

LAPORAN KEMAJUAN RISET

Pendanaan Riset Inovatif-Produktif (RISPRO) INVITASI BERKEMAJUAN



JUDUL RISET

PENGEMBANGAN KAPSUL EKSTRAK KAIT-KAIT (*Uncaria sclerophylla* Roxb) SEBAGAI KANDIDAT OBAT BAHAN ALAM TERSTANDAR ANTIDIABETES MULTITARGET

KELOMPOK PERISET

1. Nita Triadisti (Universitas Muhammadiyah Banjarmasin – Bahan Alam)
2. Berna Elya (Universitas Indonesia – Bahan Alam)
3. Rini Prastiwi (Universitas Muhammadiyah Prof. Dr. Hamka)
4. Rizka Mulya Miranti (Universitas Muhammadiyah Banjarmasin – Farmakologi Toksikologi)
5. Erlina Fatmasari (Universitas Muhammadiyah Banjarmasin – Teknologi Farmasi)
6. Hasbi As-Shiddiq (Universitas Muhammadiyah Banjarmasin – Farmasi Komunitas)
7. Ema Dewanti (Universitas Muhammadiyah Prof. Dr. Hamka)

INSTITUSI PENGUSUL

UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH BANJARMASIN
UNIVERSITAS INDONESIA
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH PROF. DR. HAMKA

LEMBAGA PENGELOLA DANA PENDIDIKAN
KEMENTERIAN KEUANGAN REPUBLIK INDONESIA
TAHUN 2026

LEMBAR PENGESAHAN

1. Judul Riset : Pengembangan Kapsul Ekstrak Kait-Kait
(*Uncaria sclerophylla* Roxb) sebagai
Kandidat Obat Bahan Alam Terstandar
Antidiabetes Multitarget

2. Ketua Periset

a. Nama Lengkap : Dr. apt. Nita Triadisti, M.Farm
b. Jenis Kelamin : L / P
c. NIK : 0104021982058002011
d. Jabatan Struktural : Sekretaris Program Studi PSPPA
e. Jabatan Fungsional : Lektor
f. Lembaga Periset : Lembaga Riset Inovasi UM Banjarmasin
g. Alamat : Jl. Gubernur Sarkawi, Barito, Kuala
h. Telpon/Faks : +62 812 1000 3012
i. Alamat Rumah : Komplek Bhakti Karya II, Barito Kuala
j. Telpon/Faks/E-mail : +62 878 1438 1488

3. Mitra Riset(*) : UKOT PJ Cuksirih
(binaan dari Pimpinan Wilayah Pemuda
Muhammadiyah Kalimantan Tengah)
Alamat (*) : Jl. Tembus Museum Wasaka No.36. Sultan
Adam, Banjarmasin.

4. Anggota Periset

No	Nama	NIK/NIP	Instansi
1	Prof. Dr. apt. Berna Elya, M.Si	196405071988112001	Universitas Indonesia
2	apt. Rini Prastiwi, M.Si	D.13.0803	UM Prof DR Hamka
3	apt. Rizka Mulya Miranti, M.Si.	0228011987121006014	UM Banjarmasin
4	Erlina Fatmasari, M. Pharm.Sci.	0116081988088012012	UM Banjarmasin
5	Hasbi Asshiddiq, M.Farm-Klin	1118069601	UM Banjarmasin
6	Ema Dewanti, M.Si.	D.14.0913	UM Prof DR Hamka

5. Pendanaan

Uraian	LPDP	Mitra	Total
Tahun I	Rp. 373.928.142	Rp. 50.000.000	Rp. 423.928.142
Tahun II	Rp. 376.022.530	Rp. 50.000.000	Rp. 426.022.530
Total	Rp. 749.950.672	Rp. 100.000.000	Rp. 849.950.672

Barito Kuala, 12 Maret 2026

Ketua Periset



Dr. apt. Nita Triadisti, M.Farm
NIK. 0104021982058002011

Kepala Lembaga Riset dan Inovasi



apt. H. Joko Priyanto Wibowo, Ph.D
NIK. 0106121984053010010

Menyetujui,

Rektor

Universitas Muhammadiyah Banjarmasin



Prof. Dr. H. Khudzaifah Dimyati, S.H., M.Hum
NIK. 0127081958297001024

**Pendanaan Riset Inovatif-Produktif (RISPRO) INVITASI
Lembaga Pengelola Dana Pendidikan (LPDP)**

JUDUL RISET

**Pengembangan Kapsul Ekstrak Kait-Kait sebagai Kandidat Obat Bahan
Alam Terstandar Antidiabetes Multitarget**

DAFTAR ISI

Halaman Judul.....	1
Halaman Pengesahan	2
Abstrak	5
BAB I. Pendahuluan	6
BAB II. Peta Jalan	8
BAB III. Kebaharuan (Novelty)	11
BAB IV. Nilai Strategis.....	12
BAB V. Metode	13
1. Pengolahan tanaman menjadi simplisia	14
2. Ekstraksi tanaman	14
3. Validasi mutu ekstrak : standarisasi ekstrak	14
4. Validasi formulasi ekstrak dalam bentuk kapsul.....	16
5. Validasi dosis aman (uji toksisitas) ekstrak pra klinik	17
6. Validasi dosis ekstrak yang efektif dalam menurunkan glukosa darah, meningkatkan sekresi insulin, dan menurunkan kadar HbA1c	18
7. Validasi dosis ekstrak yang efektif dalam menurunkan inflamasi yang berperan dalam progres diabetes	20
8. Validasi dosis ekstrak yang efektif dalam menghambat enzim dipeptidil peptidase-4	21
9. Prosedur validasi dosis ekstrak yang efektif dalam menghambat enzim α -Glukosidase	22
10. Validasi mutu sediaan produk jadi kapsul ekstrak ..	23
11. Validasi stabilitas sediaan kapsul	24
BAB VI. Luaran	25
BAB VII. Pustaka.....	26
BAB VIII. Daftar Riwayat Hidup (Profil) Ketua dan Anggota Periset.....	29
BAB IX. Rincian Anggaran Biaya (RAB)	49
BAB X. Profil mitra beserta dokumen legalitas mitra	71

