

**PENGARUH EKSTRAK KASAR SENYAWA ALKALOID
DARI DAUN DEWA (*Gynura pseudo-china* (L.)DC.)
TERHADAP AKTIVITAS ENZIM LIPASE**

SKRIPSI

Oleh:

NUR KHOLIFAH

NIM: 03530016



**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MALANG
MALANG
2008**

**PENGARUH EKSTRAK KASAR SENYAWA ALKALOID
DARI DAUN DEWA (*Gynura pseudo-china* (L.)DC.) TERHADAP
AKTIVITAS ENZIM LIPASE**

SKRIPSI

Diajukan Kepada :

Universitas Islam Negeri Malang

**Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan Dalam
Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)**

Oleh :

NUR KHOLIFAH

NIM: 03530016

**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MALANG
MALANG
2008**

**PENGARUH EKSTRAK KASAR SENYAWA ALKALOID
DARI DAUN DEWA (*Gynura pseudo-china* (L.)DC.)
TERHADAP AKTIVITAS ENZIM LIPASE**

SKRIPSI

Oleh :

NUR KHOLIFAH

NIM : 03530016

Telah disetujui oleh :

Pembimbing Utama

Pembimbing Pendamping


Diana Candra Dewi, M.Si
NIP. 150 327 251


Ach. Nashichuddin, MA.
NIP. 150 302 531

Mengetahui,

Ketua Jurusan Kimia

Fakultas Sains dan Teknologi

Universitas Islam Negeri Malang


Diana Candra Dewi, M.Si
NIP. 150 327 251

**PENGARUH EKSTRAK KASAR SENYAWA ALKALOID
DARI DAUN DEWA (*Gynura pseudo-china* (L.)DC.)
TERHADAP AKTIVITAS ENZIM LIPASE**

SKRIPSI

Oleh :

NUR KHOLIFAH

NIM : 03530016

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi
dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan Untuk
Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)

Tanggal 08 Juli 2008

Susunan Dewan Penguji

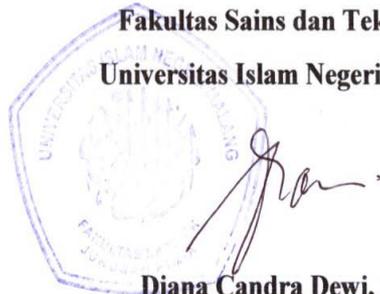
Tanda Tangan

- | | | |
|-----------------------|---|---------|
| 1. Penguji utama | : Himmatul Baroroh, M.Si
NIP. 150 327 246 | (.....) |
| 2. Ketua Penguji | : Akyunul jannah, S.Si., MP
NIP. 150 368 798 | (.....) |
| 3. Sekretaris Penguji | : Diana Candra Dewi, M.Si
NIP. 150 327 251 | (.....) |
| 4. Anggota Penguji | : Ach. Nashichuddin, MA
NIP. 150 302 531 | (.....) |

Mengetahui dan Mengesahkan,

Ketua Jurusan Kimia

**Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Islam Negeri Malang**



Diana Candra Dewi, M.Si
NIP. 150 327 251

PERSEMBAHAN

Karya ini kupersembahkan sebagai rasa syukur atas kehadiran Illahi Robbi yang telah memberikan segala Rahmat Taufiq serta inayah-Nya kepada junjungan Nabi Muhammad SAW yang telah menuntun manusia mencari sebuah kebenaran yang mutlak yakni sang Kholiq

Dengan ketulusan hati yang paling dalam kupersembahkan karya ini kepada :

Bapakku H. Tabri dan Hj. Siti Aisyah Emakku tercinta bagiku engkaulah orang tua terbaik yang selalu mencintaiku, mendekapku dengan kehangatan kasih sayangmu Kakak-kakakku tercinta...

mbak Sri, mbak Is, mbak Nis, mas Rozaq, mas Afif, mas Gur, mas Ghofur dan mbak eni yang selalu mendukungku, dan memberi semangat

Keponakan-keponakan tercinta...

Fitrul yang cantik, Chica bul-bul yang imut, Si kembar Nela dan Neli yang gemesin, jagoan-jagoan kecilku Rifqi, Arik, Rikza dan untuk keponakan yang kan hadir didunia ini

Seluruh keluarga besarku...

Seseorang yang akan selalu mendampingiku di indahnya Surga-Nya Orang-orang selalu haus akan ilmu pengetahuan...



MOTTO

Buat diri berharga bagi alam.....

*Keterpurukan bukanlah sebuah
keterputusan atau menyerah, tapi
api yang berkobar untuk menuju kemenangan
(Lieva, 2008)*

*Estetika di segala dimensi adalah sama, maka
semangatlah untuk meraihnya.....*

Thanks to :

*Ibu Diana selaku ketua jurusan sekaligus sebagai dosen pembimbingku yang selalu mengarahkan dalam perjalananku menyelesaikan skripsiku dan ibu Mila dosen pembimbingku yang selalu menuntunku dan selalu memberi spirit di saat kuterjatu
Seluruh dosen Kimia : ibu Rahma makasih atas spiritnya, kesediaanya untuk diskusi tentang hal-hal yang belum saya mengerti, ibu Eny selaku dosen waliku yang saya repotin terus disaat mengurus KRS, ibu Himma makasih atas tuntutannya,, ibu Rini selaku dosen penguji komprehensifku yang menuntunku menjadi lebih baik, bapak Anton, pak Naim makasih kesediaan diskusinya tentang reaksi organik dan pak Tri yang sedang menimba ilmu di Negeri seberang*

My Best Friends

Badrus (Ganyong) kepala suku, Im (Sariyem) yang tampan, Zaeni (Ceblong) yang nyebelin namun ngemesin, LIfy (Kelinci) yang manis, Dikjen (Tessy) dan Inoel (Cewek) yang Usil, terima kasih atas segala kasih sayang, keceriaan, memori indah dan pahit yang kita ukir bersama mulai dari MTs sampai sekarang

Sahabat Seperjuangan

Atul Coy (monyong), Susi Caem (sapi nurul), dan Ufix (embix uwae) yang selalu membantuku belajar kimia selama perkuliahan maupun sampai terselesainya skripsiku tanpa ada keluhan sedikitpun dan kenangan indah yang kita rajut bersama

Teman-teman Kimia '03

Taufik, Abi, Tamam, Wasil, Nain, Atoel, Susi, Rizqi, Rosi, Lilik R, A'yun, Ili, Lilik M, Nila, Dewi, Nurul, Tika, Cicik, Susilo, Diah, Ika, Ata, Fara, Uus, Fida dan Umi

Teman-teman Kontrakan Kertorejo 7C

Atoel coy yang rame, Hida yang suka jerit-jerit, Lifi yang cerewet dan suka narsis, Anjar yang paling muda dan sok dewasa, Devi yang badung dan suka usil serta Vivin yang cantik (almarhumah)

Teman-teman kos2an lama dan baru

Ani, Gita, Naila, Rima, Fida, Eva, Nene, dan Eva Bio '03

Kawan-kawan seperjuangan Himpunan Mahasiswa Islam (HMI)

Anjar, Taufiq, Atoel, Susi, Hida, Ghulam, Kakek, Haryono, Mufid, Gus Dur, adikku tercinta Udin, Hattan Ser, Muiz, Uswatun, Soffin, Ermizal, Ihsan, Ifa, Suryani, Brutus, Igif, Djalil Saddal, Eric, Aziz,, Adi, Rozak, Ninik, Susiati, Syafi'I, Miftah, Faiz kecil dan besar, Rona, Faris, Kamil, Dili, Umam dan kawan-kawan lainnya yang belum disebutkan, terima kasih banget atas semangat dan ilmu yang kita gali bersama.

Mas Ibnu yang tiada lelah mendampingi, memberikan seluruh cinta kasihnya dan selalu memberi semangat padaku

KATA PENGANTAR

Segala rasa syukur atas kehadiran Illahi Robbi yang telah memberikan segala rahmat, taufiq serta inayah-Nya. Sholawat dan salam akan selalu tercurahkan kepada Nabi Muhammad SAW yang telah menuntun umatnya dari kebodohan terdalam menuju pribadi yang mempunyai keintelektualan.

Sebuah keharusan bagi mahasiswa membuat tugas akhir berupa skripsi untuk meraih gelar sarjana strata 1, sehingga penulis membuat skripsi dengan judul “ **Pengaruh Ekstrak Kasar Senyawa Alkaloid dari Daun Dewa (*Gynura pseudo-china*) Terhadap Aktivitas Enzim Lipase**”

Selama penulisan skripsi ini penulis mendapat bimbingan, arahan dan motivasi dari beberapa pihak, oleh karena itu, penulis menyampaikan banyak terima kasih dan penghargaan setinggi-tingginya kepada :

1. Bapak Prof. Dr. Imam Suprayogo, selaku Rektor Universitas Islam Negeri Malang
2. Bapak Prof. Dr. Sutiman Bambang Sumitro, SU, D.Sc, selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Malang
3. Ibu Diana Candra Dewi, M.Si selaku Ketua Jurusan Kimia dan Dosen Pembimbing Utama yang selalu membimbing, mengarahkan, memberikan motivasinya serta kesediaannya untuk berdiskusi.
4. Bapak Ach. Nashichuddin, MA. selaku Dosen Pembimbing Pendamping yang senantiasa memberikan pengarahan, bimbingan serta kesediaannya

untuk berdiskusi tentang Hadits-hadits dan ayat al-Quran yang berhubungan dengan skripsi ini.

5. Ibu Elok Kamilah Hayati, M.Si, selaku konsultan yang senantiasa memberikan pengarahan, bimbingan, bantuan, motivasi, serta kesediannya untuk berdiskusi sehingga memberikan masukan yang berarti sampai akhir pembuatan skripsi ini.
6. Ibu Akyunul Jannaah, S.Si., MP selaku Dosen Penguji yang memberi saran demi kesempurnaan skripsi ini.
7. Ibu Himmatul Baroroh, M.Si, selaku Dosen Penguji yang memberikan saran demi kesempurnaan skripsi ini.
8. Ibu Rahmawati Ningsih, M.Si yang memberikan pengarahan, motivasi serta bersedia meluangkan waktunya untuk berdiskusi masalah reaksi organik dan memberikan masukan-masukan sampai akhir pembuatan skripsi ini.
9. Bapak dan Ibu dosen Kimia yang senantiasa mentransfer seluruh ilmu dan informasi selama masa kuliah sampai pada penyelesaian skripsi ini.
10. Kedua orang tuaku H. Tabri dan Hj. Siti Aisyah, saudara-saudaraku mbak Sri, mbak Is, mbak Nis dan mas Rozak, kakak iparku mas Afif, mas Gur, kak pung dan mbak Eni, Keponakanku Chaca, Arik, Fitrul, Nela, Neli, Rifqi, Rikza dan seluruh keluarga besarku tersayang, atas segala curahan kasih yang kalian berikan padaku dan segala doa-doa yang terlantun disetiap sujud kalian.

11. Teman seperjuangan Atul, Taufik dan Susi yang selalu membantu dan memotivasi selama perkuliahan sampai menyelesaikan skripsiku ini.
12. Sahabat karibku Lifi, Iim, Zeni, Inul, Badrus dan Dikin yang selalu setia mendampingi dalam keceriaan maupun kesedihan.
13. Kawan-kawan jurusan kimia angkatan 2003 atas kebersamaan, kekompakan dan perjuangan serta kerjasamanya.
14. Keluarga kontrakan 7C Kertorejo yang memberikan kenangan indah dan keceriaan di hidupku
15. Kawan-kawan seperjuangan HMI Koms. Saintek yang begitu besar membangun kesadaran diriku pada alam.
16. Semua pihak yang telah membantu terselesaikannya penulisan skripsi ini

Malang, Juli 2008

Penulis

DAFTAR ISI

Halaman

KATA PENGANTAR	i
DAFTAR ISI	iv
DAFTAR TABEL	vi
DAFTAR GAMBAR	vii
DAFTAR LAMPIRAN	viii
ABSTRAK	ix
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	5
1.3 Tujuan Penelitian	5
1.4 Batasan Masalah	5
1.5 Manfaat Penelitian	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1 Daun Dewa	7
2.1.1 Senyawaan Kimia dalam Daun Dewa	8
2.1.2 Efek Farmakologi	9
2.2 Alkaloid	9
2.2.1 Sifat Fisika	10
2.2.2 Sifat Kimia	11
2.2.3 Peran Alkaloid Bagi Tumbuhan dan Manusia	11
2.2.4 Pemisahan Senyawa Alkaloid dengan Metode Ekstraksi Sokhlet	12
2.2.5 Uji Kualitatif Senyawa Alkaloid dengan Metode Kromatografi Lapis Tipis	14
2.3 Enzim Lipase	16
2.3.1 Faktor-faktor yang Mempengaruhi Kerja Enzim Lipase	18
2.3.2 Uji Aktivitas Enzim Lipase dengan Metode Titrasi Asam Basa	21
2.4 Alkaloid sebagai Inhibitor Enzim Lipase	22
2.5 Tinjauan Agama Islam tentang Tumbuhan Herbal	23
BAB III METODE PENELITIAN	30
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	30
3.2 Alat dan Bahan	32
3.3 Tahapan Penelitian	31
3.4 Rancangan Penelitian	32
3.5 Prosedur Penelitian	32

3.5.1 Preparasi Sampel Daun Dewa.....	32
3.5.2 Ekstraksi Senyawa Alkaloid dengan Metode Ekstraksi Sokshlet	32
3.5.3 Uji Identifikasi Senyawa Alkaloid menggunakan KLT.....	33
3.6 Penyiapan Enzim Lipase.....	33
3.6.1 Pembuatan Media Padat.....	33
3.6.2 Penanaman Biakan Murni.....	34
3.6.3 Pembuatan Media untuk Produksi Enzim Lipase.....	34
3.6.4 Pembuatan Kurva Pertumbuhan.....	34
3.6.5 Pembuatan Inokulum.....	35
3.6.6 Produksi Enzim Lipase.....	35
3.6.7 Ekstrak Kasar Enzim Lipase.....	35
3.7 Penentuan Kondisi Optimum Aktivitas Enzim Lipase.....	36
3.7.1 Penentuan pH Optimum Aktivitas Enzim Lipase.....	36
3.7.2 Penentuan Waktu Inkubasi Optimum Aktivitas Enzim Lipase.....	36
3.7.3 Penentuan Konsentrasi Substrat Optimum Aktivitas Enzim Lipase	37
3.8 Uji Pengaruh Ekstrak Kasar Senyawa Alkaloid dari Daun Dewa Terhadap Aktivitas Enzim Lipase.....	38
3.9 Teknik Analisis Data.....	39
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	40
4.1 Preparasi Sampel dan Ekstraksi Senyawa Alkaloid.....	42
4.2 Uji Identifikasi Senyawa Alkaloid.....	43
4.3 Pembuatan Kurva Pertumbuhan Bacillus Subtillis dan Produksi Ekstrak Kasar Enzim Lipase.....	46
4.4 Penentuan Kondisi Optimum Enzim Lipase.....	48
4.4.1 Penentuan pH Optimum Enzim Lipase.....	50
4.4.2 Penentuan Waktu Inkubasi Optimum Enzim Lipase.....	53
4.4.3 Penentuan Substrat Optimum Enzim Lipase.....	54
4.5 Pengaruh Ekstrak Kasar Daun Dewa Terhadap Aktivitas Enzim Lipase.....	56
4.6 Tinjauan Agana Islam pada Daun Dewa sebagai Tumbuhan Herbal	59
BAB V PENUTUP.....	61
5.1 Kesimpulan.....	61
5.2 Saran.....	61
DAFTAR PUSTAKA	62
LAMPIRAN.....	66

DAFTAR TABEL

No	Tabel	Halaman
4.1	Hasil ulangan ekstrak kasar daun dewa	43
4.2	Warna tiap spot hasil KLT	45



DAFTAR GAMBAR

No.	Gambar	Halaman
2.1	Tanaman Daun Dewa	8
2.2	Struktur Molekul Enzim Lipase Tiga Dimensi	16
2.3	Reaksi Hidrolisis Enzim Lipase	17
2.4	Mekanisme Kerja Alkaloid sebagai Inhibitor Enzim Lipase	21
4.1	Pola Spot KLT dari Ekstrak Kasar Daun Dewa	45
4.2	Kurva Pertumbuhan <i>Bacillus subtilis</i>	47
4.3	Reaksi Hidrolisis Enzim Lipase	50
4.4	Struktur 3 Asam Amino pada Enzim Lipase	51
4.5	Kurva pH Optimum	52
4.6	Kurva Waktu Inkubasi Optimum	53
4.7	Kurva Konsentrasi Substrat Optimum	55
4.8	Kurva Pengaruh Ekstrak Kasar Daun Dewa Terhadap Aktivitas Enzim Lipase	57

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Judul	Halaman
1	Skema Kerja Prosedur Penelitian.....	66
2	Pembuatan Reagen Kimia.....	75
3	Data Kurva Pertumbuhan Bakteri <i>Bacillus subtilis</i>	78
4	Data Penentuan Kondisi Optimum Aktivitas Enzim Lipase.....	79
5	Data Penentuan Konsentrasi Inhibitor Optimum Terhadap Aktivitas Enzim Lipase.....	82
6	Gambar Preparasi Sampel dan Hasil Ekstrak.....	84
7	Gambar Penyiapan Enzim.....	86
8	Gambar Hidrolisis Lemak oleh Enzim Lipase.....	89
9	Gambar Alat.....	90



ABSTRAK

Kholifah, N., 2008, **Pengaruh Ekstrak Kasar Senyawa Alkaloid dari Daun Dewa (*Gynura pseudo-china*) Terhadap Aktivitas Enzim Lipase.**

Pembimbing Utama : Diana Candra Dewi, M.Si

Pembimbing Pendamping : Ach. Nashichuddin, MA

Kata kunci: Daun dewa, alkaloid, enzim lipase, inhibitor

Produksi enzim lipase dalam tubuh yang berlebih dapat menyebabkan obesitas yang menimbulkan berbagai penyakit, maka diperlukan suatu penghambat atau inhibitor untuk menghambat kerjanya atau aktivitasnya. Penelitian ini bertujuan untuk memanfaatkan bahan alam sebagai inhibitor enzim lipase alami. Allah telah menjelaskan di dalam al-Qur'an surat An-Nahl [26] ayat 11 bahwa segala apa yang ada di bumi untuk kemaslahatan manusia termasuk tumbuh-tumbuhan yang dapat dimanfaatkan sebagai pengobatan. Penelitian ini ingin mengetahui bahwa daun dewa yang merupakan tumbuhan semak semusim mempunyai senyawaan yang dapat menghambat aktivitas enzim lipase.

Ekstraksi bahan aktif ekstrak kasar daun dewa dilakukan dengan metode sokhlet menggunakan metanol, uji identifikasi kualitatif alkaloid dilakukan dengan menggunakan metode pemisahan KLT dengan pereaksi Dragendroff. Produksi enzim lipase dikulturkan dari bakteri *Bacillus subtilis*, uji pengaruh ekstrak kasar daun dewa terhadap aktivitas enzim lipase dilakukan pada kondisi pH, waktu inkubasi dan konsentrasi substrat optimum dengan metode titrasi asam basa.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa hasil ekstrak daun dewa $\pm 3,84355$ gram dari 60 gram sampel. Di dalam daun dewa terdapat senyawa alkaloid dengan munculnya spot berwarna jingga dengan Rf 0,77. Kondisi optimum aktivitas enzim lipase pada pH 7, waktu inkubasi menit ke-8 dan konsentrasi substrat pada konsentrasi 2,5 %. Konsentrasi ekstrak kasar daun dewa optimum dalam menghambat aktivitas enzim lipase adalah 60 mg/10 ml (aq) dengan aktivitas 1,25 (μ mol/ml.menit).

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Obesitas adalah penyakit multifaktorial akibat dari energi yang masuk dalam tubuh lebih banyak daripada energi yang dikeluarkan. Permasalahan ini sering menjadi keluhan masyarakat karena obesitas dapat memunculkan beberapa penyakit seperti hipertensi, radang sendi, dan penyakit jantung. Lemak terserap oleh tubuh dalam bentuk trigliserida yang mengandung satu molekul monogliserida dan dua molekul asam lemak bebas, apabila aktivitas enzim lipase meningkat akan meningkatkan penyerapan monogliserida dan asam lemak yang berpengaruh pada obesitas (Rahardjo, 2005: 48).

Ada beberapa cara yang dilakukan masyarakat untuk mencegah obesitas (menurunkan berat badan) antara lain dengan meningkatkan penggunaan kalori (olah raga) yang dikombinasikan dengan diet rendah kalori, meminum obat penekan nafsu makan, mengkonsumsi obat yang bekerja menghambat aktivitas enzim lipase pankreas sehingga meningkatkan ekskresi lemak lewat feses. Obat yang bekerja penghambat aktivitas enzim dapat dari obat hasil sintesis (orlistat) ataupun obat tradisional atau memanfaatkan tumbuh-tumbuhan yang ada di alam (Rahardjo, 2005: 48).

Pemanfaatan bahan alam tertera dalam surat An-Nahl [26] ayat 11 yang berbunyi (Ashidhiqi, 1997):

يُنَبِّتُ لَكُمْ بِهِ الزَّرْعَ وَالزَّيْتُونَ وَالنَّخِيلَ وَالْأَعْنَابَ وَمِنْ كُلِّ الثَّمَرَاتِ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَةً لِّقَوْمٍ يَتَفَكَّرُونَ ﴿١١﴾

Artinya: “Dia menumbuhkan tanaman-tanaman untukmu, seperti Zaitun, Korma, Anggur dan segala macam buah-buahan, sesungguhnya pada hal-hal yang demikian terdapat tanda-tanda kekuasaan Allah bagi orang-orang yang mau memikirkan” (QS. An-Nahl: 11).

Allah menganjurkan kepada seluruh hambanya untuk selalu memahami kebesaran dan kekuasaan-Nya dengan melihat seluruh ciptaan-Nya, sehingga ayat di atas diperkuat oleh ayat selanjutnya yang berbunyi (Ashidhiqi, 1997):

إِنَّ فِي خَلْقِ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ وَأَخْتِلَافِ اللَّيْلِ وَالنَّهَارِ لَآيَاتٍ لِأُولِي الْأَلْبَابِ ﴿١٩١﴾
الَّذِينَ يَذْكُرُونَ اللَّهَ قِيَمًا وَقُعُودًا وَعَلَىٰ جُنُوبِهِمْ وَيَتَفَكَّرُونَ فِي خَلْقِ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ رَبَّنَا مَا خَلَقْتَ هَذَا بَطْلًا سُبْحَانَكَ فَقِنَا عَذَابَ النَّارِ ﴿١٩٢﴾

Artinya: “Sesungguhnya dalam penciptaan Langit dan Bumi, dan silih bergantinya malam dan siang terdapat tanda-tanda bagi-orang-orang berakal. Yaitu orang-orang yang mengingat Allah sambil berdiri atau duduk atau dalam keadaan berbaring. Mereka memikirkan tentang penciptaan langit dan bumi (seraya berkata), Ya Tuhan kami, tiadalah Engkau menciptakan ini dengan sia-sia. Maha suci Engkau, maka peliharalah kami dari siksa api neraka” (QS. Ali Imron: 190-191).

