Food Conference 2011 pada tanggal 16- 18 Juni 2011 di BITEC Bangna Thailand.
413. Afrianti LH, Sukandar EY, Ibrahim S, Adnyana IK. 2012a. Antihyperuricemic Effect of Ethanol Extract of Snake fruit (*Salacca edulis* Reinw.) var. Bongkok on Wistar Male Rat. Journal of Science and Engineering, 2 (2012), 271-276. online (ISSN 2159-581X).

414. Afrianti LH, Sukandar EY, Ibrahim S, Adnyana IK. 2012b. Compound of 2-
415. amino-1-pyrrole metilester-4-carboxylic acid and salacca edulis Reinw fruit
416. variety Bongkok extracts againts breast cancer T47D SKBR-3. MCF-7, and
417. normal cells HBL-100, in vitro. 6-8 September 2012, Johns Hopkins
418. University, Rickville, MD, USA.
419. Afrianti, LH., Pranata W., Suliasih N., Widowaty W, Fauziah N., Maesaroh,
420. Erawijantari PP., Anticancer Activity of 3-hydroxystigmastan-5(6)-en (β -
421. sitosterol) Compound from *Salacca edulis* Reinw. Variety of Bongkok in MCF-7
and T47D cell line, 2015, International Conference on Biotechnology
422. Agriculture Engineering, Kyoto, Japan 6-7 April 2015.
423. Afrianti, LH., Garnida Y., Widowaty W, Fauziah N., Maesaroh, Erawijantari PP,
424. 2015. Potent α -Glucosidase, α -Amylase, and β -glucosidase Inhibitor Activity
425. of Ethanol Extract, 3-hydroxystigmastan-5(6)-en (terpenoid), and Pyrolle-
426. 2,4-dicarboxylic acid-methyl ester from *Salacca edulis* Reinw. variety
427. Alzaid, A. and R.A.Rizza.1993. Insulin Resistance and Its Role in the
428. Pathogenesis of Glucose Tolerance and Non Insulin Independent Diabetes
429. Mellitus. Perspectives Gained from in vivo studies, In : *Insulin Resistance*
430. (Moller, D.E. ed). John Wiley and Sons Ltd. Baffins Lane,
431. Arisandi, Y, Y. Andriani. 2006. Khasiat Berbagai Tanaman Untuk Pengobatan.
432. Eksa Media. Jakarta.
433. Burtis,G., J. Davis and S. Martin. 1988. Applied Nutrition and Diet Therapy.
434. W.B.Saunders Company. Harcourt Brace Jovanovich Inc. Philadelphia Dalimarta,
S. 2005a. Atals Tumbuhan Obat Indonesia. JilidI. Trubus Agriwidya. Jakarta.
435. Dalimarta, S. 2005b. Atals Tumbuhan Obat Indonesia. Jilid II. Trubus Agriwidya.
436. Jakarta.
437. Dalimarta, S. 2005c. Atals Tumbuhan Obat Indonesia. Jilid III. Trubus Agriwidya.
Jakarta
438. Halliwell, B., J.M.C. Gutteridge. 1999. Free Radicals in Biology and Medicine.
439. OxfordUniversity Press. New York
440. Haugland, R.P. 2002. Handbook of Fluorescent Probes and Research Products.

441. Molecular Probes.
442. Humason,G.L. 1979. Animal tissue technique 4th ed. San Francisco. W.H.
443. Freeman and Company.
444. Jubiz, W. 1979. Endocrinology A. Logical Approach for Clinicians. Mc. Graw-
445. Hill Kogakusha, LTD. Tokyo
446. Kariadi, S.H. K.S. 2001. Peranan Radikal Bebas dan Antioksidan Pada Penyakit
447. Degeneratif Khususnya Diabetes Mellitus. Bagian Penyakit dalam. Fakultas
448. Kedokteran/RS Hasan Sadikin. Bandung.
449. Katzung, B.M. 2002. Farmakologi Dasar dan Klinik. Bagian Farmakologi
450. Fakultas Kedokteran, Universitas Airlangga. Salemba Medika. Jakarta. Kishida,
E., A. Kamura, S. Tokumaru, M. Oribe, H. Iguchi, dan S. Kojo. 1993.
451. Re-evaluation of Malondialdehyde and Thiobarbituric Acid-Reactive
452. Substances as Indices of Autoxidation Based on Oxygen Consumption. J.
453. Agric. Food Chem 41(1):1-4
454. Kobayashi, K.,Y. Saito, I. Nakazawa, F. Yashizaki. 2000. Biol. Pharm. Bull.
455. 2000. 23, 1250-125
456. Leong L.P., dan Shui G.. 2002. An Investigation of antioxidant capacity of fruits
457. in Singapore markets, Food Chem., 76. 69-75.
458. Moses, A.C. and M.J.Abrahamson. 1993. Therapeutic Approaches to Insulin
459. Resistance, In : *Insulin Resistance* (Moller, D.E. ed). John Wiley & Sons
460. Ltd. Baffins Lane
461. Ohkawa, H., N. Ohishi, dan K. Yagi. 1979. Assay for Lipid Peroxides in Animal
462. Tissues by Thiobarbituric Acid Reaction. Analytical Biochemistry 95:351-
463. 358
464. Randox Laboratories Ltd. 1994. Total Antioxidant Status. Ardmore, Diamond
465. Road, Crumlin, Co. Antrim, United Kingdom. BT294 QY
466. Randox Laboratories Ltd. 2004. Superoxide Dismutase (SOD). Ardmore,
467. Diamond Road, Crumlin, Co. Antrim, United Kingdom, BT29 4QY.