ABSTRAK

Diabetes mellitus merupakan salah satu permasalahan kesehatan global dengan angka kejadian yang terus meningkat. Data IDF memperlihatkan angka kasus diabetes di Indonesia mencapai 19,4 juta di tahun 2021, dimana angka ini memperlihatkan peningkatan kasus diabetes di Indonesia yang sebelumnya 7,3 juta di tahun 2011. Upaya untuk menurunkan angka kejadian diabetes harus terus dilakukan, salah satunya dengan menemukan kandidat obat bahan alam antidiabetes. Berbagai studi telah melaporkan potensi genus *Uncaria* sebagai antidiabetes. Salah satu spesies dari genus tersebut, yakni *Uncaria sclerophylla* (tanaman Kait-Kait) yang telah digunakan secara luas dalam membantu pengobatan diabetes oleh masyarakat Kalimantan. Batang dan ranting tanaman ini telah secara luas di jual sebagai simplisia di banyak pusat oleh-oleh di Kalimantan. Peneliti telah memastikan aktivitas tanaman ini sebagai antidiabetes multitarget melalui serangkaian riset dari tahun 2023 – 2025. Tujuan dari riset ini adalah untuk mengembangkan teknologi tepat guna dari tanaman Kait-Kait dalam bentuk kapsul ekstrak terstandar antidiabetes multitarget, yang akan menjamin mutu, keamanannya, dan efektivitasnya. Penelitian ini bekerja sama dengan mitra Pimpinan Wilayah Pemuda Muhammadiyah (PWPM) Kalimantan Tengah dan Usaha Kecil Obat Tradisional (UKOT) Perusahaan Jamu Pucuk Sirih sebagai binaan PWPM Kalimantan Tengah yang akan menerapkan teknologi tepat guna yang dikembangkan tim peneliti. Penelitian ini akan dilakukan selama 2 tahun (2026 – 2027) dengan tahapan pekerjaan meliputi optimasi formulasi kapsul ekstrak daun dan kulit batang tanaman Kait-Kait, validasi mutu ekstrak dalam rangka standarisasi mutu, serta validasi dosis efektif ekstrak secara pra klinik ditahun pertama (2026). Tahun kedua (2027) akan dilakukan validasi mutu dan stabilitas sediaan produk jadi, serta pengajuan izin edar dan sertifikasi halal. Produk kapsul ekstrak yang telah memenuhi persyaratan mutu, keamanan, dan efektivitas akan didaftarkan sebagai Jamu dalam bentuk kapsul ekstrak pada BPOM, merk dagang, dan sertifikat halal, sehingga setelah masa penelitian selesai, kapsul ekstrak Kait-Kait sudah dapat dipasarkan. Penelitian ini berguna dalam pengembangan tanaman Kait-Kait sebagai obat bahan alam antidiabetes yang bermutu, aman dan efektif berbasis ilmiah, serta turut serta dalam mengembangkan UKOT dan pemberdayaan Pemuda Muhammadiyah terutama di Kalimantan, mempertahankan keanekaragaman hayati, meningkatkan nilai ekonomi tanaman Kait-Kait, kesejahteraan dan kesehatan masyarakat secara luas.

BAB I. PENDAHULUAN

Diabetes mellitus merupakan salah satu permasalahan kesehatan global dengan angka kejadian global diabetes mencapai 537 juta di tahun 2021. Angka ini diperkirakan akan terus meningkat mencapai 643 juta dan 783 juta di tahun 2030 dan 2045 (IDF, 2021). Data IDF memperlihatkan angka kasus diabetes di Indonesia mencapai 19,4 juta di tahun 2021, dimana angka ini memperlihatkan peningkatan kasus diabetes di Indonesia yang sebelumnya 7,3 juta di tahun 2011 (IDF, 2021). Diabetes mellitus secara progresif menyebabkan komplikasi mikrovaskular, makrovaskular, dan neuropatik kronis yang memperburuk kualitas hidup (Padhi et al., 2020).

Bahan alam memainkan peran penting sebagai sumber utama penemuan kandidat obat. Pengobatan tradisional berbasis tanaman terutama dipraktekan di negara berkembang yang memiliki keanekaragaman hayati tanaman yang tinggi, dan telah dimanfaatkan dalam pengobatan (Tran et al., 2020). Penelitian ilmiah telah melaporkan bahwa tanaman-tanaman antidiabetes, memiliki aktivitas peningkatan sensitivitas insulin dan aktivitas hipoglikemik, dimana hal ini sering dikaitkan dengan tingginya tingkat senyawa metabolit sekunder seperti fenolik, flavonoid, terpenoid, alkaloid, dan glikosida, yang dapat meningkatkan sekresi insulin serta mengontrol glukosa darah (Salleh et al., 2021).

Salah satu genus yang memiliki data ilmiah aktivitas antidiabetes dan antioksidan adalah genus *Uncaria*, beberapa spesies dari genus ini telah dilaporkan memiliki aktivitas antidiabetes dan antioksidan antara lain dari *Uncaria gambir*, *Uncaria tomentosa*, *Uncaria longiflora*, *Uncaria calophylla*, *Uncaria cordata*, *Uncaria lucida*, dan *Uncaria acida* (Ahmad et al., 2011; Aprely et al., 2021; Araujo et al., 2018; Arundita et al., 2020; Domingues et al., 2011; Pane et al., 2018; Zebua et al., 2018). Hal ini memperlihatkan potensi genus tersebut dalam pengobatan diabetes.

Salah satu spesies dari genus tersebut telah secara turun temurun digunakan sebagai tanaman obat bagi masyarakat Kalimantan terutama dalam membantu pengobatan diabetes, yaitu tanaman Bajakah Kait-Kait (*Uncaria sclerophylla*), atau yang sering disebut dengan Kait-Kait/Kekait. Tanaman ini banyak ditemukan di Kalimantan, dimana batang dan ranting tanaman ini telah banyak dimanfaatkan sebagai obat tradisional antidiabetes, dan telah secara luas di jual sebagai simplisia dengan sertifikasi halal di banyak pusat oleh-oleh di kalimantan selatan.