Ayat di atas mendiskripsikan suatu kehidupan seseorang yang selalu memikirkan dan menganalisis, bahwa tiadalah Allah menciptakan alam beserta isinya dengan sia-sia dan batil, yang menciptakan dengan benar dan merupakan kebenaran. Begitu pula Tuhan menciptakan tumbuh-tumbuhan agar manusia dapat

menggambil manfaat darinya dan ciptaan Tuhan seperti tumbuh-tumbuhan telah tercipta dengan sempurna dan tidak sia-sia (Quthb, 200: 244-246).

Tumbuh-tumbuhan atau bahan alam digunakan sebagai bahan alternatif dalam kesehatan, karena terjamin keamanannya dibandingkan dengan bahan sintesis yang berbahaya bila dikonsumsi secara terus-menerus. Beberapa penelitian membuktikan bahwa bahan alam dapat digunakan sebagai inhibitor enzim lipase. Hasil penelitian Rahardjo dkk bahwa ekstrak daun jati belanda mampu menghambat aktivitas enzim lipase tikus. Penelitian Ruiz et al (2006: 371) tentang inhibisi enzim lipase bahwa bahan alam seperti senyawa flavonoid, saponin dan alkaloid mampu menghambat aktivitas enzim lipase.

Daun dewa merupakan salah satu tumbuhan obat yang secara *Invivo* dan *Invitro* sebagai antikanker, antitumor, antikolesterol tinggi dan lain sebagainya. Berdasarkan pengalaman, daun dewa ternyata dapat mengatasi beberapa jenis penyakit dan gangguan kesehatan seperti kanker, tumor, pembesaran prostat, hipertensi, kencing manis dan penyakit lain. Cara konsumsinya dapat diminum tanpa campuran bahan-bahan lain atau diramu dengan bahan lain seperti: benalu teh, temulawak, dan daun deruju sesuai dengan tujuan pengobatan (Suharmiati, 2003: 22-23). Hidayah (1991) melakukan penelitian yang hasilnya pemberian sari daun dewa dengan dosis setara mg daun/100 gram berat badan tikus dapat menurunkan kadar glukosa darah 1 jam setelah perlakuan. Sugiyanto, dkk (1997) melakukan penelitian dengan hasil ekstrak daun dewa mampu menghambat pertumbuhan tumor paru. Hasil penelitian Pujiastuti, dkk bahwa daun dewa dapat memberi efek analgesik

(Suharmiati, dkk, 2006: 10-11). Kandungan kimia daun dewa antara lain saponin, Senesefilin, senesifillinin, minyak atsiri, flavonoid, alkaloid dan tanin (Wijayakusuma, 2006: 42).

Penelitian Rahardjo dkk (2005), ekstrak daun jati belanda mampu menghambat aktivitas enzim lipase tikus (ratus). Daun tersebut yang mempunyai kandungan senyawa alkaloid yang diduga memiliki efek menghambat aktivitas enzim lipase karena mempunyai struktur kimia yang mirip dengan orlistat (adanya unsur N) (Rahardjo, 2005: 51). Daun dewa juga mempunyai kandungan kimia alkaloid seperti daun jati belanda, sehingga diduga alkaloid yang ada dalam daun dewa juga memiliki efek inhibisi terhadap aktivitas enzim lipase.

Alkaloid merupakan senyawa heterogen yang mengandung satu atau dua atom nitrogen, namun juga ada yang mengandung lebih dari dua atom nitrogen (Bath, 2006: 237). Alkaloid sejak dahulu sudah dipakai sebagai obat-obatan seperti opium sebagai obat analgesik (Sastrohamidjojo, 1996: 201), beberapa pabrik menggunakan alkaloid seperti alkaloid berberin sebagai obat diabetes, kanker prostat dan leukemia (Anonymous, 2007^b: 1), dan Sanguinarin berfungsi sebagai anti radang (Chaturvedi, et al, 1997: 1).

Berdasarkan hal tersebut di atas bahwa daun dewa mengandung senyawa alkaloid maka peneliti mencoba menguji apakah ekstrak kasar daun dewa mempunyai pengaruh terhadap aktivitas enzim lipase.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan permasalahan diatas maka perlu dirumuskan permasalahan yang ada yaitu :

1. Bagaimana hasil pemisahan ekstrak kasar daun dewa dengan KLT?
2. Berapakah pH optimum, waktu inkubasi optimum dan konsentrasi substrat optimum untuk aktivitas enzim lipase?
3. Berapakah konsentrasi optimum ekstrak kasar daun dewa yang mengandung senyawa alkaloid dalam menghambat aktivitas enzim lipase?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Mengetahui hasil pemisahan ekstrak kasar daun dewa dengan KLT.
2. Mengetahui pH optimum, waktu inkubasi optimum dan konsentrasi substrat optimum untuk aktivitas enzim lipase.
3. Mengetahui konsentrasi optimum ekstrak kasar daun dewa yang mengandung senyawa alkaloid dalam menghambat aktivitas enzim lipase

1.4 Batasan Masalah

Penelitian ini diperlukan batasan masalah agar tidak terjadi pelebaran masalah yang sedang diteliti yaitu:

1. Sampel yang digunakan adalah bagian daun yang berada di tengah ((mulai dari daun ketiga dari bawah)) dari tanaman daun dewa
2. Daun dewa merupakan tanaman yang diambil dari desa Wotan, Kepuhbaru-Bojonegoro

3. Enzim lipase yang digunakan berupa ekstrak kasar

1.5 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan memberi informasi bahwa tumbuhan yang ada disekitar kita bisa digunakan sebagai obat alternatif seperti daun dewa mempunyai senyawaan kimia yang berpengaruh terhadap aktivitas enzim lipase.



BAB II

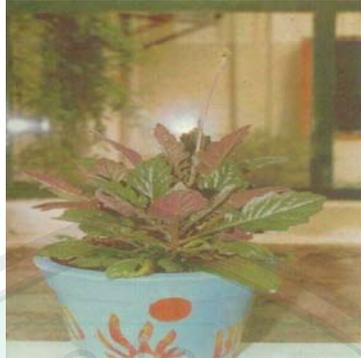
TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Daun Dewa

Daun dewa (*Gynura pseudo-china* (L.)DC.) merupakan tumbuhan semak semusim, yang mempunyai klasifikasi sebagai berikut (Suharmiati, 2006: 3):

Devisi	: <i>Spermatopyta</i>
Subdivisi	: <i>Angiospermae</i>
Kelas	: <i>Docotyledonae</i>
Bangsa	: <i>Asterales/Compositae</i>
Marga	: <i>Gynura</i>
Jenis	: <i>Gynura pseudo-china/Gynura segetum</i>

Tumbuhan ini mempunyai ketinggian antara 30-50 cm, bila berumur tua akan tumbuh cabang yang banyak. Daunnya berdaging, berbulu halus dan lebat tersebar mengelilingi batang, mempunyai bentuk yang variatif mulai dari lonjong sampai lanset memanjang, warna daun bagian permukaan atas hijau sedangkan permukaan bawah hijau dan ungu, bagian tepi daun bertoreh, ujungnya tumpul sedangkan pangkalnya lancip. Bunga majemuk berbentuk bongol dan berbulu, panjang tangkai bunga antara 20-30 cm, kelopak berwarna hijau dan berbentuk cawan. Panjang mahkota bunga antara 1-1,5 cm dan benang sari berbentuk jarum berwarna kuning. Buahnya kecil berwarna coklat, bijinya berbentuk jarum warna coklat dengan panjang 0,5 cm dan berakar serabut (Suharmiati, 2006: 5).



Gambar 2.1 Tanaman daun dewa

2.1.1 Senyawaan Kimia dalam Daun Dewa

Kandungan kimia yang terdapat di daun dewa antara lain saponin, senesefilin, senesifillinin, minyak atsiri, flavonoid, alkaloid dan tanin (Wijayakusuma, 2006: 42). Daun dewa bersifat manis, tawar, dan dingin, rasa manis bersifat menguatkan dan menyejukkan, sifat tawar atau tanpa rasa sebagai peluruh kencing sedangkan sifat dingin untuk pengobatan sindrom panas seperti demam, rasa haus, lidah berwarna merah, serta air seni berwarna kuning tua (Suharmiati, 2006: 10).

Daun dewa termasuk tumbuhan suku *Compositae* yang mengandung alkaloid jenis senesionina (Harborne, 1996: 235). Hasil penelitian dari Yuan et al (1990) menunjukkan bahwa telah terisolasi enam jenis alkaloid dari daun dewa dan empat diantaranya telah teridentifikasi yaitu senecionina, seneciphillina, seneciphillinina dan (E)-seneciphillina. Hasil penelitian Windono, dkk (2001: 87) juga telah mengisolasi lima jenis alkaloid pirolizidin dari daun dewa.

2.1.2 Efek Farmakologi

Efek farmakologi dari daun dewa adalah untuk mengatasi tumor, kista, mencairkan gumpalan darah, pembengkakan payudara, tidak datang haid, pendarahan kandungan, batuk darah, muntah darah, kutil, digigit binatang berbisa, tekanan darah tinggi, kolesterol tinggi, kecing manis, dan demam tinggi pada anak-anak (Wijayakusuma, 2006: 42). Hidayah (1991) melakukan penelitian yang hasilnya adalah pemberian sari daun dewa dengan dosis setara mg daun/100 gram berat badan tikus dapat menurunkan kadar glukosa darah 1 jam setelah perlakuan. Sugiyanto (1997) melakukan penelitian dengan hasil menunjukkan bahwa ekstrak daun dewa mampu menghambat pertumbuhan tumor paru, dan hasil penelitian Pujiastuti menunjukkan bahwa daun dewa dapat memberi efek analgesik (Suharmiati, dkk, 2006: 11).

2.2 Alkaloid

Alkaloid dikenalkan oleh seorang ahli farmasi Meissner pada tahun 1818 yang menyatakan bahwa alkaloid adalah senyawa yang mirip dengan alkil (Hesse, 1981: 2). Pada tahun 1896 Meyer's Conversations Lexicon mengembangkan definisi alkaloid dari Meissner. Definisi Meyer's Conversations Lexicon tentang alkaloid adalah tanaman basa yang terdapat pada tanaman-tanaman tertentu dan sering diketahui berdasarkan kemampuan fisiologinya yang baik, mengandung atom karbon, hidrogen, nitrogen, oksigen serta kebanyakan mirip alkil (Hesse, 1981: 2).

Pelletier mendefinisikan bahwa alkaloid adalah senyawa organik siklik yang terbatas pada organisme saja. Definisi modern tentang alkaloid pertama kali dikemukakan oleh Winsterstein dan Trier bahwa alkaloid merupakan senyawa yang terdapat pada tumbuhan maupun hewan yang mengandung atom nitrogen. ada definisi lain tentang alkaloid yaitu: senyawa heterogen yang mengandung satu atau dua atom nitrogen, namun juga ada yang mengandung lebih dari dua atom nitrogen (Bath, 2006: 237).

Pendapat lain mengemukakan bahwa alkaloid merupakan senyawa nitrogen cincin heterosiklik dengan sifat basa lemah yang terdapat di beberapa tumbuhan dan memberikan efek farmakologi, dan pada dosis tinggi bersifat sedikit toksik (Munir, 1988: 47).

2.2.1 Sifat Fisika

Kebanyakan alkaloid diisolasi berupa padatan kristal dengan titik didih berkisar $87-238^{\circ}C$. Alkaloid sedikit amorf, beberapa berupa cairan seperti nikotin dan koniin. Kebanyakan alkaloid tidak berwarna namun beberapa senyawa kompleks spesies aromatik berwarna seperti berberin berwarna kuning dan betanin berwarna merah. Pada umumnya alkaloid larut dalam pelarut organik namun ada beberapa yang larut dalam air seperti pseudoalkaloid dan protoalkaloid, garam alkaloid dan alkaloid quartener sangat larut dalam air (Sastrohamidjojo, 1996: 208).

2.2.2 Sifat Kimia

Alkaloid bersifat basa dan sifat ini bergantung pada adanya pasangan elektron pada nitrogen. Jika gugus fungsional yang berdekatan dengan nitrogen bersifat melepaskan elektron contoh gugus alkil, maka kesediaan elektron pada nitrogen naik dan senyawa ini lebih bersifat basa. Bila gugus fungsional yang berdekatan bersifat menarik elektron maka kesediaan pasangan elektron berkurang dan pengaruh yang ditimbulkan alkaloid dapat bersifat netral atau bahkan sedikit asam (Sastrohamidjojo, 1996: 209).

2.2.3 Peran Alkaloid Bagi Tumbuhan dan Manusia

Peran senyawa alkaloid bagi tumbuhan (Robinson, 1995: 283):

- a) Sebagai hasil buangan nitrogen seperti urea dan asam urat dalam hewan meski faham ini tidak dianut lagi
- b) Sebagai tempat penyimpanan nitrogen
- c) Alkaloid berfungsi melindungi tumbuhan dari serangan parasit atau pemangsa tumbuhan
- d) Sebagai pengatur pertumbuhan
- e) Sebagai pengganti basa mineral dalam mempertahankan kesetimbangan ion dalam tumbuhan karena sifat kebiasaannya

Peran alkaloid bagi manusia sudah ada sejak dahulu kala. Peran itu ada semenjak manusia menggunakan bahan alam sebagai obat-obatan, meski belum mengetahui senyawa aktif yang berperan sebagai obat. Beberapa alkaloid mempunyai peran tertentu antara lain: opium dari dahulu kala dikenal sebagai

obat analgesik (Sastrohamidjojo, 1996: 201), beberapa pabrik menggunakan alkaloid seperti alkaloid berberin sebagai obat diabetes, kanker prostat dan leukemia (Anonymous, 2007^b: 1), sanguinarin berfungsi sebagai anti radang (Chaturvedi, et al, 1997: 1). Meles dan Ketut (2006: 1) melakukan penelitian dengan hasil bahwa fraksi alkaloid memberi efek antimitosis pada pembelahan sel embrio tikus putih.

2.2.4 Pemisahan Senyawa Alkaloid dengan Metode Ekstraksi Sokshlet

Ekstraksi sokshlet merupakan salah satu metode ekstraksi berdasarkan jenis sampelnya yaitu ekstraksi padat cair. Ekstraksi sokshlet sering digunakan untuk mengekstrak minyak nabati atau hewani tanpa harus melarutkan sampel menjadi cair. Instrumentasinya meliputi labu alas bulat sebagai tempat hasil ekstraksi, timbel sebagai tempat sampel padat dan kondensor (Dewi, 2005).

Afriardini (2004: 12) mengisolasi alkaloid dari ubur-ubur dengan cara mengekstraksi bahan yang sudah dihancurkan dengan petroleum benzen untuk menghilangkan lemak dalam corong pisah, kemudian diekstraksi dengan etanol dan dipekatkan. Ekstrak etanol pekat diekstraksi dengan HCl 0,5 N. Larutan asam dibasakan dengan NaOH 15 % sampai pH 10 lalu diekstraksi dengan Kloroform. Fase kloroform dicuci dengan aquades dan dikeringkan dengan ditambah Na₂SO₄ anhidrat kemudian dipekatkan dengan *Rotary Evaporator Vacuum* pada suhu 30° C dan dipekatkan lagi dengan N₂, hasil ekstraksi yang diperoleh sebesar 7,95 gram.

Windono (2001: 87) telah mengisolasi senyawa alkaloid pirolizidin dari daun dewa (*Gynura pseudo-china (L)DC.*), serbuk daun sebesar 1000 gram diekstraksi sokhlet dengan metanol selama 72 jam. Ekstrak metanol yang didapat, dipekatkan dengan evaporator. Ekstrak kental diasamkan dengan HCl 2,5 % sebanyak 400 ml dan dikocok dengan eter sebanyak 2,5 l, fase air dibasakan dengan NH₄OH 25 % hingga pH 10, kemudian dikocok dengan CHCl₃. Fraksi CHCl₃ dikeringkan dengan Na₂SO₄ dan dipekatkan dengan evaporator serta dikeringkan dengan silika gel 60. Hasil fraksi CHCl₃ kering sebesar 1,45 gram.

Pada tanaman, terutama pada biji dan daun banyak mengandung lemak dan lilin yang bersifat sangat non-polar, yang dapat menimbulkan terbentuknya emulsi, maka langkah awal diperlukan pemisahan lemak dengan petroleum eter. Kebanyakan alkaloid tidak larut dalam petroleum eter kemudian diperlukan penambahan asam berair untuk mengikat alkaloid sebagai garamnya. Bahan tanaman diekstraksi dengan air, etanol, metanol, alkohol berair atau dengan larutan alkohol berair yang diasamkan (Sastrohamidjojo, 1996: 215). Beberapa penelitian pada umumnya menggunakan pelarut metanol untuk mengekstrak senyawa alkaloid (Anonymous, 2007^a: 2), sifat metanol yang cenderung polar dan sedikit non polar sesuai dengan sifat alkaloid yang polar dan beberapa ada yang cenderung non polar.

2.2.5 Uji Kualitatif Senyawa Alkaloid dengan Metode Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi adalah suatu nama yang diberikan untuk teknik pemisahan tertentu. Pada dasarnya semua cara kromatografi menggunakan dua fase yaitu fase diam dan fase gerak. Pemisahan-pemisahan ini bergantung pada gerakan relatif dari dua fase ini (Sastrohamidjojo, 2005: 21).

Keuntungan kromatografi lapis tipis adalah dapat memisahkan senyawa yang sangat berbeda seperti senyawa organik alam dan senyawa organik sintesis, kompleks organik dan anorganik serta ion anorganik dalam waktu singkat menggunakan alat yang tidak terlalu mahal. Metode ini kepekaannya cukup tinggi dengan jumlah cuplikan beberapa mikrogram, namun mempunyai kelemahan harga R_f yang tidak tetap (Anonymous, 2007°).

Identifikasi dengan KLT biasanya menggunakan harga R_f meskipun harga-harga R_f dalam KLT kurang tepat bila dibandingkan pada kertas. Seperti halnya pada kromatografi kertas harga R_f didefinisikan sebagai berikut (Sastrohamidjojo, 2005: 21):

$$\text{H a r g a } R_f = \frac{\text{j a r a k y a n g d i g e r a k k a n o l e h s e n y a w a d a r i t i t i k a s a l}}{\text{j a r a k y a n g d i g e r a k k a n o l e h p e l a r u t d a r i t i t i k a s a l}}$$

Afriardhini (2004: 13) menggunakan Kromatografi Lapis Tipis untuk mengidentifikasi senyawa alkaloid dengan larutan pengembang kloroform:metanol (10:0), (7:3), (6:4) dan (2:8) sebanyak 10 ml, sampel dibandingkan dengan standar kafein.

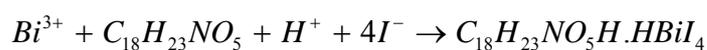
Windono (2001: 87) mendeteksi senyawa alkaloid dari daun dewa dengan kromatografi lapis tipis (KLT), fase geraknya adalah MeOH-CH₂Cl₂ (9:1)

sedangkan fase diamnya adalah silika gel GF₂₅₄, penampak noda dengan pereaksi Dragendroff dan diperoleh lima spot yang berwarna jingga semua dengan Rf yang diperoleh berkisar 0,72-0,76.

Membuktikan adanya senyawa alkaloid secara kualitatif pada suatu sampel, diperlukan pereaksi alkaloid. Pereaksi tersebut biasanya digunakan untuk uji kualitatif senyawa alkaloid dengan metode pengendapan. Pereaksi pengendapan yang digunakan untuk identifikasi alkaloid harus didasarkan pada kesanggupan alkaloid untuk bergabung dengan logam yang memiliki berat atom yang tinggi seperti merkuri, bismut, tungsten atau iod. Pereaksi alkaloid antara lain: pereaksi Mayer, pereaksi Dragendroff, pereaksi Bouchardat dan pereaksi Wagner (Sastrohamidjojo, 1996: 212).

Pereaksi Dragendroff adalah pereaksi alkaloid yang sering dipakai untuk deteksi alkaloid secara kromatografi yang memberi noda warna jingga (Sastrohamidjojo, 1996: 212). Kepekaan pereaksi Dragendroff terhadap alkaloid sepuluh kali lipat dibandingkan dengan pereaksi alkaloid lainnya, namun pereaksi ini mempunyai kelemahan kadang bereaksi dengan senyawa non alkaloid (Robinson, 2005: 285).

Prediksi reaksi senyawa alkaloid (jenis senecipilina) dengan pereaksi Dragendroff akan membentuk alkaloid tetraiodobismutat yang berwarna jingga (Vogel, 1990: 229):



Alkaloid

Alkaloid tetraiodobismutat
(warna jingga)

2.3 Enzim Lipase

Enzim lipase adalah enzim yang bekerja untuk menghidrolisis lemak dan minyak. Berdasarkan fungsi fisiologisnya enzim lipase mempunyai peranan penting menghidrolisis lemak dan minyak menjadi asam lemak dan gliserol yang dibutuhkan dalam proses metabolisme. Enzim lipase termasuk golongan enzim hidrolase yaitu enzim yang berfungsi untuk menghidrolisis (Hidayah, 2001). Enzim lipase atau *Triacylglycerol Acylhydrolase* diproduksi oleh sel, bakteri, mikroorganisme eukarotik, tumbuhan tingkat tinggi dan tumbuhan rendah (Ratledge, 1994: 101). Enzim lipase mempunyai pH optimum 8-9 namun dapat diantara 6-7 sesuai dengan jenis substratnya. Suhu optimum enzim lipase antara $30^{\circ}C$ dan $40^{\circ}C$ (Winarno, 1986: 68). Struktur molekul enzim lipase dengan gambar tiga dimensi ditunjukkan pada gambar 2.2.