468. Tiwari, A.K., J.M. Rao. 2002. Diabetes mellitus and multiple therapeutic approaches of phytochemicals : Present status and future prospect. *Current Science*, vol 83, no1 (30-38).
469. Tjay, T.H., K, Rahardja. 2003. Obat-obat Penting Khasiat, Penggunaan dan Efekefek
470. Sampingnya. Elex Media Komputindo Kelompok Gramedia, Jakarta.
471. Unlu, G.V., F. Candan, A. Sokmen, D. Dafarera, M. Polssiou, M. Sokmen, E.
472. Domez, B. Tepe. 2003. Antimicrobial and Antioxidant Activity of the Essential Oil and Methanol Extracts of *Thymus pectinatus* Fisch. et Mey. Var. *pectinatus* (Lamiaceae). *J. Agric. Food Chem.* 2003, 51, 63-67.
473. Wuryastuti, H. 1992. Peranan Nutrisi dalam Kesehatan dan Penyakit. Pusat Antar Universitas (PAU) Pangan dan Gizi. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta
- 474.**

475. Deskripsi

476. **METODA PEMBUATAN TEA SALAK BONGKOK**

477.

478. **Bidang Teknik Invensi**

479. Invensi ini berhubungan dengan suatu metoda untuk membuat teh salak Bongkok dengan penggunaan metoda freeze dry sehingga diperoleh the yang memiliki kandungan senyawa aktif yang lebih baik.

480.

481. **Latar Belakang Invensi**

482. Teh pada umumnya berasal dari tanaman *Camelia sinensis*. Namun kini the menjadi istilah umum yang mengacu pada simplisia kering yang dimanfaatkan untuk minuman yang digunakan dengan cara diseduh.

483. Adapun faktor-faktor yang mempengaruhi karakteristik teh, yaitu

- Kadar air
- Aroma
- Rasa
- Kandungan senyawa aktif

484. Proses yang dilakukan untuk membuat the tersebut pada umumnya adalah menggunakan metoda pengeringan suhu tinggi. Namun hal ini berdampak pada penurunan kualitas dari teh tersebut, baik pada karakteristik fisika, kimia maupun biokimia. Oleh karena itu dilakukan suatu pendekatan atau metoda lain yang dapat mempertahankan kualitas dari the buah.

485. Berdasarkan penelusuran paten mengenai metode pengeringan the buah salak belum ada paten yang ditemukan yang memiliki kesamaan.

486.

487. **Uraian Singkat Invensi**

488. Invensi ini bertujuan untuk mengatasi kelemahan-kelemahan invensi terdahulu dan tujuan selanjutnya adalah

untuk mendapatkan metoda yang lebih baik dalam membuat the buah salak.

489.

490.

491.

492.

493.

494. **Klaim**

5. Suatu metoda untuk mengeringkan buah salak menjadi simplisia kering dengan menggunakan teknik freeze drying.
6. Kematangan salak yang digunakan adalah baru matang.
7. Pengirisan buah salak dilakukan dengan ukuran memanjang sesuai buah dengan lebar 0,5 cm.
8. Pengemasan dilakukan dengan menggunakan polyvinyl.

495.

496.

497. **Abstrak**

498.

499. **METODA PEMBUATAN TEA SALAK BONGKOK**

500.

501. Invensi ini berhubungan dengan suatu metoda untuk membuat teh salak Bongkok dengan penggunaan metoda freeze dry sehingga diperoleh the yang memiliki kandungan senyawa aktif yang lebih baik.

502.

503.

504.

505.

506.

507.

508.