Peneliti sangat tertarik dengan potensi tanaman ini, dan telah menginvestigasi dan memastikan aktivitas antidiabetes tanaman ini dengan serangkaian penelitian. Batang dan ranting tanaman yang telah banyak

dipergunakan masyarakat memperlihatkan aktivitas penghambatan enzim α -

glukosidase yang kuat (Triadisti et al., 2024). Peneliti melanjutkan investigasi ke bagian lain dari tanaman ini untuk mendapatkan informasi bagian tanaman mana yang paling aktif sebagai antidiabetes, dan didapatkan data ilmiah bahwa bagian daun dan kulit batang unggul dalam aktivitas antidiabetes dibandingkan batang dan ranting. Peneliti memastikan aktivitas penghambatan enzim α -glukosidase dan dipeptidil peptidase-4 (DPP-4), serta aktivitas antioksidan, sehingga tanaman ini khususnya bagian daun dan kulit batang memiliki potensi besar untuk dikembangkan sebagai kandidat antidiabetes (Triadisti, Elya, Hanafi, & Hashim, 2025b; Triadisti, Elya, Hanafi, & Illahi, 2025). Penelitian untuk mengungkap senyawa mayor antidiabetes dari daun tanaman ini dalam meningkatkan ambilan glukosa telah dilakukan, adapun publikasi data ilmiah terkait hal ini masih dalam proses review di Jurnal Scopus Q1 (Emerging Science Journal), hal ini memperkuat posisi daun dan kulit batang tanaman ini untuk dikembangkan sebagai kandidat antidiabetes multitarget (sebagai penghambat enzim α -glukosidase dan DPP-4, antioksidan, dan peningkat ambilan glukosa).

Tujuan umum dari riset ini adalah mengembangkan teknologi tepat guna dari tanaman ini, yaitu pengembangan kapsul ekstrak terstandar antidiabetes multitarget, yang akan menjamin keamanannya, efektivitas khasiat, dan kualitasnya. Secara khusus penelitian ini berfokus pada pengembangan teknologi tepat guna daun dan kulit batang tanaman Kait-Kait, standarisasi bahan baku ekstrak, validasi keamanan dan efektivitas dengan uji pra klinik, pengembangan kapsul ekstrak dengan stabilitas yang baik yang disertai validasi mutu sediaan produk jadi. Serangkaian proses validasi dan uji pra klinik diharapkan agar kapsul ekstrak Kait-Kait dapat secara luas mampu membantu mengatasi permasalahan diabetes, sehingga diharapkan dapat membantu meminimalisir kenaikan angka kejadian diabetes. Sediaan ini akan terus dikembangkan menjadi Obat Bahan Alam berijin, sehingga jaungkauan kemanfaatannya akan lebih luas.

Mitra tim peneliti merupakan pendukung dalam pengembangan kapsul ekstrak terstandar Kait-Kait yang akan menggunakan teknologi tepat guna tersebut, yaitu UKOT PJ Pucuk Sirih, yang berkolaborasi dengan Pimpinan Wilayah Pemuda Muhammadiyah Kalimantan Tengah dalam pengembangan produk bahan alam. UKOT PJ Cuksirih merupakan salah satu produsen obat bahan alam yang memiliki perijinan BPOM untuk produk kapsul ekstrak, serta telah memiliki sertifikat Cara Pembuatan Obat Tradisional yang Baik (CPOTB) dari BPOM.

Luaran riset sebagai jawaban atas permasalahan diatas adalah teknologi tepat guna tanaman Kait-Kait (daun dan kulit batang) dalam bentuk kapsul ekstrak terstandar antidiabetes multitarget, selain itu luaran lainnya adalah dalam bentuk dua artikel internasional bereputasi di Jurnal Scopus Q1 dan Q2, hak kekayaan intelektual (HKI) paten dan merek, sertifikasi halal, dan ijin edar dari BPOM.

BAB II. PETA JALAN

Peta jalan serangkaian penelitian tanaman Kait-Kait telah dimulai sejak tahun 2023, dan akan terus dilakukan pengembangan produk obat bahan alam dari Kait-Kait ini hingga mendapatkan kualifikasi dan perijinan fitofarmaka yang ditarget di tahun 2034.

Tahun	Aktivitas yang dilakukan	Luaran yang dihasilkan	Sumber Pendanaan
2023	Investigasi aktivitas antidiabetes batang dan ranting tanaman Kait-Kait (<i>Uncaria sclerophylla</i> Roxb)	1 Artikel ilmiah di Jurnal Internasional Bereputasi (Scopus Q3) https://www.fspublishers.org/paper/42054	Beasiswa S3 BPI
2024	Investigasi aktivitas antidiabetes daun dan kulit batang tanaman Kait-Kait (<i>Uncaria sclerophylla</i> Roxb) : penghambatan enzim α -glukosidase, penghambatan enzim dipeptidil peptidase-4, aktivitas antioksidan, profiling senyawa, analisis farmakokinetika toksisitas (ADMET)	2 Artikel ilmiah di Jurnal Internasional Bereputasi (Scopus Q2) https://jppres.com/jppres/dipeptidyl-peptidase-4-inhibition-and-antioxidant-capacity-of-uncaria-sclerophylla-leaves/ https://japsonline.com/abstract.php?article_id=4487&sts=2	Hibah PUTI Q1-Q2 Universitas Indonesia

2025	Isolasi senyawa antidiabetes dari tanaman Kait-Kait (<i>Uncaria sclerophylla</i> Roxb) dan Investigasi aktivitas antidiabetes dengan mekanisme peningkat ambilan glukosa	2 Artikel ilmiah sedang berproses di Jurnal Internasional Bereputasi (Scopus Q1 - Emerging Science Journal, under review) (Scopus Q1, Arabian Journal of Chemistry, submit)	
2026	Pengembangan ekstrak daun dan kulit batang tanaman Kait-Kait (<i>Uncaria sclerophylla</i> Roxb) dalam bentuk kapsul ekstrak terstandar antidiabetes multitarget dan validasi purwarupa yang meliputi : - Validasi formulasi - Validasi keamanan - Validasi stabilitas - Validasi efektivitas tahap 1	- Purwarupa kapsul ekstrak terstandar antidiabetes multitarget dari Kait-Kait - Publikasi artikel di Jurnal Internasional Bereputasi (Scopus Q2) dengan status <i>accepted</i>	Dalam Tahap Pengajuan Hibah Rispro Invitasi Berkemajuan

2027	1. <i>Scale-up</i> produksi kapsul ekstrak terstandar antidiabetes multitarget beserta validasi efektifitas purwarupa tahap 2 2. Pengurusan Ijin Edar Kapsul ekstrak terstandar antidiabetes multitarget Kait-Kait dengan penandaan jamu melalui UKOT 3. Pengembangan aspek bisnis kapsul ekstrak terstandar antidiabetes multitarget Kait-Kait	1. Kekayaan intelektual : a. Merk produk b. Paten untuk Inovasi aktivitas antidiabetes multitarget dan formulasi dari kapsul ekstrak terstandart dengan status terdaftar 2. Sertifikasi halal 3. Publikasi artikel di Jurnal Internasional Bereputasi (Scopus Q1) dengan status <i>accepted</i> 4. Ijin Edar Jamu Kemasan dari BPOM	Dalam Tahap Pengajuan Hibah Rispro Invitasi Berkemajuan
2028	1. Pengurusan Ijin edar kapsul ekstrak terstandar antidiabetes	3. Publikasi artikel di Jurnal Internasional Bereputasi (Scopus Q1)	Direncanakan untuk diajukan ke Rispro LPDP