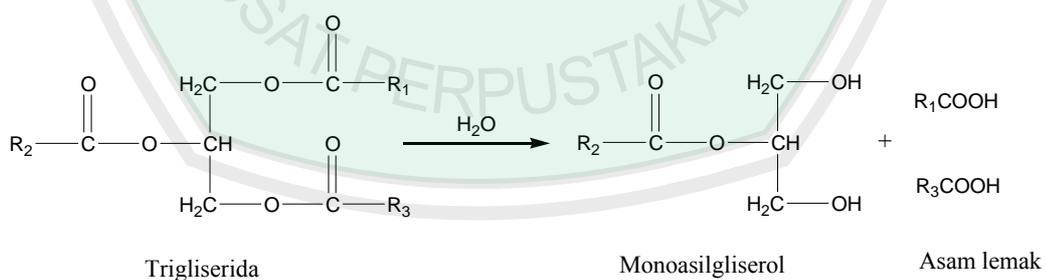
Gambar 2.2 Struktur molekul Enzim Lipase tiga dimensi

Daerah A merupakan “lid” atau tepi pengaktifan yang akan membuka daerah B yaitu daerah aktif enzim dan tempat substrat berada di daerah C

(Ratlidge, 1994: 109). Substrat (minyak) dapat kontak dengan enzim lipase jika tepi pengaktifan telah terbuka (Ibarra, 2007: 6).

Enzim lipase mempunyai 3 asam amino yang berperan dalam reaksi katalitiknya yaitu asam aspartat, histidin dan serin. Tapak aktif atau sisi aktif enzim lipase berada pada asam amino serin yaitu gugus hidroksil (-OH) dari serin akan berikatan kovalen dengan substratnya (Pouderoyen et al, 2001: 215).

Proses hidrolisis enzim lipase yang terdapat pada mikroba menyerang gugus ester pada asam lemak atau menghidrolisis ikatan ester pada posisi ester primer, kemudian pada posisi ester tersier, ester posisi 2 tidak mampu memasuki tapak aktif dari enzim lipase karena gangguan keruangan (Deman, 1997: 453). Reaksi hidrolisis berlangsung menghasilkan monoasilgliserol dan dua molekul asam lemak bebas. Reaksi hidrolisis lemak (trigliserida) oleh enzim lipase ditunjukkan pada gambar 2.4:



Gambar 2.3 Reaksi hidrolisis enzim lipase

Enzim lipase dalam cairan pankreas berfungsi sebagai katalis dalam proses hidrolisis lemak menjadi asam lemak, gliserol, monoasilgliserol dan

diasilgliserol. Aktivitas enzim lipase dapat bertambah dengan adanya ion Ca^{2+} dan asam empedu, dan bekerja pada pH 7,0 sampai 8,8. Pemecahan lemak dalam pankreas dibantu garam empedu yang berfungsi sebagai emulgator, maka lemak dipecah-pecah menjadi partikel-partikel kecil. Pemecahan lemak dalam usus tidak berlangsung secara sempurna menjadi gliserol dan asam lemak, tetapi masih terdapat digliserida dan monogliserida hasil samping gliserol dan asam lemak (Poedjiati, 2006: 243). Bagian dalam usus kecil diselimuti dengan apa yang disebut *villi* yang berfungsi memperluas permukaan, guna mempercepat penyerapan hasil-hasil pencernaan. Saat lemak diabsorpsi, akan melewati *small lymph vesels*, yang disebut *lactual* untuk didistribusikan ke dalam sistem limpa dan masuk ke dalam sistem sirkulasi (Anonymous, 2002).

Lemak terserap oleh tubuh dalam bentuk trigliserida yang mengandung satu molekul monogliserida dan dua molekul asam lemak bebas, apabila aktivitas enzim lipase meningkat akan meningkatkan penyerapan monogliserida dan asam lemak yang berpengaruh pada obesitas, sehingga perlu menghambat proses absorpsi lemak dengan menghambat aktivitas enzim (Rahardjo, 2005: 48-49).

2.3.1 Faktor-Faktor Yang Mempengaruhi Kerja Enzim Lipase

Suatu enzim lipase memerlukan kondisi tertentu agar mampu bekerja secara maksimal sebagaimana enzim pada umumnya. Kondisi tersebut ditentukan oleh beberapa faktor yaitu (Poedjiadi, 1994: 158-170):

1. Konsentrasi Enzim

Pada konsentrasi substrat tertentu, kecepatan reaksi akan bertambah dengan bertambahnya konsentrasi enzim. Jadi kecepatan reaksi suatu enzim bergantung pada konsentrasi enzim tersebut.

2. Konsentrasi Substrat

Suatu enzim yang mempunyai keadaan konsentrasi tetap akan bertambah kecepataannya dengan bertambahnya konsentrasi substrat. Namun pada batas konsentrasi substrat tertentu tidak terjadi kenaikan kecepatan reaksinya meskipun konsentrasi ditambah.

3. pH

Struktur ion enzim bergantung pada pH lingkungannya seperti halnya protein. Enzim dapat berbentuk ion positif dan ion negatif atau ion bermuatan ganda. Perubahan pH lingkungan akan mempengaruhi efektivitas bagian aktif enzim dalam membentuk kompleks enzim substrat. Pada pH rendah maupun pada pH tinggi akan menyebabkan terjadinya proses denaturasi dan berakibat turunnya aktivitas enzim.

4. Suhu

Pada suhu yang rendah kecepatan reaksi kimia akan menjadi lambat, sedangkan pada suhu yang tinggi reaksi berlangsung lebih cepat. Namun karena enzim suatu protein, maka kenaikan suhu akan menyebabkan terjadinya proses denaturasi. Bila terjadi denaturasi, bagian aktif enzim akan terganggu dan aktivitas enzim akan berkurang dan kecepataannya akan menurun.

5. Aktivator/Kofaktor

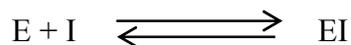
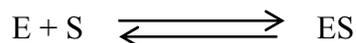
Aktivator merupakan suatu komponen yang dibutuhkan oleh enzim untuk dapat berfungsi sebagai katalis .

6. Inhibitor

Mekanisme enzim dalam suatu reaksi adalah melalui pembentukan kompleks enzim-substrat. Proses mekanisme reaksi enzim dapat mengalami hambatan oleh adanya ion atau molekul yang menghambat reaksi. Penghambat tersebut dinamakan Inhibitor. Hambatan yang dilakukan oleh inhibitor dibagi menjadi dua yaitu: hambatan irreversibel dan hambatan reversibel.

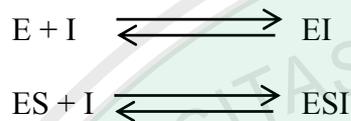
Hambatan Irreversibel disebabkan oleh adanya proses destruksi atau modifikasi sebuah gugus fungsi atau lebih yang terdapat pada molekul enzim. Hambatan ini terjadi karena inhibitor bereaksi tidak reversible dengan bagian tertentu pada enzim sehingga mengakibatkan berubahnya bentuk enzim.

Hambatan Reversibel dibagi menjadi dua yaitu: hambatan kompetitif dan nonkompetitif. Hambatan kompetitif disebabkan oleh adanya molekul yang mirip dengan substrat yang dapat membentuk kompleks enzim-inhibitor (EI).



Hambatan nonkompetitif tidak dipengaruhi oleh besarnya konsentrasi substrat. Inhibitor non kompetitif dapat bergabung dengan

enzim pada suatu bagian enzim di luar bagian aktif. Penggabungan antara enzim dan inhibitor terjadi pada saat enzim bebas atau pada saat enzim telah mengikat substrat yaitu enzim-substrat. Penggabungan inhibitor dengan enzim bebas menghasilkan kompleks EI, sedangkan penggabungan dengan kompleks ES menghasilkan kompleks ESI.



2.3.2 Uji Aktivitas Enzim Lipase dengan Metode Titrasi Asam Basa

Penentuan aktivitas enzim lipase dapat dilakukan secara kuantitatif dengan metode titrimetri. Prinsip pengukuran ini adalah substrat gliserida dibuat dalam bentuk emulsi dan diberi enzim lipase yang belum diketahui keaktifannya kemudian diinkubasi pada suhu dan pH optimum. Selama inkubasi asam lemak bebas dilepaskan dan hal ini akan menurunkan pH, dengan cara titrasi akan didapatkan jumlah liter persatuan waktu yang merupakan harga aktivitas enzim lipase (Hidayah, 2001).

Hidayah (2001) menghitung aktivitas enzim dengan menggunakan metode titrasi asam basa. Substrat yang digunakan adalah minyak zaitun yang diemulsi oleh larutan gum arabik 10 % yang dihomogenkan selama 2 menit. Kemudian ditambah larutan CaCl_2 0,075 M dan NaCl 3 M. pH diatur sampai 6 dengan larutan fosfat dan ditetesi buffer sitrat fosfat. Substrat dan enzim dicampur dan diinkubasi pada suhu 30°C selama 15 menit dalam inkubator. Hidrolisis dihentikan dengan proses pemanasan. Sampel hasil hidrolisis ditetesi indikator pp

0,1 % kemudian dititrasi dengan NaOH 0,05 M hingga timbul warna merah jambu (selama 30 detik). Larutan blankonya adalah enzim yang diinaktifkan dengan pemanasan pada suhu 100° C selama 5 menit dan prosedurnya diperlakukan sama dengan sampel (Hidayah, 2001: 24-28).

Aktivitas enzim lipase diperoleh dari jumlah asam lemak bebas yang dibebaskan selama hidrolisis berlangsung dengan mengikuti prinsip titrasi asam basa (Hidayah, 2001):



Persamaan di atas menunjukkan jumlah asam lemak bebas setara dengan jumlah NaOH yang digunakan untuk titrasi.

Aktivitas enzim lipase (μ mol/ml.menit) =

$$\frac{(V_{\text{NaOH sampel}} - V_{\text{NaOH Blanko}}) \times M_{\text{NaOH}}}{V_{\text{enzim}} \times t_{\text{reaksi}}} \times 1000$$

Satuan aktivitas enzim menurut *Enzyme Commission of the International Union of Biochemistry* adalah jumlah enzim yang mampu mengkatalisis perubahan 1 mikromol substrat per menit pada kondisi tertentu (Winarno, 1986: 12).

2.4 Alkaloid sebagai Inhibitor Enzim Lipase

Proses aktivitas enzim membutuhkan aktivator untuk meningkatkan laju reaksinya dan membutuhkan inhibitor untuk mengendalikan reaksinya. Aktivator dan inhibitor dapat berupa senyawa organik atau ion logam (Hidayah, 2001). Beberapa hasil penelitian telah diketahui bahwa alkaloid dapat digunakan sebagai inhibitor enzim lipase. Menurut Grippa et al (1999) bahwa berberin dan

sanguinarin (salah satu jenis alkaloid) merupakan inhibitor yang baik untuk enzim lipase. Hasil penelitian Cristian Ruiz et al (2006: 541), diketahui bahwa alkaloid reserpin mampu menginhibisi atau menghambat aktivitas enzim lipase pada konsentrasi rendah. Alkaloid yang mengandung unsur nitrogen mempunyai struktur kimia yang mirip dengan orlistat, (obat antiobesitas sintesis yang bekerja menghambat aktivitas enzim lipase) sehingga dimungkinkan memiliki efek menghambat aktivitas enzim lipase (Rahardjo dkk, 2005: 51).

2.5 Tinjauan Agama Islam Tentang Tumbuhan Herbal

Agama Islam menganjurkan umatnya yang sakit untuk berobat, berbagai riwayat menunjukkan bahwa Nabi Muhammad pernah berobat untuk dirinya sendiri, serta menyuruh keluarga dan sahabatnya yang sakit agar berobat. Hadits Nabi SAW yang diriwayatkan oleh Ahmad dan penulis kitab Sunan yang lain, serta Ibnu Hibban dan Hakim dari Usamah bin Syarik berbunyi (Qardhawi, 1998: 308):

يا عباد الله : تداؤوا فإن الله لم يضع داء إلا وضع له دواء غير داء واحد : الهرم
(رواه احمد)

Artinya: *“Wahai hamba Allah, berobatlah kamu karena Allah tidak menurunkan penyakit melainkan Dia menurunkan juga obatnya, kecuali satu penyakit. Mereka bertanya lagi penyakit apakah itu? Beliau menjawab: Tua”* (HR. Akhmad).

Hadits di atas diperkuat oleh hadits berikutnya yang diriwayatkan oleh Akhmad dalam Musnad dari Ibnu Mas’ud berbunyi (Qardhawi, 1998: 309):

إن الله لم ينزل داء إلا أنزل له شفاء علمه من علمه وجهله من جهله (رواه احمد)

Artinya: “*Sesungguhnya Allah tidak menurunkan suatu penyakit kecuali dia menurunkan obatnya juga. Orang yang tahu obatnya berarti dia mengetahuinya. Sedangkan orang yang tidak tahu obatnya, maka dia tidak mengetahuinya*” (HR.Akhmad).

Hadits di atas menjelaskan bahwa setiap penyakit pasti ada obatnya, kecuali tua, oleh karena itu apabila sedang sakit dianjurkan untuk berikhtiar mencari kesembuhan. Beberapa masyarakat melakukan olahraga, meminum obat penekan nafsu makan, anti obesitas sintesis dan memanfaatkan tumbuh-tumbuhan yang ada di alam untuk menurunkan berat badan (obesitas). Pemanfaatan bahan alam tersurat dan tersirat dalam Al-Quran surat An-Nahl [16] ayat 11 yang berbunyi (Ashidhiqi, 1997):

يُنْبِتُ لَكُمْ بِهِ الزَّرْعَ وَالزَّيْتُونَ وَالنَّخِيلَ وَالْأَعْنَابَ وَمِنْ كُلِّ الثَّمَرَاتِ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَةً لِّقَوْمٍ يَتَفَكَّرُونَ ﴿١١﴾

Artinya: “*Dia menumbuhkan tanaman-tanaman untukmu, seperti Zaitun, Korma, Anggur dan segala macam buah-buahan, sesungguhnya pada hal-hal yang demikian terdapat tanda-tanda kekuasaan Allah bagi orang-orang yang mau memikirkan*” (Q.S. An-Nahl : 11).

Ayat di atas dipertegas oleh ayat selanjutnya yang berbunyi (Ashidhiqi, 1997):

وَهُوَ الَّذِي أَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ نَبَاتَ كُلِّ شَيْءٍ فَأَخْرَجْنَا مِنْهُ خَضِرًا مَخْرُجًا مِنْهُ حَبًّا مُتَرَاكِبًا وَمِنَ النَّخْلِ مِن طَلْعِهَا قِنْوَانٌ دَانِيَةٌ وَجَنَّاتٍ مِّنْ أَعْنَابٍ وَالزَّيْتُونَ وَالزُّمَانِ مُمَشَّبَةً وَغَيْرَ مُمَشَّبَةٍ أَنْظِرُوا إِلَى ثَمَرِهِ إِذَا أَثْمَرَ وَيَنْعِهِ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَاتٍ لِّقَوْمٍ يُؤْمِنُونَ ﴿١٢﴾

Artinya: “Dan Dialah yang menurunkan air hujan dari langit, lalu kami tumbuhkan dengan air itu segala macam tumbuh-tumbuhan Maka kami keluarkan dari tumbuh-tumbuhan itu tanaman yang menghijau. kami keluarkan dari tanaman yang menghijau itu butir yang banyak dan dari Mayang Korma mengurai tangkai-tangkai yang menjulai, dan kebun-kebun Anggur, dan (Kami keluarkan pula) Zaitun dan Delima yang serupa dan yang tidak serupa. perhatikanlah buahnya di waktu pohonnya berbuah dan (perhatikan pulalah) kematangannya. Sesungguhnya pada yang demikian itu ada tanda-tanda (kekuasaan Allah) bagi orang-orang yang beriman” (QS.Al-An’am: 99).

Kedua ayat di atas menjelaskan bahwa Tuhan menumbuhkan tanaman-tanaman dengan air hujan mulai dari tanaman-tanaman yang mudah layu sampai yang panjang usianya dan paling banyak manfaatnya. Proses turunnya hujan sampai akibat-akibat yang ditimbulkannya adalah tanda-tanda kebesaran Allah SWT, hanya kaum yang memikirkan dan beriman mampu memahami semua itu. Seluruh yang tercipta di Alam seperti tumbuhnya tanaman-tanaman dan buah-buahan untuk kemaslahatan manusia yakni manusia dapat mengambil manfaat darinya dan mempergunakan dengan sebaik-baiknya (Imani, 2004: 252-253).

Penggunaan bahan alam sebagai obat alternatif lebih aman dibandingkan penggunaan bahan sintesis yang berbahaya bila dikonsumsi terus-menerus. Allah telah menegaskan keamanan penggunaan tumbuh-tumbuhan yang ada di sekitar dalam surat Luqman [31] ayat 10 yang berbunyi (Ashidhiqi, 1997):

خَلَقَ السَّمَوَاتِ بِغَيْرِ عَمَدٍ تَرْوِنَهَا ۗ وَأَلْقَىٰ فِي الْأَرْضِ رَوَاسِيَ أَن تَمِيدَ بِكُمْ وَبَثَّ فِيهَا مِن كُلِّ دَابَّةٍ ۗ وَأَنْزَلْنَا مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَنْبَتْنَا فِيهَا مِن كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ﴿١٠﴾

Artinya: “Dia menciptakan langit tanpa tiang yang kamu melihatnya dan dia meletakkan gunung-gunung (di permukaan) bumi supaya bumi itu tidak menggoyangkan kamu; dan memperkembang biakkan padanya segala macam jenis binatang. dan kami turunkan air hujan dari langit, lalu kami tumbuhkan padanya segala macam tumbuh-tumbuhan yang baik” (Q.S. Luqman: 10).

Ayat di atas dipertegas oleh ayat selanjutnya yaitu (Ashidhiqi, 1997):

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ﴿٧﴾

Artinya : “ Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik?” (QS. As-Syua’aro : 7).

Kedua ayat di atas menjelaskan kekuasaan dan kehebatan ciptaan Allah sekaligus sebagai bukti kekuasaan-Nya. Salah satu bukti akan kebenaran janji-Nya yaitu menumbuhkan berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik akibat proses percampuran tanah dengan air hujan dari langit (Shihab, 2002). Kitab al-Qur’an yang penuh dengan ilmu pengetahuan telah menjelaskan mengenai beberapa jenis tumbuhan yang mempunyai kelebihan dan berkhasiat sebagai penawar penyakit, hal ini juga didukung beberapa hadits Nabi yang menjelaskan tentang tumbuh-tumbuhan sebagai penawar penyakit (sebagai obat).

Allah telah menegaskan dalam al-Qur’an ayat At-Tiin [95] ayat 1 yang berbunyi :

وَالْتَيْنِ وَالزَّيْتُونَ ﴿١﴾

Artinya: Demi (buah) Tin dan (buah) Zaitun

Ayat di atas menjelaskan bahwa Allah SWT telah bersumpah atas nama buah Tin dan Zaitun yang mempunyai keistimewaan dan manfaatnya. Dalam Hadits Nabi yang telah diriwayatkan oleh Abu Zar r.a bahwa Nabi SAW dihadiahkan sekantong buah Tin, lalu Nabi mengajak sahabat-sahabatnya makan bersama. Kemudian Nabi bersabda “ Kalau aku katakan tentang buah-buahan

surga tidak berbiji, maka makanlah buah ini karena sesungguhnya dia dapat menghentikan bawahir serta bermanfaat untuk penyakit di badan “

Ayat yang menjelaskan manfaat dari Zaitun dalam Surat An-Nur [24] ayat 35 yang berbunyi:

﴿ اللَّهُ نُورُ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ ۖ مِثْلُ نُورِهِ ۖ كَمِشْكَاةٍ فِيهَا مِصْبَاحٌ ۚ الْمِصْبَاحُ فِي زُجَاجَةٍ ۚ الزُّجَاجَةُ كَأَنَّهَا كَوْكَبٌ دُرِّيٌّ يُوقَدُ مِنْ شَجَرَةٍ مُبْرَكَةٍ زَيْتُونَةٍ لَا شَرْقِيَّةٍ وَلَا غَرْبِيَّةٍ يَكَادُ زَيْتُهَا يُضِيءُ وَلَوْ لَمْ تَمْسَسْهُ نَارٌ ۖ نُورٌ عَلَى نُورٍ ۗ يَهْدِي اللَّهُ لِنُورِهِ ۖ مَنْ يَشَاءُ ۗ وَضَرَبُ اللَّهُ الْأَمْثَلَ لِلنَّاسِ ۚ وَاللَّهُ بِكُلِّ شَيْءٍ عَلِيمٌ ﴿٣٥﴾

Artinya : “Allah (Pemberi) cahaya (kepada) langit dan bumi. perumpamaan cahaya Allah, adalah seperti sebuah lubang yang tak tembus, yang di dalamnya ada Pelita besar. Pelita itu di dalam kaca (dan) kaca itu seakan-akan bintang (yang bercahaya) seperti mutiara, yang dinyalakan dengan minyak dari pohon yang berkahnya, (yaitu) pohon zaitun yang tumbuh tidak di sebelah timur (sesuatu) dan tidak pula di sebelah barat(nya), yang minyaknya (saja) hampir-hampir menerangi, walaupun tidak disentuh api. cahaya di atas cahaya (berlapis-lapis), Allah membimbing kepada cahaya-Nya siapa yang dia kehendaki, dan Allah memperbuat perumpamaan-perumpamaan bagi manusia, dan Allah Maha mengetahui segala sesuatu”.

Hadist lain tentang tumbuhan *Habbah As-Sauda* sejenis rumput warna hitam dan bermusim tahunan yang tumbuh di negara-negara sekitar laut tengah dan di India, daunnya kecil serta halus bunganya berwarna biru buahnya berbungks dan di dalamnya terdapat biji kecil berwarna hitam yang digunakan sebagai obat. Hadist Nabi SAW tentang *Habbah As-Sauda* dari Buraidah bahwa Rosullallah SAW bersabda “ *Pada Habbah As-Sauda terdapat obat segala penyakit kecuali maut*” hadits ini diriwayatkan oleh Abu Nu’aim dalam kitab *Al’Tibb*.

Beberapa Ayat dan hadits di atas menjelaskan bahwa tumbuh-tumbuhan seperti At-tin dan Zaitun maupun *Habbah As-Sauda* mempunyai manfaat untuk pengobatan. Buah At-tin digunakan untuk pengobatan penyakit bawahir, bengkak-bengkak di badan, pohon Zaitun untuk penawar racun, minyak zaitun untuk menghaluskan kulit, biji *Habbah As-Sauda* untuk melancarkan pengeluaran darah haid, air besar dan kencing. Penjelasan di atas memberi gambaran bahwa tumbuh-tumbuhan dapat digunakan sebagai obat sebagaimana penjelasan dari al-Qur'an dan Hadits.

Indonesia kaya aneka ragam jenis tumbuhan dan lebih dari 20.000 jenis tumbuhan yang telah teridentifikasi sebagai tumbuhan obat. Namun, baru 1000 jenis tanaman telah terdata dan baru sekitar 300 jenis yang sudah dimanfaatkan untuk pengobatan tradisional (Hariana, 2005). Penggunaan tumbuhan obat di Indonesia sudah dimulai dari zaman nenek moyang dan secara turun-temurun ramuan obat diwariskan dari satu generasi ke generasi berikutnya. Mahkota dewa merupakan salah satu tanaman herbal asli Indonesia, yang habitat aslinya di tanah papua. Kemudian tanaman ini masuk ke Keraton Mangkunegara dan Keraton Jogjakarta, di kedua tempat itu mahkota dewa dikenal sebagai tanaman obat dan lambat laun mulai dikenal masyarakat di luar keraton. Secara tradisional mahkota dewa dimanfaatkan sebagai obat untuk penyakit kanker, tumor, diabetes mellitus, hepatitis, hipertensi, jantung, reatik, asam urat, alergi, gangguan ginjal, dan ketergantungan obat (Lania, 2005: 1).

Menurut Syariat Islam kehalalan mahkota dewa yang merupakan salah satu contoh dari tumbuhan herbal ditentukan melalui (Lania, 2005: 7-8) :

1. Cara memperolehnya

Apabila mahkota dewa yang dikonsumsi berasal dari hasil memetik dan mengolah dari pohon yang ditanam sendiri atau dari ramuan yang di beli, maka hukum mengkonsumsinya adalah boleh. Hukumnya menjadi haram bila diperoleh dengan cara yang dilarang Allah seperti : hasil riba, harta anak yatim yang diambil dengan batil, hasil curian dan hal-hal yang terlarang lainnya.

2. Zat

Zat yang terkandung dari mahkota dewa adalah alkaloid, tannin, flavonoid, fenol, saponin, minyak atsiri, dan sterol. Diantara kandungan kimia mahkota dewa tidak satupun yang diharamkan dalam Islam, maka dari segi zatnya mahkota dewa boleh (mubah) digunakan sebagai obat.

3. Sifat dan akibat yang ditimbulkan jika mengkonsumsinya

Mahkota dewa dapat dimanfaatkan dengan dua cara: 1). Dimakan langsung tanpa diolah. Pemanfaatan ini tidak dianjurkan karena mahkota dewa mentah mempunyai sifat toksik yang tinggi. Efek samping luka di bibir, lidah dan mulut, menimbulkan mual, pusing dan keracunan. 2). Dalam bentuk yang sudah diolah menjadi ramuan. Mahkota dewa melalui pengelolaan dahulu dapat mengurangi sifat toksiknya. Ramuan mahkota dewa dapat dikombinasikan dengan tanaman obat lain atau obat-obatan moderen dari dokter.

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan September 2007 sampai Februari 2008 di Laboratorium Kimia Universitas Islam Negeri Malang, Laboratorium Kimia Universitas Muhammadiyah Malang, dan Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran UNIBRAW Malang.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Seperangkat alat gelas, blender, timbangan analitik, seperangkat alat sokshlet, *Rotary Evaporator*, inkubator, statif, buret, kertas saring, alat sentrifus dingin Mikro 22 R, pHmeter 3310 JENWAY, autoklav TOMY autoclave SS-325, spektrofotometer UV-Vis SHIMADZU 1700 pharماسpek dan lampu UV₂₅₄.

3.2.2 Bahan

Pereaksi Dragendorff, aquades, metanol (CH₃OH), minyak zaitun, larutan gum arabik 10 %, CaCl₂ 0,075 M, NaCl 3 M, NaOH 0,05 M, indikator pp 0,1 %, larutan fosfat (Na₂HPO₄) 0,2 M, buffer fosfat (NaH₂PO₄ dan Na₂HPO₄) pH 6; 6,5; 7, 7,5 dan 8, NaH₂PO₄, Na₂HPO₄, Glukosa, larutan aktivator (ZnSO₄. 7H₂O, FeSO₄. 7H₂O dan CuSO₄. 7H₂O), nutrien agar, MgSO₄, ekstrak ikan, yeast extract E-Merck, CH₂Cl₂, dan NaCl. Seluruh bahan kimia merupakan Pro Analytic (p.a).

3.3 Tahapan penelitian

Penelitian yang akan dilakukan ada beberapa tahap yaitu:

Tahap I : Preparasi sampel daun dari daun dewa mulai dari pengeringan sampai penghalusan

Tahap II : Ekstraksi alkaloid daun dewa dengan menggunakan pelarut metanol dan menguapkan pelarutnya dengan rotary evaporator

Tahap III : Uji identifikasi alkaloid menggunakan KLT dengan pereaksi Dragendroff

Tahap IV : Penyiapan enzim lipase: pembuatan media padat, penanaman biakan murni, pembuatan media untuk produksi enzim lipase, pembuatan inokulum, pembuatan kurva pertumbuhan bakteri, produksi enzim lipase, pengambilan ekstrak kasar enzim lipase

Tahap V : Penentuan kondisi aktivitas optimum enzim lipase :

1. Penentuan pH optimum dengan variasi pH: 6; 6,5; 7; 7,5 dan 8
2. Penentuan waktu inkubasi optimum dengan variasi waktu: 2, 4, 6, 8 dan 10 menit
3. Penentuan konsentrasi substrat variasi dengan konsentrasi substrat: 1,5; 2; 2,5; 3 dan 3,5 %.

Tahap VI : Uji pengaruh penambahan ekstrak kasar daun dewa terhadap aktivitas enzim lipase dengan variasi konsentrasi: 30, 60, 90, 120 dan 150 mg ekstrak kasar/10ml (aq)

3.4 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian tentang pengaruh ekstrak kasar daun dewa terhadap aktivitas enzim lipase adalah sebagai berikut:

1. Setiap perlakuan (1 variasi konsentrasi) diulang 2 kali (duplo)

A = variasi konsentrasi ekstrak kasar daun dewa (mg ekstrak kasar/10 ml)

A₁ = konsentrasi 30 mg/10 ml (aq)

A₂ = konsentrasi 60 mg/10 ml (aq)

A₃ = konsentrasi 90 mg/10 ml (aq)

A₄ = konsentrasi 120 mg/10 ml (aq)

A₅ = konsentrasi 150 mg/10 ml (aq)

2. Data yang diperoleh kemudian diolah dalam bentuk kurva sehingga dapat dideskripsikan hasil yang mampu menghambat atau sebaliknya memicu aktivitas enzim lipase.

3.5 Prosedur Penelitian

3.5.1 Preparasi Sampel Daun Dewa

Tumbuhan daun dewa diambil bagian daunnya dan di keringkan dengan sinar matahari, kemudian sampel dihancurkan dengan blender.

3.5.2 Ekstraksi Senyawa Alkaloid dengan Metode Ekstraksi Sokshlet

Daun dewa yang telah dihaluskan menjadi serbuk ditimbang sebanyak 60 gr, kemudian diekstraksi menggunakan ekstraktor sokshlet dengan pelarut metanol (100 ml) selama 6 jam (4 kali sirkulasi). Hasil ekstrak kental metanol diuapkan dengan *Rotary Evaporator* sampai semua volume metanol menguap dan diperoleh ekstrak kasar daun dewa dalam wujud kristal (Windono, 2001).

3.5.3 Uji Identifikasi Senyawa Alkaloid Menggunakan KLT

Hasil ekstraksi diatas diambil beberapa miligram kemudian dilarutkan dalam kloroform, ditotolkan pada lempeng KLT (GF₂₅₄) dengan ukuran plat 20 x 2 cm dan dielusi dengan fase gerak metanol: Diklorometan (9:1) dalam bejana kromatografi yang telah jenuh sampai batas yang ditentukan. Lempeng KLT dikeluarkan dari bejana kromatografi dan dikeringkan pada suhu kamar, setelah lempeng KLT kering disemprot dengan pereaksi Dragendroff. Kemudian dilihat pada sinar UV₂₅₄ dan bila muncul bercak warna jingga pada lempeng hal tersebut menunjukkan bahwa terdapat senyawa alkaloid kemudian ditentukan nilai Rf-nya (Windono, 2001).

3.6 Penyiapan Enzim Lipase

Metode pembuatan media padat, penanaman biakan murni, pembuatan media untuk produksi enzim lipase, pembuatan kurva pertumbuhan bakteri, pembuatan inokulum, produksi enzim lipase dan isolasi enzim lipase dilakukan menurut metode penelitian dari Hany Hidayah (2001) yang dimodifikasi.

3.6.1 Pembuatan Media Padat

Sebanyak 3 gram nutrisi agar dilarutkan dalam 100 ml aquades dan dipanaskan hingga larut. Larutan tersebut dipipet 10 ml dan dimasukkan ke dalam cawan petri, disterilkan dalam autoklav pada suhu 121°C selama 15 menit. Selanjutnya cawan petri dibiarkan pada suhu ruang selama 24 jam.

3.6.2 Penanaman Biakan Murni

Mikroba *Bacillus Subtilis* dari biakan dipindahkan secara aseptis sebanyak satu mata ose ke dalam media padat steril dan disimpan dalam inkubator pada suhu 30°C selama 24 jam.

3.6.3 Pembuatan Media untuk Produksi Enzim Lipase

Media pertumbuhan *Bacillus subtilis* terdiri dari: 5,00 gram ekstrak khamir, 5,00 gram NaCl, 10,00 gram glukosa, 13,4 gram Na_2HPO_4 , 16,8 gram NaH_2PO_4 , 0,5 gram $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ditambah 1 ml larutan aktivator dilarutkan dalam 500 ml ekstrak ikan dan pH diatur hingga pH 7 dengan larutan fosfat (Na_2HPO_4) 0.2 M, kemudian larutan dijadikan tepat 1 liter, kemudian disterilisasi dalam autoklav pada suhu 121°C selama 15 menit.

3.6.4 Pembuatan Kurva Pertumbuhan

Kurva pertumbuhan dibuat berdasarkan hubungan *Optical Density* (OD) yang menunjukkan pertumbuhan bakteri dengan waktu inkubasi. 50 ml media cair dimasukkan ke dalam erlenmeyer, *Bacillus subtilis* dari media padat dipindahkan

sebanyak dua mata ose ke dalam media cair di atas nyala bunsen, diinkubasi pada suhu 30°C , selama 2 jam. Disiapkan 14 erlenmeyer 100 ml masing-masing erlenmeyer diisi 9 ml media cair dan ditambah 1 ml larutan diatas, kemudian diinkubasi pada suhu 30°C dengan variasi waktu 0; 1; 1,5; 2; 2,5; 3; 3,5; 4; 4,5; 5; 5,5; 6; 6,5 dan 7 jam. Tiap 0,5 jam diukur nilai OD dengan spektrofotometer UV-Vis SHIMADZU pada panjang gelombang 600 nm.

3.6.5 Pembuatan Inokulum

Bacillus subtilis yang telah tumbuh pada tahap 3.6.2 diencerkan dengan aquades steril sebanyak 5 ml kemudian dikocok. Suspensi spora ini dimasukkan dalam 50 ml media cair diinkubasi sampai setengah fase log pada suhu 30°C .

3.6.6 Produksi Enzim Lipase

Sebanyak 300 ml media cair dibagi enam dan masing-masing dituang ke dalam erlenmeyer 100 ml, kemudian disterilkan pada suhu 121°C selama 15 menit. Media didinginkan kedalam tiap erlenmeyer ditambah 5 ml larutan inokulum secara aseptis dan diinkubasi sebelum fase log (3,5 jam).

3.6.7 Pengambilan Ekstrak Kasar Enzim Lipase

Erlenmeyer pada percobaan 3.6.6 ditambah 12,5 ml, larutan buffer fosfat pH 7 kemudian disentrifus dengan kecepatan 4500 rpm pada suhu 4°C selama 15 menit. Supernatan yang diperoleh merupakan ekstrak kasar enzim lipase kemudian diukur supernatannya serta disimpan pada suhu 4°C .

3.7 Penentuan Kondisi Optimum Aktivitas Enzim Lipase

3.7.1 Penentuan pH Optimum Aktivitas Enzim Lipase

Emulsi minyak zaitun terdiri dari 1 ml minyak zaitun dan 9 ml larutan gum arabik 10 % dalam air, dihomogenkan selama 2 menit. Kemudian ditambah larutan yang terdiri dari 10 ml aquades, 6 ml CaCl_2 0,075 M, dan 4 ml NaCl 3 M kemudian dihomogenkan, diatur pada variasi pH 6; 6,5 ; 7; 7,5 dan 8 dengan larutan fosfat 0,2 M dan ditambahkan buffer fosfat sesuai dengan pH-nya, selanjutnya larutan dijadikan tepat 40 ml. Sebanyak 5 ml campuran diatas dipipet dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer 100 ml dijadikan substrat untuk analisis dan ditambah 0,5 ml ekstrak enzim lipase dan 0,5 ml aquades dikocok selama 15 detik, diinkubasi pada suhu 30°C selama 6 menit dalam inkubator. Hidrolisis terjadi selama inkubasi dan dihentikan dengan memasukkan erlenmeyer ke dalam penangas air pada suhu 100°C selama 2 menit. Sampel hasil hidrolisis ditambah 2 tetes indikator pp 0,1 % dan dititrasi dengan NaOH 0,05 M hingga berwarna merah jambu dan tidak hilang selama 30 detik.

Untuk blanko, enzim lipase diinaktifkan dengan pemanasan pada suhu 100°C selama 15 menit. Kemudian enzim lipase inaktif diperlakukan sama dengan prosedur aktivitas enzim lipase aktif dan dilakukan dua kali ulangan

3.7.2 Penentuan Waktu Inkubasi Optimum Aktivitas Enzim Lipase

Emulsi minyak zaitun terdiri dari 1 ml minyak zaitun dan 9 ml larutan gum arabik 10 % dalam air, dihomogenkan selama 2 menit. Kemudian ditambah larutan yang terdiri dari 10 ml aquades, 6 ml CaCl_2 0,075 M, dan 4 ml NaCl 3 M

kemudian dihomogenkan, diatur pada pH optimum dengan larutan fosfat 0,2 M dan ditambahkan buffer fosfat pH optimum, selanjutnya larutan dijadikan tepat 40 ml. Sebanyak 5 ml campuran diatas dipipet dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer 100 ml dijadikan substrat untuk analisis dan ditambah 0,5 ml ekstrak enzim lipase dan 0,5 ml aquades dikocok selama 15 detik, diinkubasi pada suhu 30°C selama 2, 4, 6, 8 dan 10 menit dalam inkubator. Hidrolisis terjadi selama inkubasi dan dihentikan dengan memasukkan erlenmeyer ke dalam penangas air pada suhu 100°C selama 2 menit. Sampel hasil hidrolisis ditambah 3 tetes indikator pp 0,1 % dan dititrasi dengan NaOH 0,05 M hingga berwarna merah jambu dan tidak hilang selama 30 detik.

Untuk blanko, enzim lipase diinaktifkan dengan pemanasan pada suhu 100°C selama 15 menit. Kemudian enzim lipase inaktif diperlakukan sama dengan prosedur aktivitas enzim lipase aktif dan dilakukan dua kali ulangan.

3.7.3 Penentuan Konsentrasi Substrat Optimum Aktivitas Enzim Lipase

Untuk membuat variasi konsentrasi substrat lihat lampiran 2 yang terdiri dari emulsi minyak zaitun dan larutan gum arabik 10 % dalam air, dihomogenkan selama 2 menit. Kemudian ditambah larutan yang terdiri dari aquades, CaCl₂ 0,075 M, dan NaCl 3 M., lalu dihomogenkan, diatur pada pH optimum dengan larutan fosfat 0,2 M dan ditambahkan buffer fosfat, selanjutnya larutan dijadikan tepat 40 ml. Sebanyak 5 ml campuran diatas dipipet dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer 100 ml untuk analisis dan ditambah 0,5 ml ekstrak kasar enzim lipase dan 0,5 ml aquades dikocok selama 15 detik, diinkubasi pada suhu 30°C

dengan waktu inkubasi optimum dalam inkubator. Hidrolisis terjadi selama inkubasi dan dihentikan dengan memasukkan erlenmeyer ke dalam penangas air pada suhu 100°C selama 2 menit. Sampel hasil hidrolisis ditambah 3 tetes indikator pp 0,1 % dan dititrasi dengan NaOH 0,05 M hingga berwarna merah jambu dan tidak hilang selama 30 detik.

Untuk blanko, enzim lipase diinaktifkan dengan pemanasan pada suhu 100°C selama 15 menit. Kemudian enzim lipase inaktif diperlakukan sama dengan prosedur aktivitas enzim lipase aktif dan dilakukan dua kali ulangan.

3.8 Uji Pengaruh Penambahan Ekstrak Kasar Senyawa Alkaloid dari Daun Dewa Terhadap Aktivitas Enzim Lipase

Emulsi minyak zaitun terdiri dari 1 ml minyak zaitun dan 9 ml larutan gum arabik 10 % dalam air, dihomogenkan selama 2 menit. Kemudian ditambah larutan yang terdiri dari 10 ml aquades, 6 ml CaCl_2 0,075 M, dan 4 ml NaCl 3 M kemudian dihomogenkan, diatur pada pH optimum (pH 7) dengan larutan fosfat 0,2 M dan ditambahkan buffer fosfat pH 7, selanjutnya larutan dijadikan tepat 40 ml. Sebanyak 5 ml campuran diatas dipipet dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer 100 ml dijadikan substrat untuk analisis dan ditambah 0,5 ml ekstrak enzim lipase, 0,5 ml ekstrak kasar daun dewa dengan variasi konsentrasi 30, 60, 90, 120 dan 150 mg/10 ml larutan dan 0,5 ml aquades dikocok selama 15 detik, diinkubasi pada suhu 30°C selama waktu inkubasi optimum (8 menit) dalam inkubator. Hidrolisis terjadi selama inkubasi dan dihentikan dengan memasukkan erlenmeyer ke dalam penangas air pada suhu 100°C selama 2 menit. Sampel

hasil hidrolisis ditambah 3 tetes indikator pp 0,1 % dan dititrasi dengan NaOH 0,05 M hingga berwarna merah jambu dan tidak hilang selama 30 detik.

Untuk blanko, enzim lipase diinaktifkan dengan pemanasan pada suhu 100°C selama 15 menit. Kemudian enzim lipase inaktif diperlakukan sama dengan prosedur aktivitas enzim lipase aktif dan dilakukan dua kali ulangan.

3.9 Teknik Analisis Data

Analisis data pengaruh penambahan ekstrak kasar daun dewa terhadap aktivitas enzim lipase dilakukan dengan mendiskripsikan seluruh data melalui hasil kurvanya.



BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini mempelajari makna yang terkandung di dalam al-quran karena agama merupakan jalan terang bagi akal untuk mempelajari sains dan teknologi (Daud, 2007), sehingga di beberapa ayat-ayat-Nya Allah telah menyebutkan bahwa hanya orang-orang yang mau bersyukur dan memikirkan saja yang mampu memahami segala apa yang tercipta di kehidupan ini hanya untuk kemaslahatan umat.

Berdasarkan QS. Al-A'raaf [07] ayat 10 yang berbunyi :

وَلَقَدْ مَكَّنَّاكُمْ فِي الْأَرْضِ وَجَعَلْنَا لَكُمْ فِيهَا مَعِيشًا قَلِيلًا مَا تَشْكُرُونَ ﴿١٠﴾

Artinya : Sesungguhnya Kami telah menempatkan kamu sekalian di muka bumi dan Kami adakan bagimu di muka bumi (sumber) penghidupan. Amat sedikitlah kamu bersyukur.

Ayat di atas dipertegas oleh ayat selanjutnya Q.S An-Nahl [16] ayat 11 yang berbunyi :

يُنْبِتُ لَكُمْ بِهِ الزَّرْعَ وَالزَّيْتُونَ وَالنَّخِيلَ وَالْأَعْنَابَ وَمِنْ كُلِّ الثَّمَرَاتِ إِنَّ فِي

ذَٰلِكَ لَآيَةً لِّقَوْمٍ يَتَفَكَّرُونَ ﴿١١﴾

Artinya : Dia menumbuhkan bagi kamu dengan air hujan itu tanam-tanaman; zaitun, korma, anggur dan segala macam buah-buahan. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar ada tanda (kekuasaan Allah) bagi kaum yang memikirkan.

Kedua ayat di atas menjelaskan sebuah alasan manusia untuk mengingat segala rahmat-rahmat Allah, memafaatkan segala pemberian-

pemberian-Nya secara layak dan mengarahkan masyarakat pada kebahagiaan yang abadi serta untuk memberikan rasa syukur kepada Allah (Ghulsyani, 1993: 82-83). Seluruh pemberian Allah yang ada di muka bumi tercipta untuk dimanfaatkan sebaik-baiknya begitu pula dengan daun dewa banyak dimanfaatkan sebagai obat antikanker, anti tumor, kolesterol tinggi, muntah darah dan lain sebagainya (Wijayakusuma, 2006: 42). Tanaman daun dewa merupakan tumbuhan semak semusim, tanaman ini banyak tumbuh di sekitar, bahkan sering tumbuh secara liar di pekarangan, sehingga dilakukan eksperimen atau penelitian bahwa daun dewa dapat digunakan sebagai inhibitor enzim lipase, karena untuk memahami alam harus mampu menggunakan indera. Indera dapat dimaknai sebagai pengamatan dan eksperimen (Ghulsyani, 1993: 84).

Pada bab ini dijelaskan tentang hasil-hasil penelitian dan pembahasan meliputi preparasi sampel, ekstraksi sokhlet, evaporasi ekstrak kental, uji identifikasi senyawa alkaloid dengan KLT, pembuatan media padat, penanaman biakan murni, pembuatan media untuk enzim lipase, pembuatan kurva pertumbuhan, pembuatan inokulum, produksi enzim lipase, pengambilan ekstrak kasar enzim lipase, penentuan kondisi optimum aktivitas enzim lipase yaitu: penentuan pH optimum aktivitas enzim lipase, penentuan waktu inkubasi optimum aktivitas enzim lipase, konsentrasi substrat optimum aktivitas enzim lipase serta uji pengaruh ekstrak kasar daun dewa terhadap aktivitas enzim lipase.

4.1 Preparasi Sampel dan Ekstraksi Senyawa Alkaloid

Daun dewa yang digunakan sebagai sampel berasal dari daun yang segar berwarna hijau tua (lampiran 6), sampel kemudian dikeringkan dengan cara menjemur sampel di bawah sinar matahari selama 4 hari pada suhu normal (aliran udara terbuka), perlakuan ini bertujuan untuk mengurangi kadar air dan mencegah terjadinya perubahan kimia (daun cepat busuk sehingga dapat menghasilkan mikroorganisme yang dapat merubah konformasi senyawaan kimia yang terkandung di daun tersebut) (Suastini, 2000). Sampel yang telah kering diblender untuk memperluas permukaan sehingga mempermudah pada proses ekstraksi, sampel yang diperoleh adalah daun kering yang berwarna hijau tua.