	- mutitarget Kait-Kait sebagai obat herbal terstandar (OHT) termasuk pemenuhan validasi berdasarkan persyaratan BPOM 2. Pengembangan aspek bisnis OHT Kait-Kait antidiabetes multitarget	4. Ijin Edar OHT dari BPOM : Kapsul ekstrak terstandar antidiabetes multitarget 5. Ijin Edar Fitofarmaka dari BPOM : Kapsul ekstrak terstandar antidiabetes multitarget 6. Paten untuk Inovasi	
--	---	--	--

2029		1. Pengembangan OHT kapsul ekstrak terstandar antidiabetes multitarget Kait-Kait sebagai Fitofarmaka Tahap 1, yang meliputi : Uji klinis fase 1 pada sukarelawan sehat untuk memastikan keamanan, menentukan dosis optimal, serta mendapatkan profil farmakokinetik dan farmakodinamik 2. Pengembangan aspek bisnis OHT Kait-Kait antidiabetes multitarget	pengembangan tanaman Kait-Kait sebagai OHT dan Fitofarmaka	
2030 - 2031		1. Uji klinis fase 2 yang melibatkan kelompok pasien untuk mengevaluasi efektivitas produk dan memantau efek samping jangka pendek, serta		
		menentukan dosis efektif. 2. Pengembangan aspek bisnis OHT Kait-Kait antidiabetes multitarget		

2031 2033	-	1. Uji klinis fase 3 yang melibatkan kelompok pasien yang lebih banyak untuk konfirmasi efikasi dan efek samping secara komprehensif 2. Pengajuan permohonan izin edar fitofarmaka 3. Pengembangan aspek bisnis Fitofarmaka Kait-Kait antidiabetes multitarget	
--------------	---	--	--

BAB III. KEBAHARUAN (NOVELTY)

Tanaman Kait-Kait selama ini telah dimanfaatkan oleh masyarakat terutama di Kalimantan sebagai obat tradisional, khususnya dalam membantu pengobatan diabetes. Tanaman ini juga telah secara luas dijual dalam bentuk simplisia dan teh celup di toko-toko, terutama toko oleh-oleh. Penggunaan dari tanaman ini dalam bentuk simplisia dan teh celup belum memiliki dasar ilmiah dan hanya berdasarkan khasiat empiris, sehingga di tahun 2023 – 2025 peneliti melakukan serangkaian riset untuk memastikan aktivitas antidiabetes dari tanaman Kait-Kait, dan hasil riset memperlihatkan potensi besar tanaman ini sebagai antidiabetes dengan mekanisme penghambatan α -glukosidase, penghambatan dipeptidil peptidase-4, peningkat ambilan glukosa dan sebagai antioksidan (Triadisti et al., 2024; Triadisti, Elya, Hanafi, & Hashim, 2025a; Triadisti, Elya, Hanafi, & Illahi, 2025).

Pengembangan tanaman ini sebagai produk obat bahan alam belum pernah dilakukan walaupun penggunaannya telah meluas, sehingga perlu dilakukan untuk dapat mempermudah penggunaannya, memastikan stabilitasnya untuk memperpanjang umur simpannya, menemukan ketepatan dosis untuk digunakan pengguna, dan memastikan kualitas, keamanan, dan khasiatnya sehingga dapat memperluas kemanfaatan tanaman Kait-Kait ini sebagai antidiabetes multitarget baik di Kalimantan, Indonesia, bahkan secara global di masa mendatang.

BAB IV. NILAI STRATEGIS

Pengembangan tanaman Kait-Kait dalam bentuk kapsul ekstrak terstandar antidiabetes multitarget akan memiliki berbagai nilai strategis yang membuatnya unggul sebagai obat bahan alam antidiabetes, antara lain:

1. Aktivitas antidiabetes multitarget

Tanaman Kait-Kait dan senyawa-senyawa mayor antidiabetes yang terkandung dalam daun Kait-Kait telah dibuktikan memiliki beberapa mekanisme antidiabetes, antara lain kemampuannya dalam menghambat enzim α -glukosidase dan enzim DPP-4, mampu meningkatkan ambilan glukosa, dan memiliki aktivitas antioksidan kuat. Hal ini memberikan keuntungan tersendiri, mengingat obat-obat konvensional antidiabetes biasanya bekerja dengan target tunggal. Aktivitas multitarget dapat memperkuat kinerja antidiabetes, mengingat diabetes merupakan sindrom dengan patofisiologi multitarget.

2. Terstandar

Pengembangan tanaman Kait-Kait diawali dengan standarisasi bahan baku, proses produksi, hingga produk jadi, sehingga menjamin konsistensi kualitas, keamanan, dan aktivitas. Standarisasi dilakukan sesuai standar BPOM, meliputi non spesifik (kualitas keamanan dan mutu) dan spesifik (kandungan senyawa).