Proses selanjutnya adalah ekstraksi daun dewa yang telah kering dengan tujuan mendapatkan ekstrak kasar senyawa alkaloid dari daun dewa. Proses ekstraksi menggunakan ekstraksi sokhlet. Ekstraksi sokhlet hanya memerlukan jumlah pelarut sedikit, proses ekstraksinya yang cepat dan titik didih senyawa alkaloid berkisar $172\text{ }^{\circ}\text{C}$ sehingga senyawa tersebut tidak rusak/hilang akibat proses pemanasan. Pelarut yang digunakan untuk ekstraksi adalah metanol p.a 80 %, pelarut ini sering digunakan untuk mengekstrak senyawa alkaloid. Metanol mempunyai sifat yang tidak terlalu polar maupun non polar (Anonymous, 2008: 4), sehingga mempunyai kelarutan dan stabilitas yang tinggi terhadap senyawa alkaloid. Kepolaran metanol dapat dilihat dari gugus hidroksilnya sedangkan sifat non polarnya dilihat dari gugus alkilnya. Sampel daun dewa kering masing-masing 60 gram diekstraksi dengan metanol 100 ml

selama 6 jam (4 sirkulasi), ekstrak kental yang diperoleh berwarna hijau tua \pm 50 ml (lampiran 6).

Ekstrak kental dievaporasi dengan *Rotary Evaporator* untuk menghilangkan pelarut metanol. Ekstrak kasar ulangan I diperoleh 3,5973 gram berwarna hijau tua dan kecoklatan berbentuk kristal dan ekstrak kasar ulangan II 4,0898 gram berwarna hijau tua berbentuk kristal yang masih sedikit pelarutnya, berat rata-rata yang diperoleh \pm 3,84355 gram.

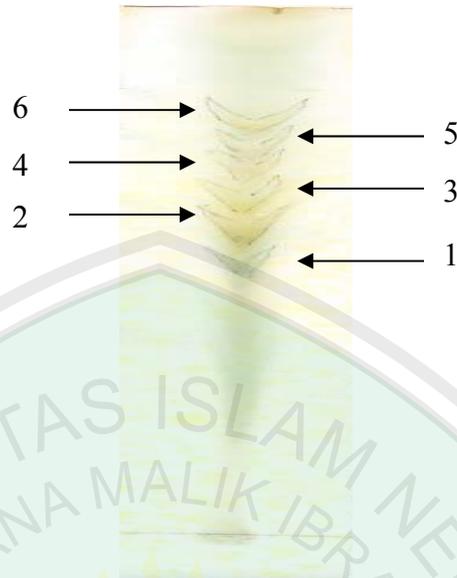
Berdasarkan hasil ulangan ekstrak kasar daun dewa dideskripsikan melalui tabel berikut:

Tabel 4.1 Hasil ulangan ekstrak kasar daun dewa

No	Ulangan	Bentuk	Warna	Berat gram
1.	Ulangan I	Kristal (keadaan kering)	Hijau tua dan sedikit kecoklatan	3,5973
2.	Ulangan II	Kristal dengan sedikit pelarutnya	Hijau tua	4,0898

4.2 Uji Identifikasi Senyawa Alkaloid

Uji identifikasi senyawa alkaloid dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Penggunaan KLT bertujuan untuk mengidentifikasi senyawa yang terdapat dalam ekstrak atau menentukan jumlah komponen yang terpisah pada daun dewa. Kelebihan dari KLT dapat digunakan untuk analisis kuantitatif (Diana, 2005: 41). Kromatografi Lapis Tipis yang digunakan 20 cm x 2 cm GF₂₅₄ (Merck), plat KLT dioven pada suhu 100 °C selama 30 menit untuk menghilangkan air yang terdapat pada plat. Eluen campur metanol : diklorometan (9:1) dihomogenkan dengan penambahan 1 tetes asam asetat untuk meminimalisis



Gambar 4.1 Pola spot KLT dari ekstrak kasar daun dewa

Berdasarkan gambar 4.1 hasil KLT menunjukkan terdapat 6 spot yang dideskripsikan pada tabel berikut:

Tabel 4.2 Hasil KLT dari ekstrak kasar daun dewa

No.	Spot	Warna	Rf
1.	Pertama	Hijau tua	0,51
2.	Kedua	Hijau kekuningan	0,57
3.	Ketiga	Kuning	0,62
4.	Keempat	Coklat muda	0,69
5.	Kelima	Coklat muda	0,72
6.	Keenam	Jingga	0,77

Hasil KLT ekstrak kasar daun dewa setelah disemprot pereaksi Dragendroff diperoleh 6 spot dengan nilai Rf yang bervariasi seperti pada tabel.

4.1. Enam spot yang terbentuk diperkirakan senyawa-senyawa yang teridentifikasi pada ekstrak metanol daun dewa. Senyawa alkaloid di tunjukkan warna jingga pada plat dan nilai Rf 0,77, hal ini sesuai dengan penelitian Windono (2001)

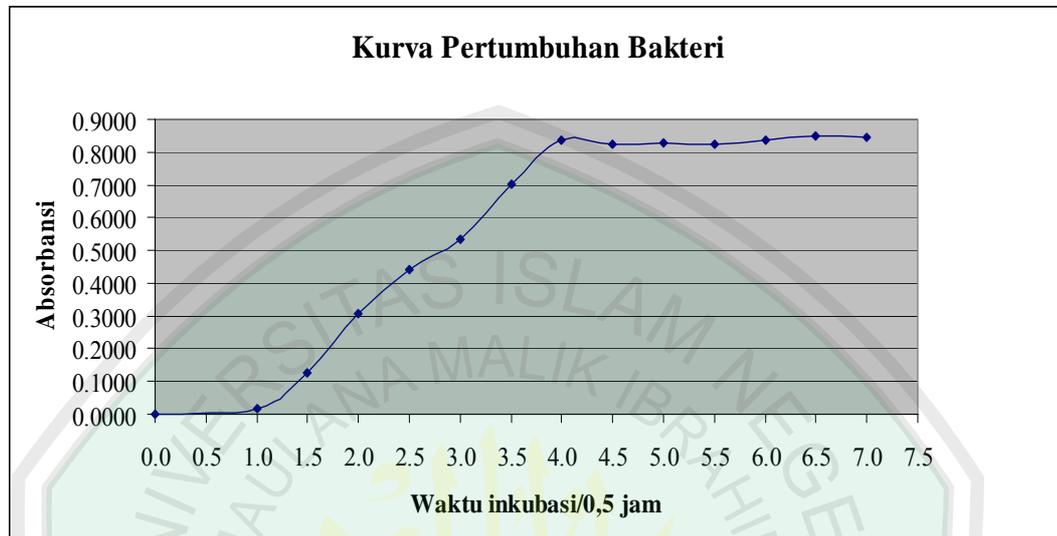
menyebutkan alkaloid yang terdapat pada daun dewa setelah uji identifikasi dengan KLT mempunyai nilai Rf berkisar $\pm 0,76$. Alkaloid yang teridentifikasi masih alkaloid secara umum dan belum diketahui jenisnya.

4.3 Pembuatan Kurva Pertumbuhan *Bacillus subtilis* dan Produksi Enzim Lipase

Enzim lipase dapat diproduksi dari beberapa mikroba antara lain mikroba *Bacillus subtilis*, mikroba ini diremajakan dengan media padat nutrisi agar yang mengandung nutrisi dan zat-zat yang diperlukan untuk pertumbuhan. Proses peremajaan untuk meregenerasi bakteri, menjaga ketersediaan nutrisi dan mencegah terjadinya perubahan kultur murninya. Pembuatan inokulum berfungsi untuk mempercepat fase adaptasi bakteri pada media cair. Pembuatan kurva pertumbuhan bakteri untuk mengetahui masa adaptasi, logaritmik dan stasioner, sehingga dapat diketahui masa panen dan diperoleh enzim lipase yang maksimal.

Kurva pertumbuhan dibuat dengan menumbuhkan bakteri *Bacillus subtilis* pada media cair (inokulum), kemudian ditumbuhkan ke media cair lagi dan diinkubasi pada suhu $30^{\circ}C$. Setiap 5 menit digoyang-goyangkan untuk mengatur aerasi dan menjaga kondisi media pertumbuhan serta mempermudah transfer nutrisi ke dalam sel (Fasya, 2004: 21). Pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis* di amati dengan mengukur nilai Optical Density (OD) media pertumbuhan pada panjang gelombang 600 nm dengan Spektrofotometer UV-Vis, setiap selang 0,5 jam diukur nilai OD-nya, karena semakin tinggi nilai OD-nya maka semakin banyak jumlah sel mikroba yang tumbuh. Nilai OD sebanding

dengan nilai absorbansinya, jadi nilai absorbansi menunjukkan jumlah total konsentrasi sel (Lorowitz, 2007: 40).



Gambar 4.2 Kurva pertumbuhan *Bacillus subtilis*

Kurva pertumbuhan *Bacillus subtilis* di atas menunjukkan pada jam ke 0 -1,5 pertumbuhan bakteri sangat lamban karena pada fase ini berada pada fase adaptasi dengan media. Pada jam 1,5- 4 merupakan fase logaritmik yaitu bakteri mengalami pembelahan sel sangat pesat sehingga pertumbuhannya mencapai maksimum. Fase stasioner terjadi pada jam ke 4,5 -7, pada fase ini pembelahan sel bakteri mulai berhenti dan mulai mengalami kematian, oleh karena itu pembuatan waktu panen dilakukan selama waktu inkubasi 3,5 jam yang merupakan fase sebelum fase stasioner untuk mendapatkan enzim yang maksimum.

Enzim lipase diproduksi dari inokulum yang dipindahkan ke media cair dan diinkubasi selama 3,5 jam. Sel bakteri yang mengandung enzim lipase dipisahkan dengan sentrifugasi dingin suhu $4^{\circ}C$. Pemisahan sel dengan enzim

lipase dilakukan pada suhu dingin karena enzim merupakan protein yang mudah mengalami denaturasi oleh panas. Penambahan buffer fosfat pH 7 untuk mempertahankan pH sehingga enzim yang diperoleh tidak mengalami denaturasi oleh pH yang terlalu tinggi atau rendah. Hasil sentrifugasi didapat dua lapisan, lapisan bawah berupa endapan berwarna putih sedangkan supernatan berupa cairan warna kuning oranye (Lampiran 7) yang merupakan ekstrak kasar enzim lipase, dari inokulum yang dikembangbiakan dalam 300 ml cair didapat 260 ml ekstrak kasar. Hasil ekstrak disimpan dalam lemari es pada suhu 4° C untuk menjaga kondisi enzim agar tidak mengalami kerusakan.

4.4 Penentuan Kondisi Optimum Enzim Lipase

Uji aktivitas enzim menggunakan metode titrasi asam basa, prinsip pengukuran substrat trigliserida dalam hal ini minyak zaitun, diemulsikan dengan gum arabik 10 % dan diberi enzim lipase yang belum diketahui keaktifannya, kemudian diinkubasi pada suhu dan pH optimum, selama inkubasi asam lemak dibebaskan. Hasil titrasi didapatkan jumlah volume (liter) persatuan waktu yang digunakan sebagai satuan dalam pengukuran aktivitas enzim. Proses pengemulsian minyak zaitun dengan gum arabik untuk mempercepat proses hidrolisis oleh enzim lipase, enzim lipase bekerja sangat lamban pada larutan lemak dalam air. Penambahan garam NaCl dan CaCl₂ meningkatkan keaktifan enzim, CaCl₂ juga membantu meningkatkan daya tahan enzim terhadap panas, buffer fosfat digunakan untuk mempertahankan pH (Winarno, 1986: 67-68).

Aktivitas enzim lipase diperoleh dari jumlah asam lemak bebas yang dibebaskan selama hidrolisis berlangsung dengan mengikuti prinsip titrasi asam basa (Hidayah, 2001):

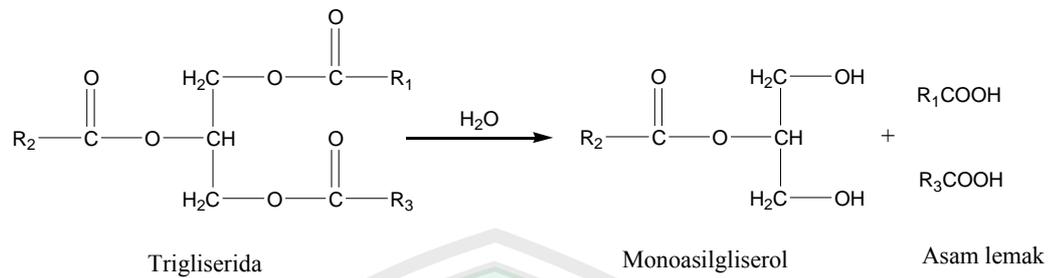


Persamaan di atas menunjukkan jumlah asam lemak bebas setara dengan jumlah NaOH yang digunakan untuk titrasi.

Aktivitas enzim lipase (μ mol/ml.menit) berbanding lurus dengan konsentrasi asam lemak yang terbentuk =

$$\frac{(V \text{ NaOH}_{\text{sampej}} - V \text{ NaOH}_{\text{Blanko}}) \times M \text{ NaOH}}{V \text{ enzim} \times t \text{ reaksi}} \times 1000$$

Proses hidrolisis enzim lipase menghasilkan satu molekul gliserol dan dua molekul asam lemak bebas. Enzim lipase yang terdapat pada *Bacillus subtilis* diduga adalah enzim lipase yang mempunyai kekhasan posisi 1 dan 3 trigliserida (menghidrolisis ikatan ester posisi 1 dan 3) karena enzim lipase ini enzim yang umum pada mikroba. Enzim lipase akan menghidrolisis ikatan ester 1 kemudian ke ikatan ester posisi 3, ikatan ester posisi 2 tidak mampu memasuki tapak aktif dari enzim lipase karena gangguan keruangan (Demam, 1997: 453). Hasil hidrolisis lemak oleh enzim lipase dapat dilihat pada lampiran 7, reaksi hidrolisis lemak (trigliserida) oleh enzim lipase:

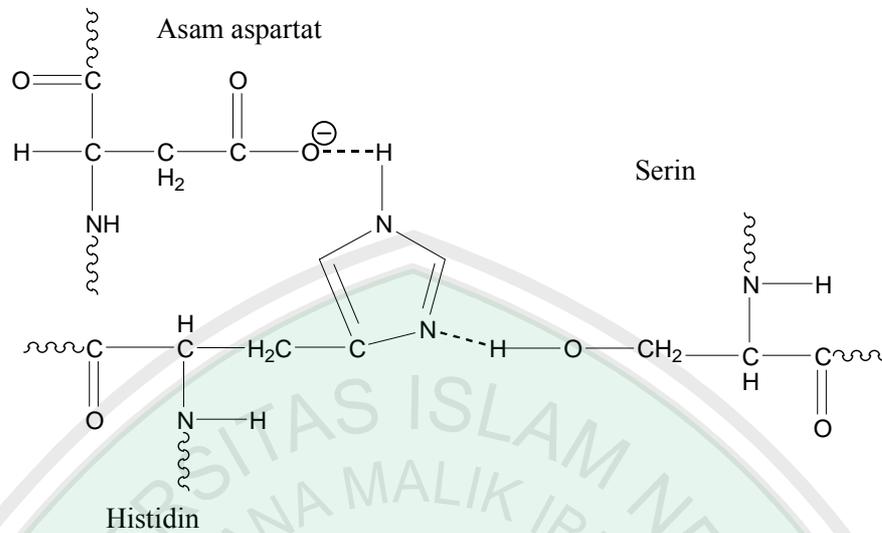


Gambar 4.3 Reaksi hidrolisis lemak oleh enzim lipase

4.4.1 Penentuan pH Optimum Enzim Lipase

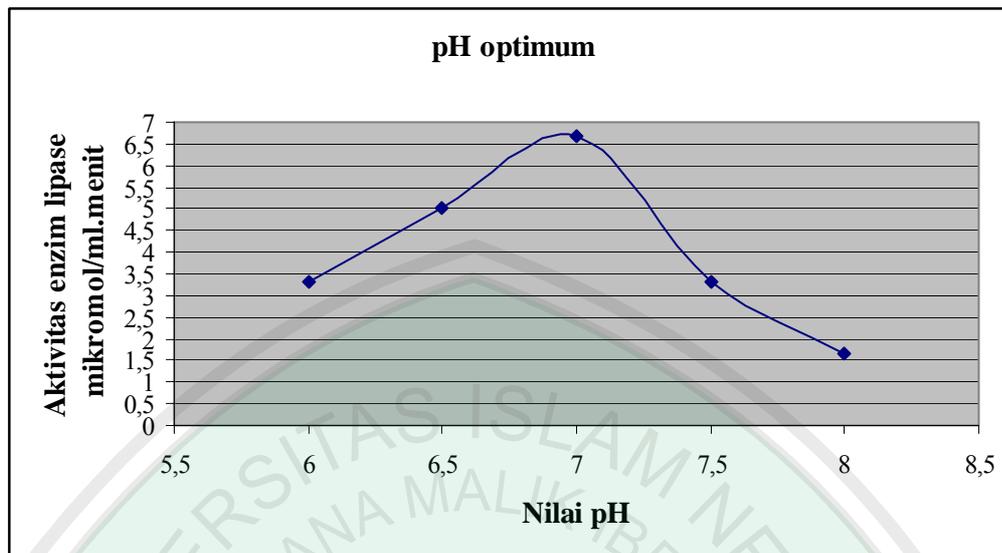
Enzim lipase seperti halnya protein memiliki gugus-gugus yang dapat mengalami ionisasi. Enzim lipase mempunyai 3 asam amino yang berperan dalam reaksi katalitiknya yaitu asam aspartat, histidin dan serin (Pouderoyen et al, 2001). Konsentrasi ion H^+ yang ada disekitar ketiga asam amino tersebut mempengaruhi keadaan ionisasinya.

pH yang tepat bila gugus R mampu mengion, dan gugus $-\text{NH}$ asam amino satu dengan gugus $-\text{COOH}$ karboksilat dari asam amino lain berikatan peptida secara kovalen, dalam reaksi katalitik enzim lipase gugus R asam amino yang berperan adalah gugus karboksilat pada asam aspartat (Wardani, 2001: 26-27).



Gambar 4.4 Struktur 3 asam amino (asam aspartat, serin dan histidin) pada enzim lipase

Gambar di atas menunjukkan bahwa gugus karboksilat asam aspartat dalam air mengion dengan melepas atom hidrogen sehingga atom oksigennya bermuatan negatif (Fessenden, 1998: 29). Ikatan hidrogen terbentuk antara atom oksigen tersebut dengan atom hidrogen yang terikat pada salah satu nitrogen dari cincin histidin. nitrogen lain pada cincin histidin akan berikatan dengan atom hidrogen pada serin (Wardani, 2001: 26-27).

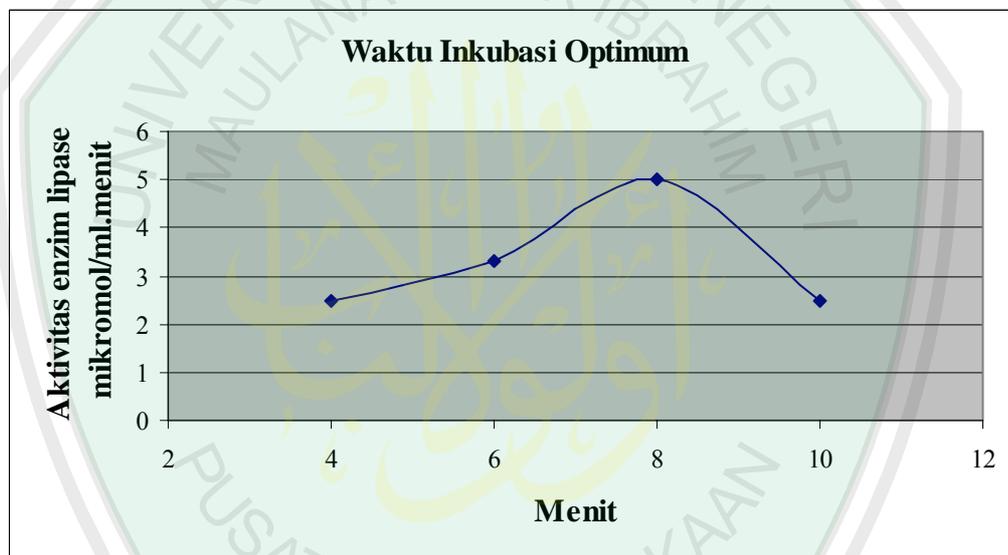


Gambar 4.5 Kurva pH optimum

Berdasarkan kurva di atas pH optimum berada di pH 7 (pH netral), pada pH optimum hanya gugus karboksilat asam aspartat yang mengion. pH dibawah pH optimum (konsentrasi H^+ lebih besar) yaitu pH 6,5 aktivitas enzim lipase $5,00 \mu \text{ mol/ml.minit}$ dan pH 6 aktivitas enzim lipase $3,33 \mu \text{ mol/ml.minit}$, gugus karboksilat dari asam aspartat sulit melepaskan atom hidrogen, maka cincin histidin akan mengion dan bermuatan positif, apabila pH di atas pH optimum yaitu pH 7,5 aktivitas enzim lipase $3,33 \mu \text{ mol/ml.minit}$ dan pH 8 aktivitas enzim lipase $1,67 \mu \text{ mol/ml.minit}$, menurut Wardani (2001: 26-27) pH di atas pH 7 selain asam aspartat yang mengion, serin ikut mengion melepaskan atom H sehingga bermuatan negatif, jadi pH yang digunakan untuk enzim lipase pada pH 7 dengan aktivitas enzim lipase $6,67 \mu \text{ mol/ml.minit}$.

4.4.2 Penentuan Waktu Inkubasi Optimum Enzim Lipase

Penentuan waktu inkubasi untuk mengetahui waktu yang tepat, agar enzim lipase mampu menghidrolisis lemak dengan sempurna. Aktivitas enzim lipase dipengaruhi waktu reaksinya, semakin lama waktu reaksi atau waktu kontak antara enzim dengan substrat maka akan semakin banyak kompleks enzim-substrat (ES) yang terbentuk sehingga produk yang dihasilkan juga semakin banyak (Wardani, 2001).



Gambar. 4.6 Kurva waktu inkubasi optimum

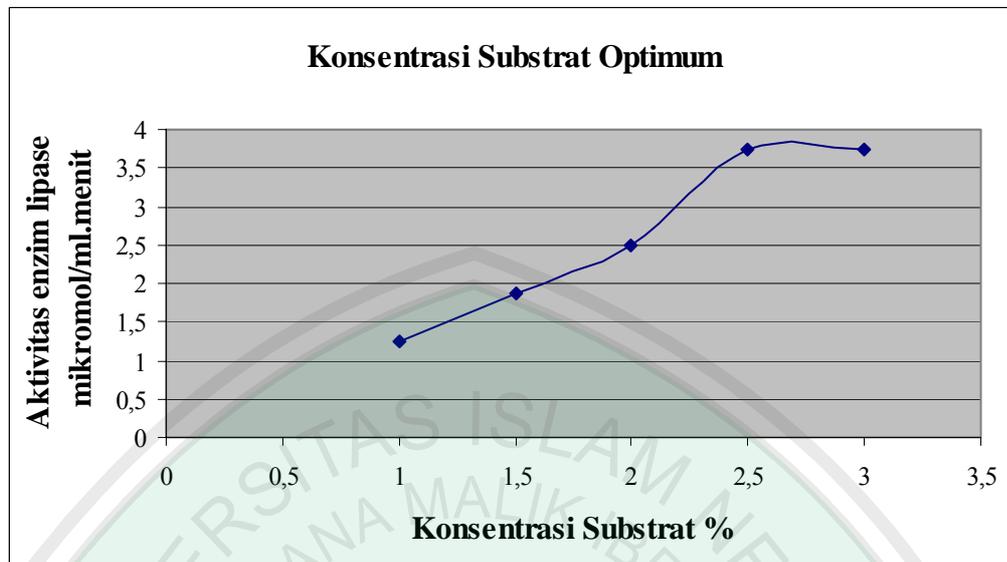
Pada menit ke-4 aktivitas enzim lipase $2,5 \mu \text{ mol/ml.menit}$ dan menit ke-6 aktivitas enzim lipase $3,33 \mu \text{ mol/ml.menit}$ dengan selisih aktivitasnya $0,83 \mu \text{ mol/ml.menit}$ tidak berbeda jauh karena ada molekul intermediet atau produk antara yaitu kompleks ES.



ES menit ke-8 lebih banyak karena waktu inkubasi yang lebih lama dari menit ke-4 dan ke-6, pada menit ke-10 dengan aktivitas enzim lipase $2,5 \mu \text{ mol/ml}$.menit terjadi penurunan aktivitasnya karena produk menghambat kerja enzim lipase. Waktu inkubasi yang digunakan untuk mengukur aktivitas enzim pada waktu menit ke-8 dengan aktivitas enzim $5,00 \mu \text{ mol/ml}$.menit, karena waktu menit ke-8 terbentuk ES yang lebih banyak dari menit yang lainnya, sehingga dengan ES yang banyak akan terbentuk produk yang lebih banyak (produk optimum).

4.4.3 Penentuan Substrat Optimum Enzim Lipase

Penentuan substrat optimum dilakukan untuk mengetahui konsentrasi substrat yang tepat, agar dapat berinteraksi dengan enzim sehingga membentuk produk yang maksimal. Bagian aktif enzim mempunyai ruangan yang tepat untuk dapat menampung substrat, bertambahnya konsentrasi substrat akan menaikkan aktivitas enzim, namun pada konsentrasi tertentu tidak terjadi kenaikan aktivitas enzim karena enzim sudah jenuh dengan substrat.



Gambar 4.7 Kurva konsentrasi substrat optimum

Pada konsentrasi substrat rendah yaitu 1 % dengan aktivitas enzim lipase $1,25 \mu \text{ mol/ml.menit}$; 1,5 % aktivitas enzim lipase $1,875 \mu \text{ mol/ml.menit}$ dan 2 % aktivitas enzim lipase $2,5 \mu \text{ mol/ml.menit}$, bagian aktif enzim hanya mampu menampung substrat sedikit sehingga aktivitas enzim rendah, jadi aktivitas enzim terlihat berbanding lurus dengan kadar substratnya. Pada konsentrasi 2,5 % substrat dapat berinteraksi dengan enzim di bagian sisi aktifnya secara maksimal karena konsentrasi substrat bereaksi secara tepat dengan enzimnya. Pada konsentrasi 3 % semua bagian aktif enzim telah dipenuhi oleh substrat atau jenuh oleh substratnya sehingga bertambahnya konsentrasi substrat tidak mempengaruhi aktivitas enzim. Menurut Iswari (2006: 49-50) semakin tinggi kadar substrat aktivitas enzim semakin berkurang, pada konsentrasi yang tinggi aktivitas enzim lipase dibatasi oleh waktu yang dibutuhkan untuk

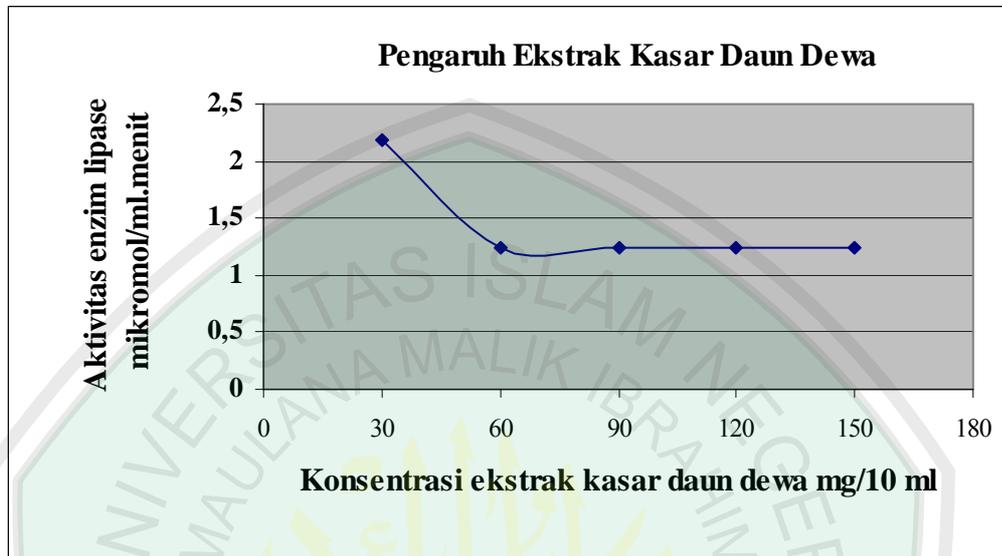
mengubah kompleks ES menjadi produk (P) dan jumlah enzim bebas (E) mempunyai tingkat reaksi menyerupai tingkat 0, karena reaksi sudah tidak bergantung lagi pada kadar substrat dan pada saat ini enzim dalam keadaan jenuh dengan substrat. Konsentrasi substrat optimum adalah 2,5 % dengan aktivitas enzim lipase $3,75 \mu \text{ mol/ml.menit}$, karena pada konsentrasi ini substrat dapat berinteraksi secara tepat dengan enzim.

4.5 Pengaruh Ekstrak Kasar Daun Dewa Terhadap Aktivitas Enzim Lipase

Uji pengaruh ekstrak kasar daun dewa terhadap aktivitas enzim lipase bertujuan untuk mengetahui konsentrasi optimum ekstrak kasar terhadap penghambatan aktivitas enzim lipase. Berdasarkan hasil KLT munculnya spot berwarna jingga pada Rf 0,77 membuktikan bahwa di dalam ekstrak metanol daun dewa terdapat senyawa alkaloid, hal ini sesuai dengan penelitian Windono, dkk (2000) menyebutkan alkaloid yang terdapat pada daun dewa setelah uji identifikasi dengan KLT terdapat 5 spot yang berwarna jingga dan mempunyai nilai Rf berkisar $\pm 0,76$.

Pada penelitian ini belum diketahui jenis alkaloidnya, sehingga diduga alkaloid yang terdapat pada daun dewa, yaitu alkaloid senecionina atau pirolizidin. Berdasarkan hasil penelitian Yuan et al (1990) menunjukkan bahwa terdapat enam jenis alkaloid senecionina atau pirolizidin dan penelitian Windono dkk (2001: 87) terdapat lima jenis alkaloid pirolizidin dari daun dewa. Alkaloid yang mengandung unsur nitrogen mempunyai struktur kimia yang mirip dengan orlistat, (obat antiobesitas sintesis yang bekerja menghambat aktivitas enzim

lipase) sehingga dimungkinkan memiliki efek menghambat aktivitas enzim lipase (Rahardjo dkk, 2005: 51).



Gambar 4.9 Kurva pengaruh ekstrak kasar daun dewa terhadap aktivitas enzim lipase

Grafik di atas menunjukkan bahwa ekstrak kasar daun dewa mampu menghambat aktivitas enzim lipase. Aktivitas enzim lipase dalam menghidrolisis lemak tanpa penambahan inhibitor adalah aktivitas $3,75 \mu \text{mol/ml.menit}$, kemudian setelah penambahan inhibitor dengan konsentrasi ekstrak kasar daun dewa 30 mg/10 ml (aq) aktivitas enzim lipase mengalami penurunan menjadi $2,1875 \mu \text{mol/ml.menit}$. Penambahan konsentrasi ekstrak kasar daun dewa 60 mg/10 ml (aq) sampai $150 \text{ mg/10 ml (aq)}$ mempunyai aktivitas enzim lipase yang sama yaitu $1,25 \mu \text{mol/ml.menit}$. Hal ini menunjukkan penambahan nilai konsentrasi tidak mempengaruhi inhibitor untuk melakukan proses penghambatan aktivitas enzim lipase lagi, jadi nilai konsentrasi penghambatan ekstrak kasar daun

dewa optimum pada konsentrasi 60 mg/10 ml larutan dengan nilai aktivitas enzim lipase 1,25 μ mol/ml.menit.

4.6 Tinjauan Agama Islam pada Daun Dewa sebagai Tumbuhan Herbal

Hasil penelitian yang telah dilakukan menunjukkan bahwa ekstrak daun dewa mampu menghambat aktivitas enzim lipase, hal ini menunjukkan bahwa segala apa yang tercipta ada manfaatnya dan itu semua merupakan tanda-tanda kekuasaan Allah. Sebagaimana pada ayat-ayat Allah Q.S Adz-Dzariyaat [51] ayat 20-21 yang berbunyi:

وَفِي الْأَرْضِ آيَاتٌ لِّلْمُوقِنِينَ ﴿٢٠﴾ وَفِي أَنفُسِكُمْ أَفَلَا تُبْصِرُونَ ﴿٢١﴾

Artinya: Dan di bumi itu terdapat tanda-tanda (kekuasaan Allah) bagi orang-orang yang yakin. Dan (juga) pada dirimu sendiri. Maka Apakah kamu tidak memperhatikan?

Kitab al-Qur'an yang penuh dengan ilmu pengetahuan telah menjelaskan dalam surat At-Tin ayat 1, Surat An-Nur ayat 35 mengenai beberapa jenis tumbuhan yang mempunyai kelebihan dan berkhasiat sebagai penawar penyakit. Beberapa hadits Nabi SAW juga menjelaskan bahwa tumbuh-tumbuhan seperti *At-Tin* dan Zaitun maupun *Habbah As-Sauda* mempunyai manfaat untuk pengobatan. Buah *At-Tin* digunakan untuk pengobatan penyakit bawahir, bengkak-bengkak di badan, pohon zaitun untuk penawar racun, minyak zaitun untuk menghaluskan kulit, biji *Habbah As-Sauda* untuk melancarkan pengeluaran darah haid, air besar dan kencing. Penjelasan di atas memberi gambaran bahwa

tumbuh-tumbuhan dapat digunakan sebagai obat sebagaimana penjelasan dari al-Qur'an dan hadits.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa daun dewa mempunyai manfaat sebagai inhibitor aktivitas enzim lipase, meski tidak tersurat dan tersirat dalam al-Qur'an maupun Hadits bahwa daun dewa dapat dimanfaatkan sebagai pengobatan, maka pemanfaatannya diqiyaskan dengan tumbuh-tumbuhan yang dimanfaatkan sebagai pengobatan sebagaimana disebutkan dalam ayat al-Qur'an maupun Hadist.

Tinjauan syari'at Islam pada daun dewa mengikuti tumbuhan mahkota dewa karena mempunyai kemiripan kandungan persenyawaannya. Kandungan senyawa pada daun dewa antara lain: saponin, senesefilin, senesifillinin, minyak atsiri, flavonoid, alkaloid dan tanin (Wijayakusuma, 2006). Berdasarkan kandungan dari daun dewa tersebut belum ada kajian yang jelas mengenai kaedah hukum Islamnya, namun berdasarkan kaidah hukum Islam di dalam ushul fiqh menurut madzab Syafi'i yaitu (Bisri, 1977: 11):

الأصلُ في الأشياءِ الإباحةُ حتَّى يدلَّ الدليلُ على التحريم

Artinya: “ Pada dasarnya segala sesuatu dan perbuatan adalah mubah, kecuali ada dalil yang menunjukkan keharamannya”,

Menurut kaidah hukum islam di atas, maka dapat dinilai dari segi zat daun dewa hukumnya boleh digunakan sebagai obat karena kandungan persenyawaan kimia daun dewa tidak ada satupun yang diharamkan.

Penggunaan daun dewa dianjurkan kurang lebih 14-15 lembar dan tidak boleh berlebihan karena akan memunculkan ketoksikannya

(Suharmiati, 2006). Segala sesuatu yang dilakukan dengan berlebihan akan menimbulkan efek yang tidak baik karena Allah telah menjelaskan dalam surat Al-An'am [06] ayat 141 yang berbunyi (Ashidhiqi, 1997):

﴿ وَهُوَ الَّذِي أَنْشَأَ جَنَّاتٍ مَّعْرُوشَاتٍ وَغَيْرَ مَعْرُوشَاتٍ وَالنَّخْلَ وَالزَّرْعَ مُخْتَلِفًا أُكْلُهُ
وَالزَّيْتُونَ وَالرُّمَانَ مُتَشَابِهًا وَغَيْرَ مُتَشَابِهٍ كُلُوا مِنْ ثَمَرِهِ إِذَا أَثْمَرَ وَءَاتُوا حَقَّهُ يَوْمَ
حَصَادِهِ وَلَا تُسْرِفُوا إِنَّهُ لَا يُحِبُّ الْمُسْرِفِينَ ﴿١٤١﴾

Artinya: “Dan Dialah yang menjadikan kebun-kebon yang berjunjung dan yang tidak berjunjung, pohon korma, tanam-tanaman yang bermacam-macam buahnya, zaitun dan delima yang serupa (bentuk dan warnanya) dan tidak sama (rasanya). makanlah dari buahnya (yang bermacam-macam itu) bila dia berbuah, dan tunaikanlah haknya di hari memetik hasilnya (dengan disedekahkan kepada fakir miskin); dan janganlah kamu berlebih-lebihan. Sesungguhnya Allah tidak menyukai orang yang berlebih-lebihan” (QS.Al-An'am:141).

Ayat di atas menerangkan bahwa Allah menganjurkan pada manusia agar mengambil manfaat dari tumbuh-tumbuhan dan buah-buahan namun tidak memakainya secara berlebihan karena penggunaan yang berlebih akan menimbulkan efek yang tidak baik dan Allah tidak menyukai orang-orang yang berlebih-lebihan.

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

1. Hasil ekstrak kasar daun dewa dari uji identifikasi dengan KLT menunjukkan bahwa di daun dewa terdapat alkaloid dengan munculnya spot berwarna jingga setelah disemprot pereaksi Dragendroff dengan nilai Rf 0,77
2. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pH optimum aktivitas enzim lipase pada pH 7 yaitu 6,67 mikromol/ml.menit dan waktu inkubasi optimum aktivitas enzim lipase pada waktu 8 menit yaitu 5,00 mikromol/ml.menit sedangkan konsentrasi substrat optimum aktivitas enzim lipase pada konsentrasi 2,5 % yaitu 3,57 mikromol/ml.menit
3. Konsentrasi penghambatan optimum ekstrak kasar Daun Dewa pada konsentrasi 60 mg/10 ml dengan aktivitas enzim lipase 1,25 mikromol/ml.menit.

5.2 Saran

1. Perlu dilakukan metode lain dalam proses pengukuran aktivitas enzim lipase (selain proses titrasi) seperti metode gel silika, metode manometrik Warburg dan metode Stat-Potentiometrik
2. Perlu dilakukan isolasi senyawa Alkaloid dan diinteraksikan langsung dengan enzim lipase

DAFTAR PUSTAKA

- Afriardhini, 2004, *Isolasi dan Identifikasi senyawa Alkaloid dari ubur-ubur Bougainvillia Sp.*, Malang: Universitas Brawijaya, hal 12
- Anonymous, 2002, *Cara Kerja Orlistat*, <http://www.tempo.co.id/medika/arsip/122002/art-3.htm>, diakses pada tanggal 10 maret 2007
- Anonymous, 2007^a, *Alkaloid Extraction* <http://nepenthes.lycaeam.org/extraction/extract1.html>, diakses pada tanggal 17 Juni 2007, hal 1
- _____, 2007^b, *Berberin*, <http://en.wikipedia.org/wiki/Berberine>, diakses pada tanggal 12 Juni 2007, hal 1
- _____, 2007^c, *Fitokimia Herbak Konyal*, http://www.geocities.com/bert_tons/fitokimia.htm, diakses pada tanggal 26 April 2007
- Ashshiddiqi, T.M.H, 1997, *Al qur'an Terjemah Bahasa Indonesia*, Madinah: Mujamma' Malik fad Li Thiba'at Al-Mush haf Asysyarif
- Bhat, S.V., Nagasampagi, B.A. dan Sivakumar, M., 2006, *Chemistry of Natural Product*, New Delhi: Narosa Publishing House, hal 237
- Chaturvedi, M.M., Kumar, A., Darnay, B.G., Chainy, G.B.N., Agarwal, S. dan Aggarwal, B.B., 1997, *Sanguinarine (Pseudochelerythine) Is A Potent Inhibitor Of Nf-K_b Activator I_k-B_a Phosphorylation And Degradation* (Abstract) Journal biochemistry vol.272 number 48 issue of November 28 1997, hal 1
- Dalimartha, S., 2006, *36 Resep Tumbuhan Obat untuk Menurunkan Kolesterol*, Jakarta: Penebar Swadaya, hal 5, 12-13
- Daud, H., 2007, *Agama (ilmu primer) Merupakan Lampu Penerangan Buat akal Manusia, dengan Petunjuk Agama Akal Memproduksi Ilmu Sekunder (Sains dan Teknologi)*, <http://www.prn2.usm.my/mainsite/bulletin/kosmik/1996/kosmik4.html> diakses pada tanggal 05 Oktober 2007
- Demam, J.M., 19997, *Kimia pangan edisi kedua*, Bandung: ITB, hal 450
- Dewi, D.C., 2005, *Pemisahan Kimia*, Malang: Universitas Islam Negeri Malang, hal 41
- Fasya, A.G., 2004, *Isolasi, Pemurnian Karakterisasi Enzim Dehalogenase 4-klorofenol dari Pseudomonas putida*, Malang: Universitas Brawijaya

- Gultom, T., 2001, *Pengantar Biokimia Struktur dan Fungsi*, Yogyakarta: FMIPA-UNY, hal 88
- Harborne, J.B., 1996, *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*, Bandung : penenrbit ITB, hal 235
- Hariana, A., 2005, *Tumbuhan Obat dan Khasiatnya seri 2*, Jakarta: Penebar Swadaya
- Hesse, M., 1981, *Alkaloid Chemistry*, New York: John Wiley & Sons, Inc, hal 2
- Hidayah, H., 2001, *Studi Pengaruh Penambahan Ion Mg^{2+} Terhadap Aktivitas Enzim Lipase Dari Bacillus Megaterium*, Malang: Universitas Brawijaya, hal 24-28, 37-38
- Ibarra, D., 2007, *Overview and Structure* <http://www.rsc.org/ej/NP/2000/a904849i>, diakses pada tanggal 17 Agustus 2007, hal 6
- Imani, A.K.F, 2004, *Tafsir Nurul Quran*, Jakarta: Nurul Huda, hal 252-253
- Lania, S., 2005, *Mahkota Dewa sebagai Obat Ditinjau dari Kedokteran dan Islam*, Jakarta: Medical Faculty of Universitas Yarsi, hal 7-8
- Lorowitz, W.H., 2007, *Micribiological Procedures*, <http://faculty.weber.edu/wlorowitz/3053/man%20f06.pdf>, diakses pada tanggal 28 November 2007
- Melles dan Ketut, D., 2006, *Efek Antimitosis Fraksi Alkaloid Achyranthes Asperalinn pada Pembelahan Sel Embrio (Abstrak)*. <http://adln.lib.unair.ac.id/90.php?id=jiptunair-gdi-33-2006-melesdewak.2799&node=251&start11&PHPSESSID=26b9fk73f4f4e8e33426589>, diakses pada tanggal 17 Juni 2007, hal 1
- Munir, N., 1988, *Kimia dan Lingkungan*, Padang: Universitas Andalas Padang, hal 47
- Poedjiadi, A., 1994, *Dasar-Dasar Biokimia*, Jakarta: UI-Press, hal 158-170, 243
- Pouderoyen, V.G., Eggert, T., Jaeger, K.E. dan Dijkstra, B.W., 2001, *The Crystal Structure Of Bacillus subtilis Lipase: A Minimal α/β Hydrolase Fold Enzyme*, journal of J.M.B. (2001) 309, 215-226
- Qardhawi, Y., 1998, *Sunnah Rasul Sumber Ilmu Pengetahuan dan Peradaban*, Jakarta: Gema Insani Press, hal 29, 308-309

- Quthb, S., 2001, *Tafsir Fi Zhilalil Qur'an*, Jakarta: Gema Insani Press, hal 244-246
- Rahardjo, S.S., Ngatijan dan Pramono, S., 2005, *Influen Of Etanol Extract Of Jati Belanda Leaves (Guazuma Ulmifolia Lamk) On Lipase Enzym Activity Of Rattus Norvegicus Serum*, Yogyakarta: INOVASI Vol.4/XVII/Agustus 2005, hal 48-49
- Ratledge, Colin., 1994, *Biochemistry of Microbial Degradation*, London: Kluwer Academic Publisher, hal 109
- Robinson, T., 1995, *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*, Bandung: penerbit ITB, hal 283, 285
- Ruiz, C., Falcocchio, S., Xoxi, L., Nicolosi, G., Pastor, F.I.J., Diaz, P. dan Saso, L., 2006, *Inhibition Of Candida Rugosa Lipase By Saponin, Flavonoid And Alkaloids* (Abstract and Chapter 4). Journal Of Molecular Catalysis B: Enzymatic Vol.40 issue 3-4 1 June 2006. Page 138-143 [http://www.tesisenxarxa.net/TESIS/UB/AVAILABLE/TDX/0426106094306//.08-CRR.part 8 Chapter 4.pdf](http://www.tesisenxarxa.net/TESIS/UB/AVAILABLE/TDX/0426106094306//.08-CRR.part%208%20Chapter%204.pdf). diakses pada tanggal 10 juni 2007, hal 371
- Sastrohamidjojo, H., 1996, *Sintesis Bahan Alam*, Yogyakarta: Gajah Mada University press, hal 201, 208-210, 212
- Shihab, M.Q., 2002, *Tafsir Al-Misbah Pesan, Kesan dan keserasian Al-Quran*, Jakarta: Lentera Hati
- Suharmati dan Maryani, H., 2006, *Khasiat dan Manfaat Daun Dewa dan Sambung Nyawa*, Jakarta: Agromedia Pustaka, hal 10, 11, 15
- Suastini, D.K.N., 2000, *Isolasi dan Identifikasi Senyawa Alkaloid X₃, X₄, X₅ dari Daun Dewa*, Surabaya: Fakultas Farmasi UBAYA
- Vogel, 1990, *Buku Teks Analisis Anorganik Kualitatif Makro dan Semimikro Bagian I*, Jakarta: PT. Kalman Media Pusaka, hal 229
- Wardani, A., 2001, *Studi Pengaruh Penambahan Ion Ca²⁺ Terhadap Aktivitas Enzim Lipase Dari Bacillus Megaterium*, Malang: Universitas Brawijaya
- Wijayakusuma, H., 2006, *Atasi Kanker Dengan Tanaman Obat*, Jakarta: Puspa Swara, hal 42
- Windono, T., Susana, E., Suastini, D.K.N. dan Kardono, L., 2001. *Isolasi Senyawa Alkaloid Prolizidin dari Daun Dewa (Gynura Pseudo-china*