3. Sediaan modern.

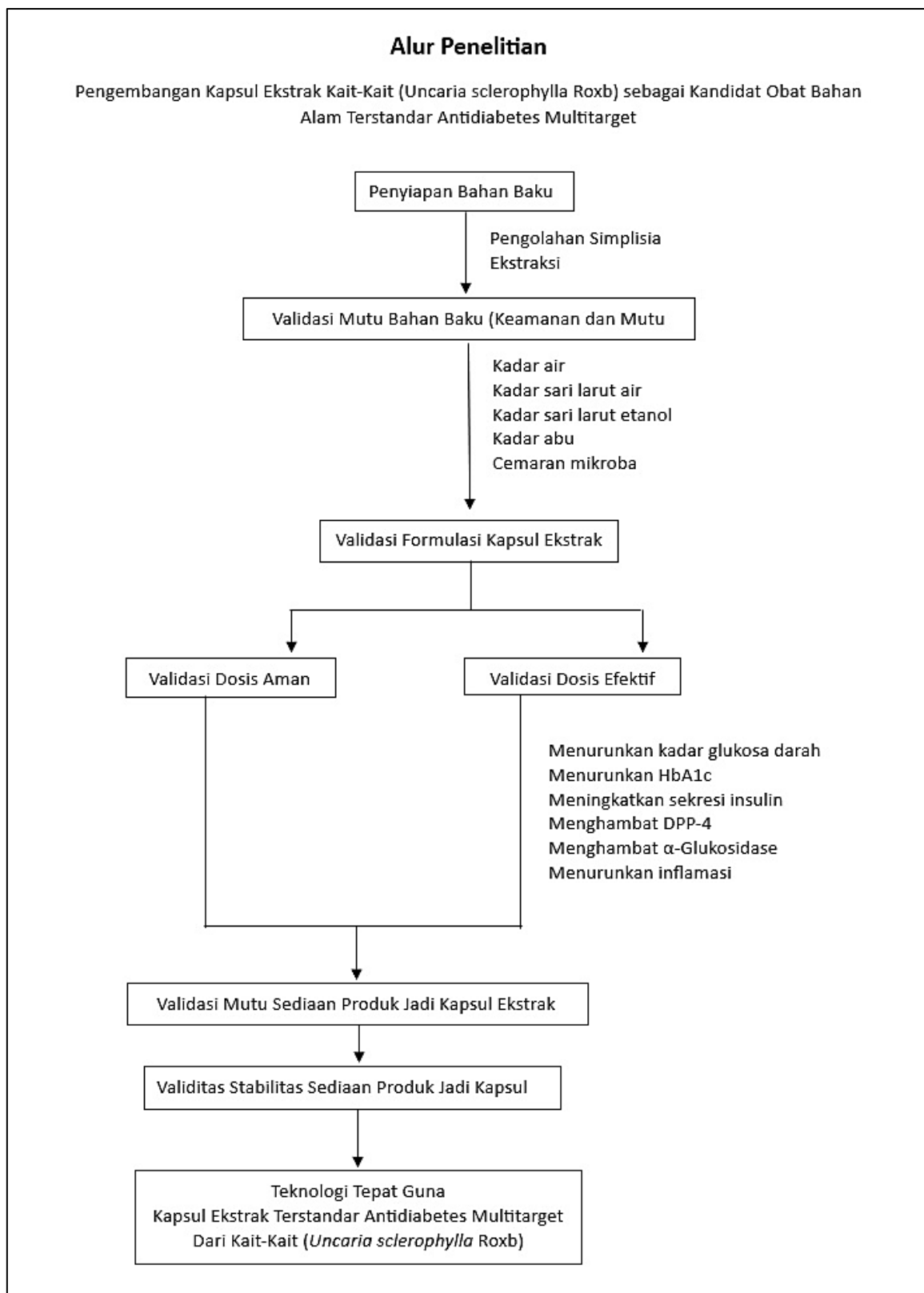
Sediaan kapsul ekstrak memastikan penggunaan yang lebih mudah, pengguna dapat mengkonsumsinya langsung, tanpa perlu memproses bagian tanaman, merebus atau menyeduh. Tanaman diproses dalam bentuk ekstrak yang dimasukkan ke dalam kapsul, sehingga dapat dipastikan konsistensi dosis dan meminimalkan variasi dibandingkan penggunaan simplisia, sehingga dapat mengoptimalkan kemanfaatannya.

4. Potensi bisnis, kesejahteraan masyarakat, dan peningkatan nilai ekonomi tanaman Kait-Kait

Kapsul ekstrak Kait-Kait terstandar yang telah dipastikan kualitas, keamanan, dan aktivitasnya serta adanya keunggulan multitarget, merupakan solusi dalam membantu meminimalisir kenaikan prevalensi diabetes yang terus meningkat dari tahun ke tahun. Dengan pengelolaan bisnis yang tepat, produk ini tidak hanya memberikan keuntungan bagi pengguna/ penderita diabetes, tetapi juga bagi pengelolanya, baik tim peneliti, mitra, organisai/Amal Usaha Muhammadiyah dengan optimasi pemberdayaan untuk kesejahteraan masyarakat dalam pengembangan bisnis produk obat bahan alam ini. Penggunaan dan pengelolaan tanaman ini sebagai antidiabetes dengan tepat dapat mempertahankan keaneragaman hayati dan meningkatkan nilai ekonomi tanaman ini.

BAB V. METODE

Metode berikut dirancang untuk dapat mengembangkan Teknologi Tepat Guna dari tanaman Kait-Kait menjadi kapsul ekstrak terstandar antidiabetes multitarget. Alur penelitian lengkap dapat dilihat pada Gambar 1 berikut.



Gambar 1. Alur Penelitian

1. Pengolahan tanaman menjadi simplisia (PIC : Nita Triadisti)

Alat : Mesin penggiling tanaman, mesin saringan 40 mesh, mesin dan plastik vakum untuk mendukung penyimpanan simplisia, kotak kontainer penyimpanan simplisia, rak penyimpan simplisia, label identitas simplisia

Bahan : Daun dan kulit batang tanaman Kait-Kait masing-masing 20 Kg.

Prosedur kerja :

Daun dan kulit batang tanaman Kait-Kait disortasi, dicuci dibawah air mengalir, kemudian dikeringkan pada ruangan menggunakan kipas angin dan dehydrator. Setelah mengering selanjutnya di serbukkan dengan grinder dan blender. Simplisia dalam bentuk serbuk selanjutnya dipacking rapat dalam plastik dengan pengering silika gel, dan ditempatkan di ruangan sejuk, untuk kemudian di ekstraksi.

2. Ekstraksi tanaman (PIC : Nita Triadisti)

Alat : Maserator, mesin pengering ekstrak, toples gelas kedap udara penyimpan ekstrak, rak penyimpan ekstrak, label identitas ekstrak.

Bahan : Simplisia daun dan kulit batang tanaman Kait-Kait, etanol 96 % sebanyak 400 liter.

Prosedur kerja :

Simplisia baik daun dan kulit batang, dimaserasi secara terpisah menggunakan etanol 70 %, menggunakan chamber maserasi dengan rasio 1 : 10, sambil diaduk 3 kali dalam sehari masing-masing selama 20 menit. Ekstraksi dilakukan selama 2 hari, dan selanjutnya dilakukan penyaringan dengan kain penyaring sampai benar-benar terpisah antara filtrat (ekstrak) dengan ampas. Filtrat yang didapatkan selanjutnya di uapkan pelarutnya menggunakan dehidrator. Dilakukan uji residu pelarut untuk memastikan residu pelarut yang ada memenuhi persyaratan dari BPOM. Ekstrak daun dan kulit batang selanjutnya di simpan dalam wadah tertutup rapat di ruangan sejuk sampai waktunya untuk di uji untuk validasi maupun untuk di formulasi.