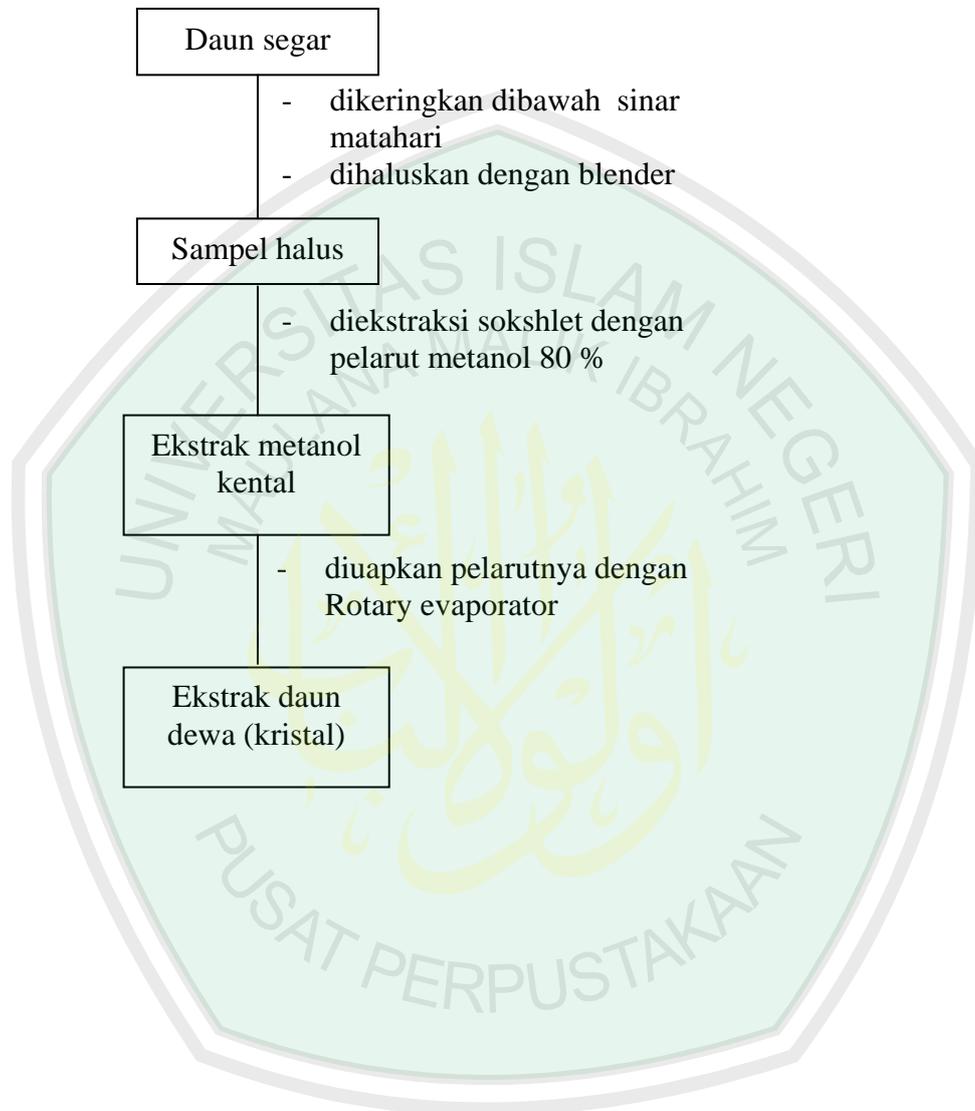
(L)DC), Surabaya: ARTOCARPUS Vol.1/Nomor 2/September 2001, hal 87

Yuan, S.Q. Gu, G.M. dan Wei, T.T., 1990, *Studies on the alkaloid of Gnura segetum (Lour)Merr* (Abstract), Yao Xue Xue Bao. 1990;25(3):191-7, Beijing: Academy of Military Medical Sciences, <http://commons.wikimedia.org/wiki/Alkaloid>, diakses pada tanggal 12 Maret 2007

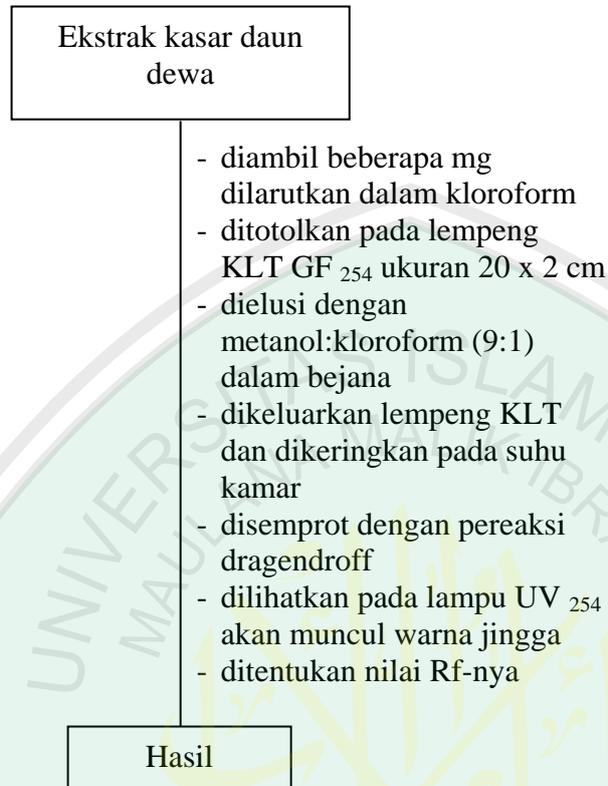


Lampiran 1. Skema Kerja Prosedur Penelitian

1. Proses Preparasi dan Ekstraksi

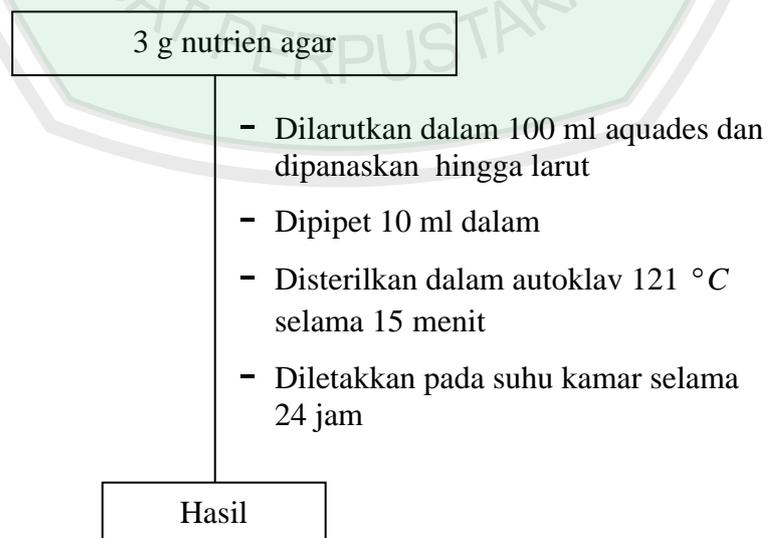


2. Identifikasi Alkaloid

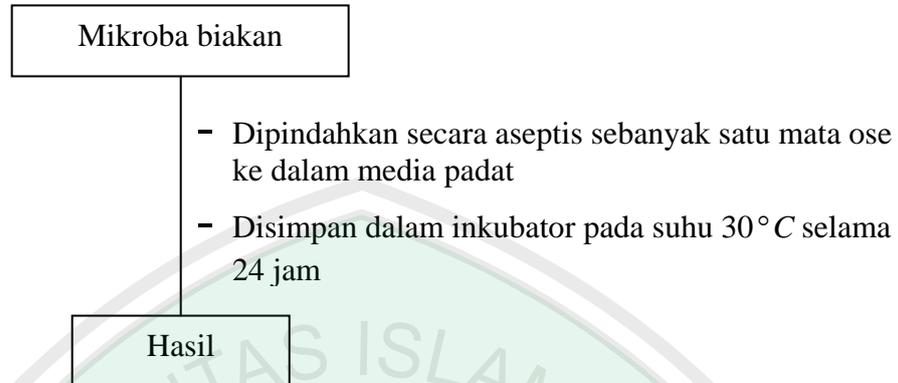


3. Penyiapan Enzim Lipase

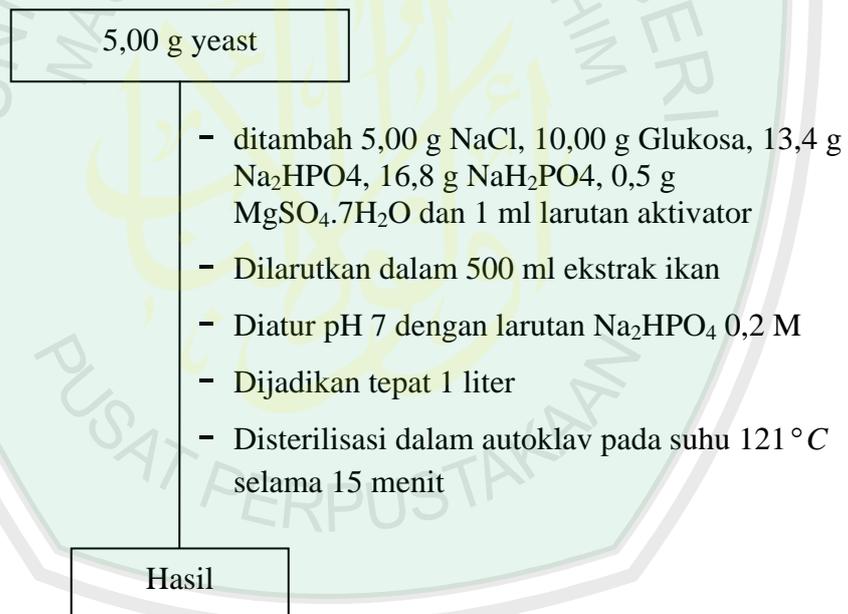
1) Pembuatan Media Padat



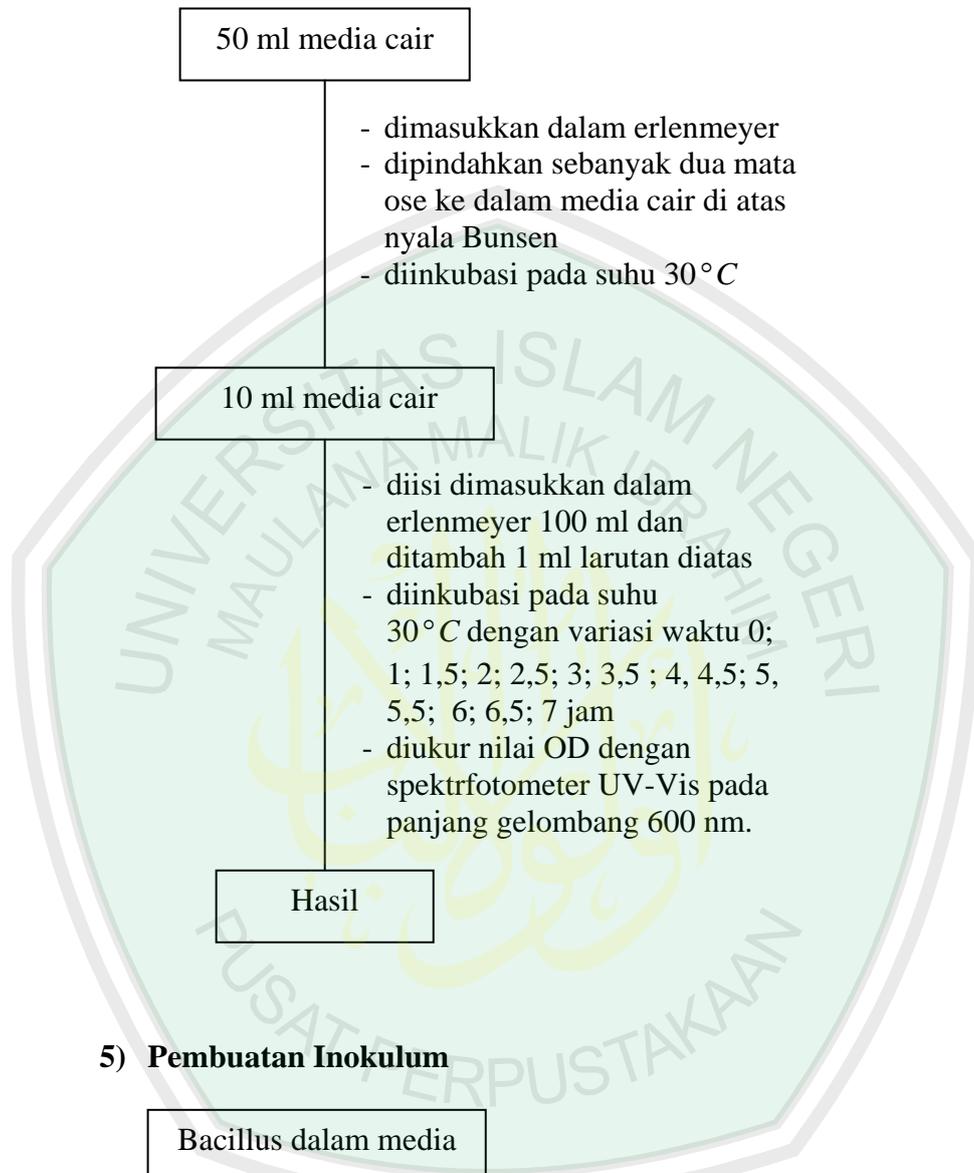
2) Penanaman Biakan Murni



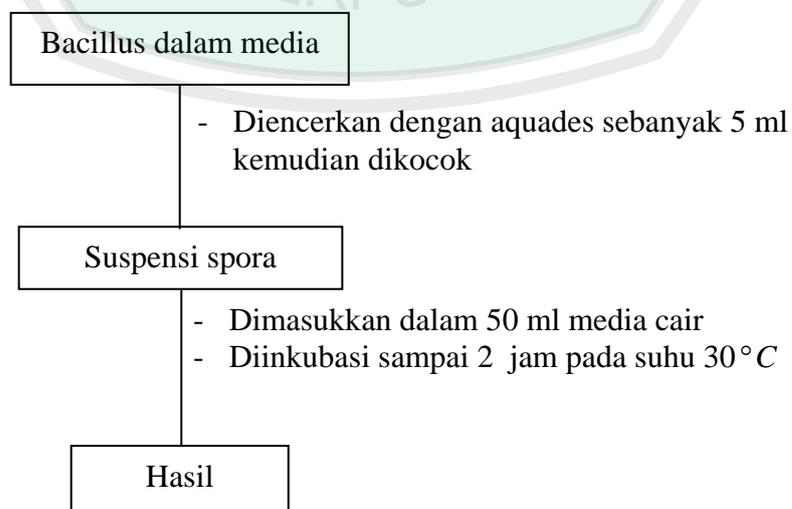
3) Pembuatan Media untuk Produksi Enzim Lipase