3. Validasi mutu ekstrak : standarisasi ekstrak (PIC : Rini Prastiwi)

Alat : Ayakan *mesh* 60, blender, batang pengaduk, corong kaca, toples kaca, botol kaca, kertas cokelat, gelas ukur, kertas saring, tabung reaksi, *cutter*, *object glass*, *cover glass*, krus silikat, tang krusibel, tanur, spatula logam, labu ukur, *beaker glass*, *chamber*, pipet tetes, aluminium foil, karl fischer, silika gel GF254, gelas ukur, mikropipet 100-1000 μ l, mikropipet 10-100 μ l, *waterbath*, *vacuum rotary evaporator*, corong pisah, timbangan analitik, vial, pensil, penggaris, pH meter, lampu UV 254 nm dan 366 nm, 96 *well-microtiter plate*, *microplate reader*.

Bahan : Etanol 70%, etanol 95%, aquadest, air bebas CO₂, kloraldehid, kloroform, asam klorida, metanol, n-heksan, etil asetat, asam format,

FeCl₃, silika gel, kalium dihidrogen fosfat, Na₂CO₃, HCl 2N, KH₂PO₄, NaOH, pereaksi Dragendorff, pereaksi Mayer, logam Mg, FeCl₃, H₂SO₄, eter, asam asetat anhidrat.

3.1. Prosedur Analisis kadar air

Dilakukan dengan menggunakan alat *moisture balance*. Prosedur pengerjaannya yaitu, dinyalakan alat, kemudian ekstrak diletakkan pada aluminium foil kemudian ditimbang sebanyak 1 hingga 2 gram. Dimasukkan ke dalam alat *halogen moisture analyzer* yang diatur pada suhu 105 °C selama 15 menit. Ditunggu hingga tertera hasil pada alat tersebut (Priamsari *et al.*, 2022).

3.2. Prosedur Analisis Kadar Sari Larut Air

Sebanyak 5 gram serbuk simplisia kering ditimbang seksama dan dimasukkan ke dalam labu bersumbat, lalu ditambahkan 100 ml air jenuh kloroform dikocok berkali-kali selama 6 jam pertama, biarkan selama 18 jam. Filtrat disaring, lalu diuapkan sebanyak 20 ml hingga kering dalam cawan dangkal beralas datar yang telah dipanaskan 105 °C hingga bobot tetap (Depkes RI, 2017). Setelah itu dilakukan perhitungan % kadar sari larut air (Krismayadi *et al.*, 2024).

3.3. Prosedur Analisis Kadar Sari Larut Etanol

Timbang saksama lebih kurang 5 g serbuk dan masukkan ke dalam labu bersumbat, tambahkan 100 ml etanol 95% P, kocok berkali-kali selama 6 jam pertama, biarkan selama 18 jam. Saring cepat untuk menghindari penguapan etanol, uapkan 20 ml filtrat hingga kering dalam cawan dangkal beralas datar yang telah dipanaskan 105 °C dan ditara, panaskan sisa pada suhu 105 °C hingga bobot tetap (Depkes RI, 2017). Setelah itu dilakukan perhitungan % kadar sari larut etanol (Krismayadi *et al.*, 2024).

3.4. Prosedur Analisis Kadar abu

Prosedur pengerjaan kadar abu dilakukan dengan cara, sampel ditimbang sebanyak 2 hingga 3 gram ekstrak. Dimasukkan ke dalam krus silikat yang sebelumnya telah dilakukan pemijaran. Pijarkan perlahan hingga arang habis, kemudian dinginkan di desikator dan timbang. Masukkan filtrat ke dalam krus. Lakukan penguapan dan pijarkan hingga bobot tetap, pada suhu 800±25° (Kemenkes, 2017). Adapun rumus Perhitungan Kadar abu yaitu, (Nurzahra *et al.*, 2022)

3.5. Prosedur Analisis Cemarkan Mikroba

Uji AKK dan ALT menggunakan serial pengenceran dengan lima kali pengenceran, yaitu pengenceran 10⁻¹ hingga 10⁻⁵ dan setiap pengenceran dilakukan tiga kali replikasi. Sampel ekstrak ditimbang sebanyak 1 g dan dimasukkan ke tabung reaksi pertama, ditambahkan 9 ml pengencer saline water, lalu encerkan sesuai dengan serial pengencerannya. Sampel diinokulasikan ke dalam cawan petri menggunakan spreader sebanyak 100 µL. Media yang digunakan pada AKK yaitu PDA (Potato Dextrose Agar) yang ditambahkan antibiotik kloramfenikol 50 mg/L. Cawan petri diinkubasi pada suhu 25^o C selama 4 hari pada posisi terbalik. Pada pengujian ALT, media yang digunakan adalah Tryptic Soy Agar (TSA). Cawan petri diinkubasi pada suhu 36^o C selama 24 jam dengan posisi cawan petri terbalik. Pada uji ALT maupun AKK dilakukan uji sterilitas media dan uji sterilitas pengencer. Pada cawan kontrol pengencer diberi media dan pengencer saline water (uji sterilitas pengencer). Pada cawan kontrol media hanya diberikan media saja (uji sterilitas media). (Cempaka et al., 2024).

HASIL PENGUJIAN

A. Analisis Kadar Air

1. Pembuatan Toluene Jenuh Air Alat:

Gelas ukur 100 mL 1 buah, pipet volume 1 mL, bulb, beaker glass 600 mL, beaker glass 100 mL, batang pengaduk, lemari asam.

Bahan:

Toluene 500 mL, Aquadest 100 mL, Aluminium Foil.

Prosedur Kerja:

1. Menyiapkan alat dan bahan dan membuat larutan tersebut dalam lemari asam.
2. Mengukur toluene sebanyak 500 mL dalam gelas ukur 100 mL dengan 5 kali pengulangan.
3. Menuangkan toluene ke dalam beaker glass 600 mL.
4. Menambahkan aquades 1 mL ke dalam toluene 500 mL, kemudian diaduk.
5. Tutup dengan aluminium foil dan diamkan semalaman agar toluene jenuh dengan air.

Hasil:

Terbentuk dua lapisan antara toluene dan aquades dalam beaker glass.