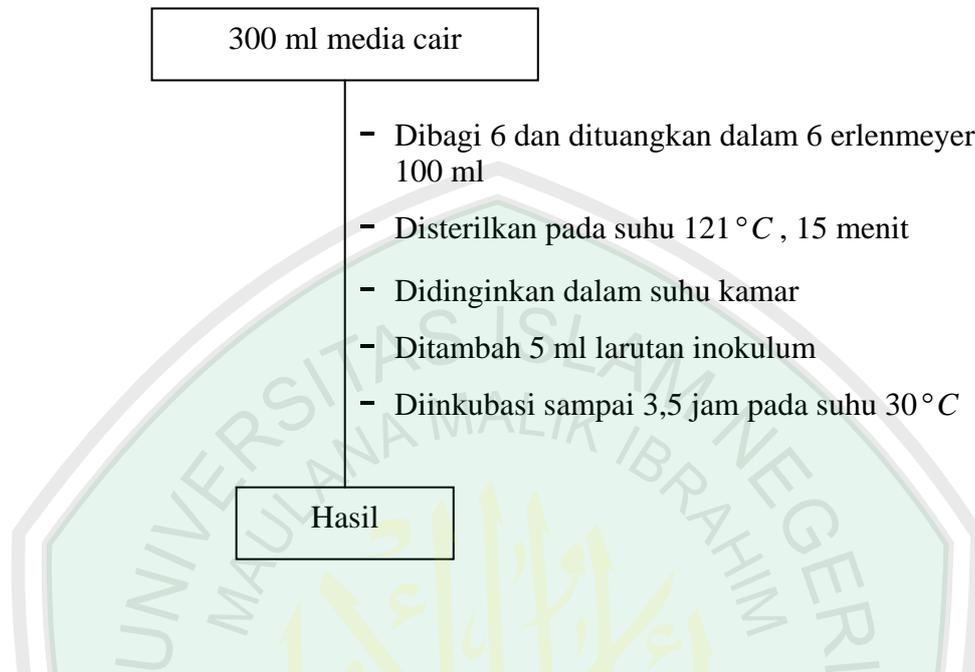
4) Pembuatan Kurva Pertumbuhan



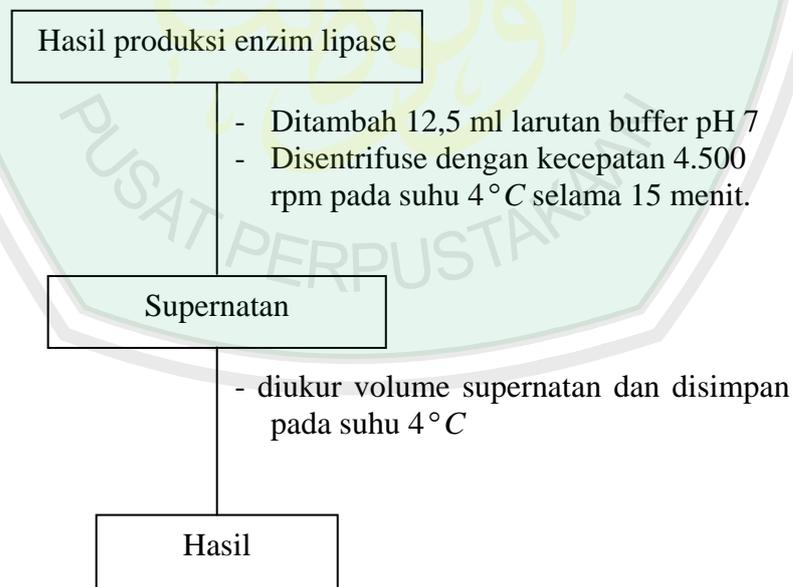
5) Pembuatan Inokulum



6) Produksi Enzim Lipase

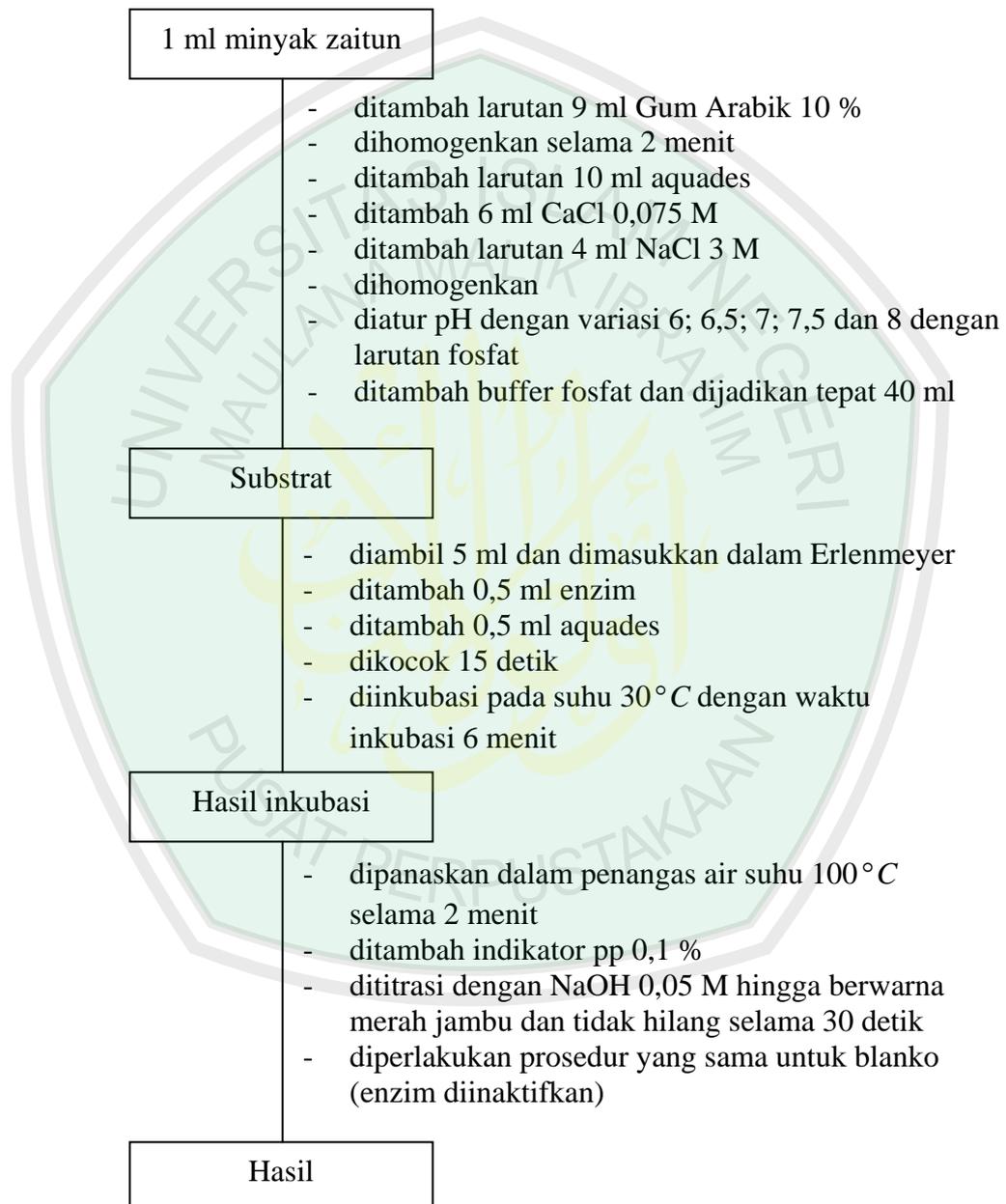


7) Ekstrak Kasar Enzim Lipase

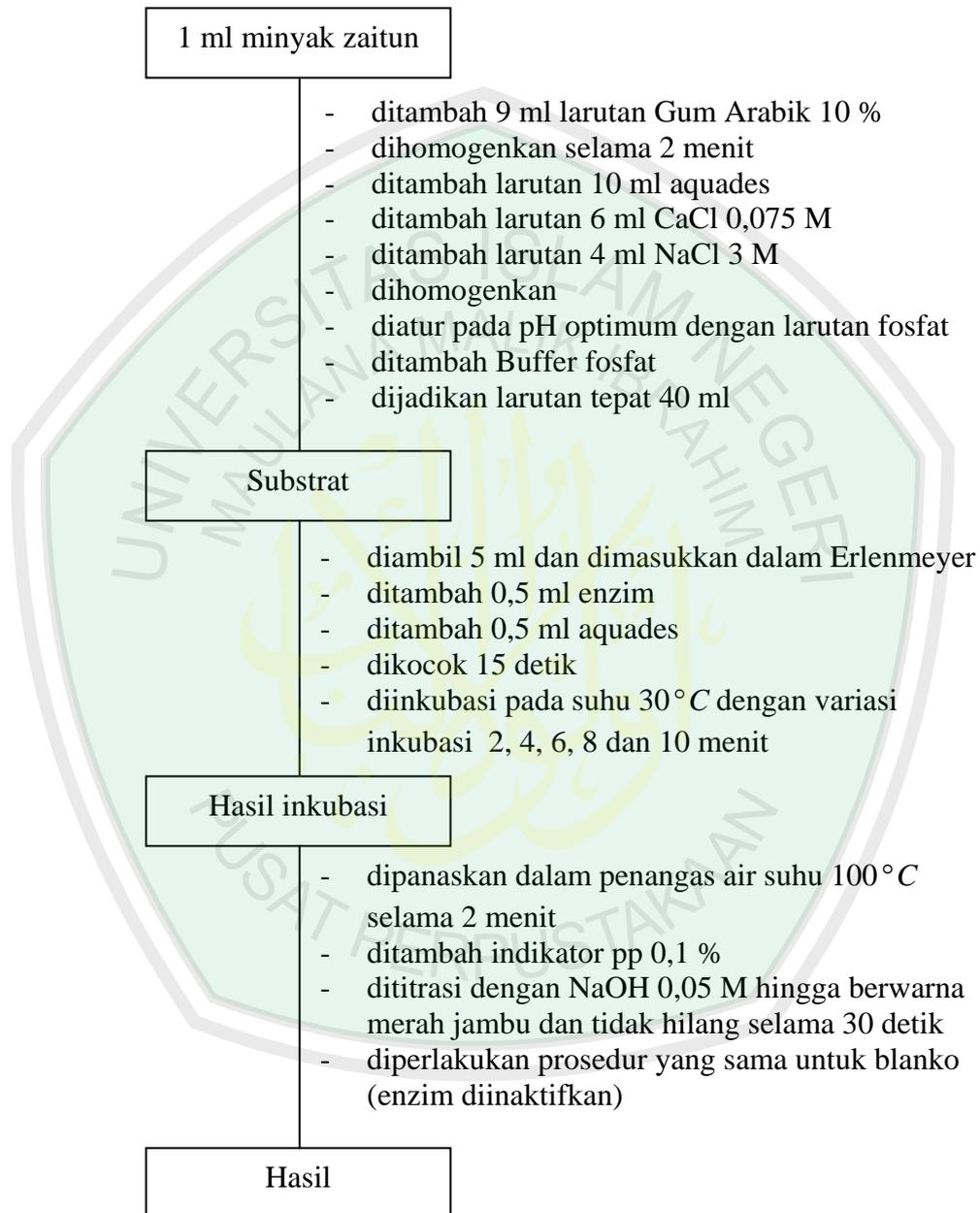


4. Penentuan Kondisi Optimum Aktivitas Enzim Lipase

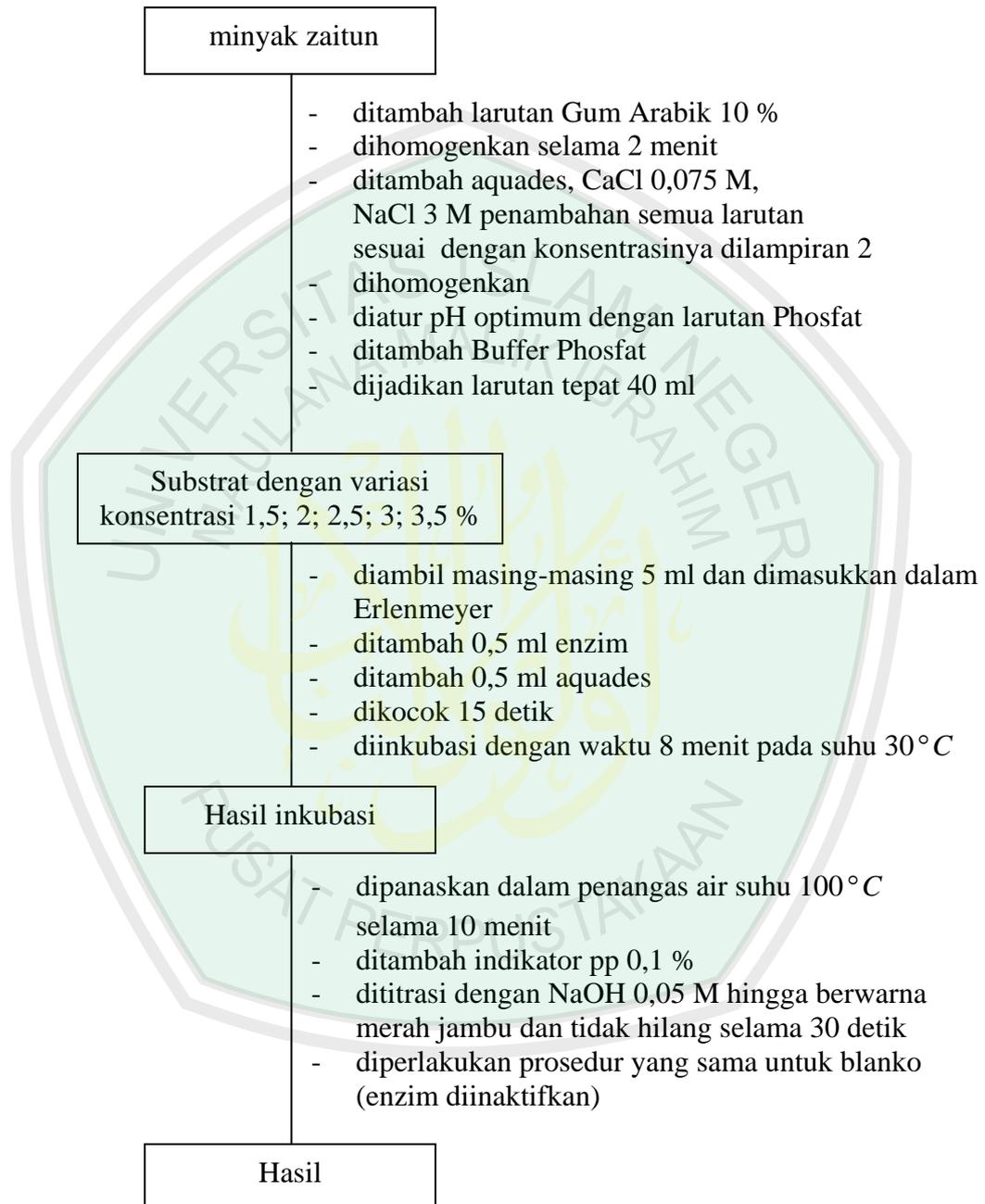
1). Penentuan pH Optimum Aktivitas Enzim Lipase



2). Penentuan Waktu Inkubasi Optimum Aktivitas Enzim Lipase



3). Penentuan Konsentrasi Substrat Optimum Aktivitas Enzim Lipase



5. Uji Pengaruh Ekstrak Kasar Daun Dewa Terhadap Aktivitas Enzim Lipase

Konsentrasi Substrat optimum (2,5 %)

- diambil 5 ml dan dimasukkan dalam Erlenmeyer
- ditambah enzim 0,5 ml
- ditambah 0,5 ml ekstrak kasar daun dewa dengan variasi konsentrasi 30, 60, 90, 120, 150 mg/10ml larutan
- ditambah aquades 0,5 ml
- dikocok 15 detik
- diinkubasi selama 8 menit pada suhu 30°C

Hasil inkubasi

- dipanaskan dalam penangas air suhu 100°C selama 2 menit
- ditambah indikator pp 0,1 %
- dititrasi dengan NaOH 0,05 M hingga berwarna merah jambu dan tidak hilang selama 30 detik
- diperlakukan prosedur yang sama untuk blanko (enzim diinaktifkan)

Hasil

Lampiran 2. Pembuatan Reagen dan Bahan

1. Reagen Dragendroff

Larutan yang mengandung 0,6 gr Bismut sub nitrat ($\text{Bi}(\text{NO}_3)_3$) dilarutkan dalam 2 ml HCl dan 10 ml H_2O dengan larutan yang mengandung 6 gr KI dalam 10 ml H_2O , ditambah 22 ml larutan HCl (7 ml dalam 15 ml H_2O). Kedua larutan dicampur dengan air 400 ml.

2. Larutan NaOH 0,05 M

$$\text{Gram NaOH} = M \times V \times M_r$$

$$= 0,05 \times 1 \text{ liter} \times 40$$

$$= 2 \text{ g}$$

2 g NaOH dilarutkan dalam 20 ml aquades lalu dipindahkan dalam labu takar 100 ml, kemudian ditambah aquades sampai tanda batas.

3. Pelarut Metanol (CH_3OH) 80 %

$$M_1 V_1 = M_2 V_2$$

$$99 \% \cdot V_1 = 80 \% \cdot 100 \text{ ml}$$

$$V_1 = \frac{80 \% \cdot 100 \text{ ml}}{99 \%}$$

$$V_1 = 80,81 \text{ ml}$$

Larutan stok 80,81 ml dimasukkan dalam labu takar 100 ml, kemudian ditambah aquades sampai tanda batas

4. Larutan NaCl 3 M

$$\text{Gram NaCl} = 3 \times 0,1 \text{ liter} \times 57,5$$

$$= 17,25 \text{ g}$$

17,25 gr NaCl dilarutkan dalam 20 ml aquades lalu dipindahkan dalam labu takar 100 ml, ditambah aquades sampai tanda batas.

5. Larutan Fosfat (Na_2HPO_4) 0,2 M

$$\begin{aligned}\text{Gram Na}_2\text{HPO}_4 &= 0,2 \times 0,1 \text{ liter} \times 142 \\ &= 2,84\end{aligned}$$

Ditimbang 2,84 gr Na_2HPO_4 dilarutkan dalam aquades dan diencerkan dalam labu ukur 100 ml sampai tanda batas.

6. Larutan Gum Arabik 10 %

Ditimbang 10 gr Gum Arabik dan diencerkan dengan aquades dalam labu takar 100 ml sampai tanda batas.

7. Larutan CaCl_2 0,075 M

$$\begin{aligned}\text{Gram CaCl}_2 &= 0,075 \text{ M} \times 0,1 \text{ liter} \times 75,5 \\ &= 0,567 \text{ g}\end{aligned}$$

Ditimbang 0,567 g CaCl_2 dilarutkan dalam aquades dan diencerkan dalam labu ukur 100 ml sampai tanda batas.

8. Pembuatan Konsentrasi Substrat dengan Jumlah Volume Total 40 ml.

No	[min yak]	[Gum arabik]	[CaCl ₂]	[NaCl]	[Substrat]	(%)
1.	0,6 ml	5,4 ml	3,6 ml	2,4 ml	0,6 ml/40 ml = 0,015	1,5 %
2.	0,8 ml	7,2 ml	4,8 ml	3,2 ml	0,8 ml/40 ml = 0,02	2 %
3.	1 ml	9 ml	6 ml	4 ml	1 ml/40 ml = 0,025	2,5 %
4.	1,2 ml	10,8 ml	7,2 ml	4,8 ml	1,2 ml/40 ml = 0,03	3 %
5.	1,4 ml	12,6 ml	8,4 ml	5,6 ml	1,4 ml/40 ml = 0,035	3,5 %

9. Ekstrak Ikan

Seratus gram ikan diblender, ditambah 1 liter aquades, dipanaskan sampai mendidih dan disaring

10. Larutan Aktivator

Ditimbang ZnSO₄ · 7H₂O 0,2200 g, FeSO₄ · 7H₂O 0,05 g dan CuSO₄ · 7H₂O 0,16 g dilarutkan dalam aquades 100 ml.

Lampiran 3. Data Kurva Pertumbuhan Bakteri *Bacillus subtilis*

No	Jam	Absorbansi
1.	0	0,00
2.	1	0,0149
3.	1,5	0,1263
4.	2	0,3066
5.	2,5	0,4430
6.	3	0,5355
7.	3,5	0,7041
8.	4	0,8372
9.	4,5	0,8226
10.	5	0,8301
11.	5,5	0,8257
12.	6	0,8371
13.	6,5	0,8505
14.	7	0,8454

Lampiran 4. Data Penentuan Kondisi Optimum Aktivitas Enzim Lipase

Tabel 1. Penentuan Kondisi pH Optimum Aktivitas Enzim Lipase

No	pH	V NaOH _{Sampel}	V NaOH _{Blanko}	Aktivitas enzim
1.	6	1,90 ml	1,70 ml	3,33
2.	6,5	2,30 ml	2,00 ml	5,00
3.	7	2,30 ml	1,90 ml	6,67
4.	7,5	1,90 ml	1,70 ml	3,33
5.	8	2,1 ml	2,00 ml	1,67

Aktivitas enzim lipase (mikromol/ml.menit) =

$$\frac{(1,9 - 1,7) \times 0,05 \times 1000}{0,5 \text{ ml} \times 6 \text{ menit}} = 3,33$$



Tabel 2. Penentuan Waktu Inkubasi Optimum Aktivitas Enzim Lipase

No	t reaksi	V NaOH Sampel	V NaOH Blanko	Aktivitas enzim	Rata-rata
1.	4	1,9 ml	1,8 ml	2,5	2,5
		1,8 ml	1,7 ml	2,5	
2.	6	1,9 ml	1,7 ml	3,33	3,33
		2,00 ml	1,8 ml	3,33	
3.	8	1,9 ml	1,5 ml	5	5
		2,1 ml	1,7 ml	5	
4.	10	1,7 ml	1,5 ml	2	2,5
		1,8 ml	1,5 ml	3	

Aktivitas enzim lipase (mikromol/ml.menit) =

$$\frac{(1,9 - 1,8) \times 0,05 \times 1000}{0,5 \text{ ml} \times 4 \text{ menit}} = 2,5$$



Tabel 3. Penentuan Konsentrasi Substrat Optimum Aktivitas Enzim Lipase

No	% substrat	V NaOH _{Sampel}	V NaOH _{Blanko}	Aktivitas enzim	Rata-rata
1.	1	1,8 ml	1,7 ml	1,25	1,25
		1,8 ml	1,7 ml	1,25	
2.	1,5	1,9 ml	1,8 ml	1,25	1,875
		1,9 ml	1,7 ml	2,5	
3.	2	1,8 ml	1,6 ml	2,5	2,5
		1,9 ml	1,7 ml	2,5	
4.	2,5	1,9 ml	1,6 ml	3,75	3,75
		2,00 ml	1,7 ml	3,75	
5.	3	2,10 ml	1,8 ml	3,75	3,75
		2,00 ml	1,7 ml	3,75	

Aktivitas enzim lipase (mikromol/ml.menit) =

$$\frac{(1,8 - 1,7) \times 0,05 \times 1000}{0,5 \text{ ml} \times 8 \text{ menit}} = 1,25$$

Lampiran 5. Data Penentuan Konsentrasi Inhibitor Optimum Terhadap Aktivitas Enzim Lipase

Tabel 1. Pengaruh Ekstrak Kasar Daun Dewa (A) Terhadap Aktivitas Enzim Lipase

No	Konsentrasi ekstrak mg/10 ml	V NaOH _{Sampel}	V NaOH _{Blanko}	Aktivitas enzim	Rata-rata
1.	30	2,0 ml	1,8 ml	2,5	2,5
		2,1 ml	1,9 ml	2,5	
2.	60	2,1 ml	2,0 ml	1,25	1,25
		2,2 ml	2,1 ml	1,25	
3.	90	2,1 ml	2,0 ml	1,25	1,25
		2,1 ml	2,0 ml	1,25	
4.	120	1,9 ml	1,8 ml	1,25	1,25
		2,0 ml	1,9 ml	1,25	
5.	150	2,0 ml	1,9 ml	1,25	1,25
		2,1 ml	2,0 ml	1,25	

Aktivitas enzim lipase (mikromol/ml.menit) =

$$\frac{(2,0 - 1,8) \times 0,05 \times 1000}{0,5 \text{ ml} \times 8 \text{ menit}} = 2,5$$

Tabel 2. Pengaruh Ekstrak Kasar Daun Dewa (B) Terhadap Aktivitas Enzim Lipase

No	Konsentrasi ekstrak mg/10 ml	V NaOH _{Sampel}	V NaOH _{Blanko}	Aktivitas enzim	Rata-rata
1.	30	2,3 ml	2,1 ml	2,5	1,875
		2,2 ml	2,1 ml	1,25	
2.	60	2,0 ml	1,9 ml	1,25	1,25
		2,0 ml	1,9 ml	1,25	
3.	90	1,6 ml	1,5 ml	1,25	1,25
		1,8 ml	1,7 ml	1,25	
4.	120	1,6 ml	1,5 ml	1,25	1,25
		1,7 ml	1,6 ml	1,25	
5.	150	1,7 ml	1,6 ml	1,25	1,25
		2,0 ml	1,9 ml	1,25	

Aktivitas enzim lipase (mikromol/ml.menit) =

$$\frac{(2,3 - 2,1) \times 0,05 \times 1000}{0,5 \text{ ml} \times 8 \text{ menit}} = 1,875$$

Tabel 3. Jumlah Rata-rata Pengaruh Ekstrak Kasar Daun Dewa Terhadap Aktivitas Enzim Lipase

No.	Konsentrasi Ekstrak Daun Dewa mg/10ml	Aktivitas enzim lipase ekstrak A	Aktivitas enzim lipase ekstrak B	Aktivitas enzim lipase rata-rata
1.	30	1,875	2,25	2,1875
2.	60	1,25	1,25	1,25
3.	90	1,25	1,25	1,25
4.	120	1,25	1,25	1,25
5.	150	1,25	1,25	1,25

Lampiran 6. Gambar Preparasi Sampel dan Hasil Ekstrak



Gambar 1. Sampel daun dewa



Gambar 2. Hasil ekstraksi sokhlet



Gambar 3. Hasil evaporasi (dalam bentuk kristal)



Gambar 4. Variasi konsentrasi ekstrak daun dewa

Lampiran 7. Gambar Penyiapan Enzim Lipase**Gambar 1. Penanaman biakan murni****Gambar 2. Media cair**



Gambar 3. *Bacillus subtilis* dalam media cair



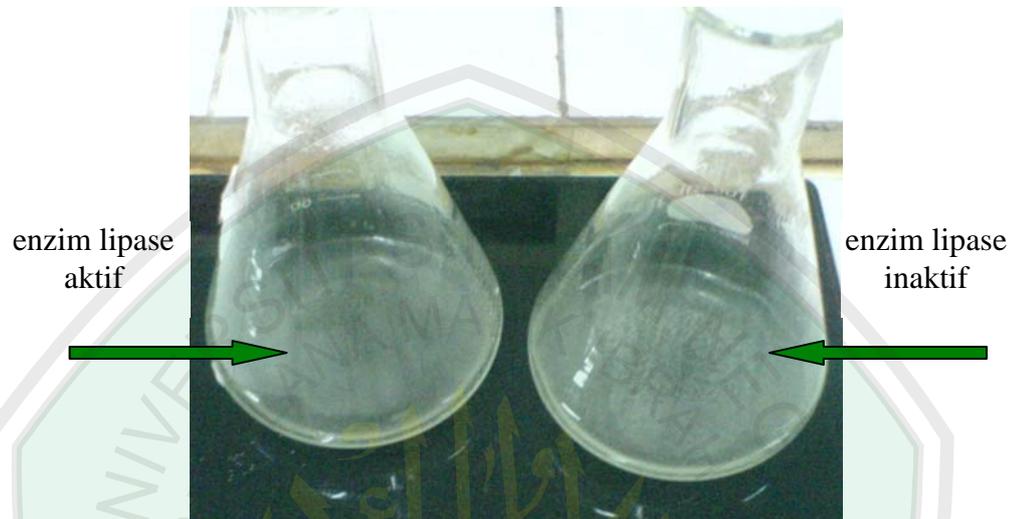
**Gambar 4. *Bacillus subtilis* dalam media cair setelah disentrifugasi dingin
(enzim lipase dalam media cair)**



Gambar 5. Enzim lipase yang aktif dan diinaktifkan



Gambar 6. Substrat (minyak zaitun diemulsi oleh gum arabik 10 %)

Lampiran 8. Gambar Hidrolisis Lemak oleh enzim Lipase

Enzim lipase aktif (hidrolisis lemak oleh enzim lipase) dan enzim lipase inaktif dalam substrat

PUSAT PERPUSTAKAAN

Lampiran 9. Gambar Alat**Gambar 1. Ekstraktor sokhlet****Gambar 2. Rotary evaporator**



Gambar 3. Inkubator



Gambar 4. Autoklav



Gambar 5. Sentrifus Dingin



Gambar 6. Spektrofotometer UV-Vis SHIMADZU