2. Pemisahan Larutan Toluene dengan Aquades Alat:

Statif 1 Buah, Klem 1 Buah, Ring Stand 1 Buah, Corong Pisah 250 mL 2 Buah

Bahan:

Campuran larutan toluene dan aquades 500 mL.

Prosedur Kerja:

1. Menyiapkan alat dan bahan.
2. Menuangkan campuran larutan toluene dan aquades ke dalam corong pisah 250 mL dengan dibagi sama rata pada kedua corong pisah.
3. Menunggu sampai terjadi pemisahan. Toluene berada di lapisan atas dan aquades berada di lapisan bawah.
4. Setelah proses pemisahan telah sempurna, pisahkan aquades dengan toluene dengan cara, aquadest yang berada di lapisan bawah dikeluarkan melalui keran dan toluene yang berada di lapisan atas dikeluarkan dengan cara dituang dari mulut corong pisah.

Hasil:

Larutan Toluen jenuh air.

B. Prosedur Kadar sari Larut Air

1. Pembuatan Larutan air Jenuh Kloroform Alat:

Beaker Glass 500 mL 1 Buah., Beaker Glass 100 mL 1 Buah, Gelas Ukur 100 mL 1 Buah, Pipet Tetes, Pipet Volume 1 mL 1 Buah, Bulb, Batang Pengaduk, Lemari Asam.

Bahan:

Kloroform, Aquades 600 mL.

Prosedur Kerja:

1. Menyiapkan alat dan bahan dan membuat larutan tersebut dalam lemari asam
2. Mengukur toluene sebanyak 500 mL dalam gelas ukur 100 mL dengan 5 kali pengulangan.
3. Menuangkan toluene ke dalam beaker glass 600 mL.
4. Menambahkan aquades 1 mL ke dalam toluene 500 mL, kemudian diaduk.
5. Menutup dengan aluminium foil dan diamkan semalaman agar toluene jenuh dengan air.

Hasil:

Larutan campuran aquades dan kloroform.

2. Pemisahan Larutan Campuran Kloroform dan Aquadest Alat:

Beaker Glass 500 mL 1 Buah, Beaker Glass 100 mL 1 Buah, Corong Pisah 250 mL 2 Buah, Statif 2 Buah, Klem 2 Buah, Ring Stand 2 Buah.

Bahan:

Larutan campuran kloroform dan aquades 600 mL.

C. Analisis Kadar Sari Larut Etanol

1. Penimbangan dan Maserasi Sampel Alat:

Timbangan Analitik, Erlenmeyer 100 mL 2 Buah, Beaker Glass 100 mL 2 Buah, Spatel 1 Buah, Batang Pengaduk 1 Buah, Gelas Ukur 100 mL 1 Buah, Cawan Uap 125 mL 2 Buah.

Bahan:

Etanol 96% Pro Analisis, Ekstrak Daun Kait-Kait, Ekstrak Batang Kulit Kait-Kait, Simplisia Batang Kulit Kait-Kait, Simplisia Daun Kait-Kait, Ekstrak Daun Mangga dan Ekstrak Daun Murbei, Aluminium Foil, Kertas Perkamen.

Prosedur Kerja:

1. Menyalakan timbangan analitik kemudian ditara.
2. Memasukkan cawan uap atau kertas perkamen ke dalam timbangan analitik kemudian di tara.
3. Menimbang sampel berbentuk ekstrak menggunakan cawan uap dan menimbang sampel menggunakan kertas perkamen untuk sampel berbentuk simplisia.
4. Memasukkan sampel yang sudah ditimbang ke dalam erlenmeyer 100 mL dan beaker glass 100 mL.
5. Mengukur volume etanol 96% di dalam gelas ukur 100 mL sebanyak 100 mL, lalu memasukkan etanol 96% ke dalam beaker glass 100 mL dan erlenmeyer 100 mL, lalu segera ditutup dengan aluminium foil.
6. Diamkan selama 6 jam sambil diaduk atau dikocok setiap jamnya.
7. Setelah 6 jam, diamkan selama 18 jam.

Hasil:

Digunakan 4 sampel, yaitu simplisia daun kait-kait, simplisia batang kulit kait-kait, ekstrak daun kait-kait, dan ekstrak batang kulit kait-kait dengan berat penimbangan sampel adalah sebagai berikut:

- Berat Simplisia Daun Kait-Kait: 3 gram,
- Berat Simplisia Batang Kulit Kait-Kait: 3 gram,
- Berat Ekstrak Daun Kait-Kait: 3,0009 gram,
- Berat Ekstrak Batang Kulit Kait-Kait: 3,0089 gram,
- Berat Ekstrak Daun Mangga: 3 gram,
- Berat Ekstrak Daun Murbei: 3,0200 gram.

2. Penyaringan Sampel Alat:

Botol Vial 100 mL 4 Buah, Corong Kaca 75 mm 1 Buah, Klem 1 Buah, Statif 1 Buah, Ring Stand 1 Buah.

Bahan:

Filtrat Ekstrak Daun Kait-Kait, Filtrat Ekstrak Batang Kulit Kait-Kait, Filtrat Simplisia Daun Kait-Kait, Filtrat Simplisia Batang Kulit Kait-Kait, Kertas Saring 4 Lembar.

Prosedur Kerja:

1. Menyiapkan alat dan bahan.
2. Menuangkan setiap sampel perlahan-lahan ke corong kaca yang sudah diberikan kertas saring.

3. Ulangi sampai semua sampel selesai.

Hasil:

Digunakan 4 sampel, yaitu simplisia daun kait-kait, simplisia batang kulit kait-kait, ekstrak daun kait-kait, dan ekstrak batang kulit kait-kait. Setelah dilakukan penyaringan, filtrat dimasukkan ke dalam vial dan dilakukan penimbangan bobot vial dan sampel dengan hasil adalah sebagai berikut: Berat Botol Vial + Filtrat Simplisia Daun Kait-Kait: 166, 5493 gram, Berat Botol Vial + Simplisia Batang Kulit Kait-Kait: 162, 6519 gram, Berat Botol Vial + Ekstrak Daun Kait-Kait: 167, 6797 gram, Berat Botol Vial + Ekstrak Batang Kulit Kait-Kait: 162, 2683 gram.

4. Penguapan Filtrat dan Perhitungan Persentase Kadar Sari Larut Etanol Pada Replikasi I

Alat:

Cawan Uap 125 mL 1 Buah, Gelas Ukur 10 mL, Timbangan Analitik, Oven, Desikator.

Bahan:

Filtrat Simplisia Batang Kulit Kait-Kait, Aluminium Foil.

Prosedur Kerja:

1. Menyiapkan alat dan bahan.
2. Menimbang cawan uap kosong.
3. Mengukur filtrat sebanyak 20 mL dalam gelas ukur 10 mL dengan 2 kali pengulangan.
4. Menuangkan filtrat ke dalam cawan uap yang sudah ditimbang sebelumnya.
5. Menguapkan filtrat yang sudah berada di cawan uap dengan menggunakan oven pada suhu 105° C.
6. Mengeluarkan cawan uap berisi filtrat yang sudah kering dari oven dan dimasukkan ke desikator.
7. Setelah cawan uap dingin, timbang cawan uap dan catat bobot yang muncul pada timbangan.
8. Memasukkan kembali cawan uap ke dalam oven dan dilakukan penimbangan sampai diperoleh bobot konstan.
9. Setelah diperoleh bobot konstan, hitung persentase kadar sari larut etanol pada sampel.

Hasil:

Digunakan 1 sampel yaitu filtrat simplisia batang kulit kait-kait dengan hasil penimbangan dan perhitungan adalah sebagai berikut: Hasil penimbangan: Bobot cawan uap kosong: 47, 3816 gram, Bobot cawan uap + sampel setelah

penguapan pertama (I): 47, 4569 gram, Bobot cawan uap + sampel setelah penguapan kedua (II): 47, 4575 gram, Bobot cawan uap + sampel setelah penguapan ketiga (III): 47, 4568 gram. Bobot sampel: Bobot sampel I = 47, 4569 gram - 47, 3816 gram = 0,

0758 gram, Bobot sampel II = 47, 4575 gram - 47, 3816 gram = 0, 0759 gram, Bobot sampel III: 47, 4568 gram - 47, 3816 gram = 0, 0752 gram, Selisih penimbangan II dan III = 0, 0759 gram - 0,0752 gram = 0, 0007 gram. Hasil perhitungan kadar sari larut etanol pada replikasi I: 12, 53%

D. Prosedur Analisis Kadar Abu

1. Pengarangan Alat:

Timbangan Analitik, Hot Plate, Krusibel 30 ml, Tang Krusibel, Cawan uap 125 ml, Sendok tanduk, Desikator.

Bahan:

Simplisia Batang Kulit Kait-Kait, Simplisia Daun Kait-Kait, Ekstrak Batang Kulit Kait-Kait, Ekstrak Daun Kait-Kait, Ekstrak Daun Mangga, Ekstrak Daun Murbei, Kertas Perkamen.

Prosedur Kerja:

1. Siapkan alat dan bahan.
2. Timbang terlebih dahulu krusibel kosong di timbangan analitik.
3. Timbang sampel masing-masing sebanyak 2 gram, pada sampel ekstrak ditempatkan di cawan uap, sedangkan pada sampel simplisia ditempatkan di kertas perkamen.
4. Setelah semua ditimbang, masukkan sampel ke dalam krusibel masing-masing diberi nama yang sesuai.
5. Tutup krusibel dengan penutup krusibel.
6. Bawa krusibel menggunakan tang krusibel dan letakkan pada hotplate sampai tidak berasap dan menjadi arang selama kurang lebih 3 jam.
7. setelah itu letakkan krusibel di desikator selama semalaman untuk pendinginan.

Hasil:

Berat krusibel kosong: 19.8837 gram, Berat krusibel + sampel simplisia batang kulit kait-kait:26.5164 gram, Berat krusibel + sampel simplisia daun kait-kait: 26.5167 gram, Berat krusibel + sampel ekstrak daun kait-kait:26.5187 gram., Berat krusibel + sampel ekstrak batang kulit kait-kait:26.5527 gram, Berat krusibel + sampel ekstrak daun mangga: 26.561 gram, Berat krusibel + sampel ekstrak daun murbei: 26.5868 gram.

2. Penimbangan Alat:

Timbangan Analitik.

Bahan:

Krusibel + Sampel simplisia batang kulit kait-kait, Krusibel + Sampel simplisia

daun kait-kait, Krusibel + Sampel ekstrak batang kulit kait-kait, Krusibel+ Sampel ekstrak daun kait-kait, Krusibel + sampel ekstrak daun mangga, Krusibel + sampel ekstrak daun murbei.

Prosedur Kerja:

1. Siapkan alat dan bahan.
2. Timbang setiap krusibel+sampel pada timbangan analitik.

Hasil:

Simplisia Daun Kait-kait: 22.1329 gram, Simplisia Batang Kulit Kait-Kai: 22.6959 gram, Ekstrak Batang Kulit Kait-Kai: 23.7553 gram, Ekstrak Daun Kait-Kait: 23.6420 gram, Ekstrak Daun Mangga: 24.5579 gram, Ekstrak Daun Murbei: 28.7073 gram.

E. Prosedur Preparasi Sampel Cemarkan Mikroba ALT & AKK Alat :

Tabung Reaksi, Rak Tabung, Kapas, Plastik Wrap, Label, Cawan Petri, Kertas HVS, Oven, mikrotip, erlenmeyer, gelas ukur, timbangan analit, kertas perkamen, vortex Bahan :

NaCl 0,9%, sampel simplisia daun kait kait, sampel simplisia kulit batang kait-kait, sampel ekstrak daun kait-kait, sampel ekstrak kulit batang kait-kait

Prosedur Kerja :

1. Siapkan tabung reaksi berisi 9 ml NaCl 0,9% untuk serial pengenceran, kemudian tutup tabung reaksi dengan kapas dan bungkus menggunakan plastik wrap, dan siap untuk disterilkan.
2. Siapkan cawan petri yang sudah bersih, kemudian bungkus dengan kertas HVS, lalu sterilkan dengan alat oven sebagai sterilisasi cara kering, dengan suhu 160°C selama 2 jam.
3. Siapkan alat bahan yang sudah tutup kapas dan dibungkus plastik wrap, sterilkan dengan alat autoklaf sebagai sterilisasi cara basah, dengan suhu 121°C selama 30 menit.
4. Preparasi sampel ekstrak daun dait kait dan ekstrak kulit batang kait kait ditimbang sebanyak 1gr
5. Preparasi sampel simplisia daun dait kait dan simplisia kulit batang kait kait ditimbang sebanyak 1gr
6. Buat serial pengenceran ekstrak daun kait kait dari 10^{-1} hingga 10^{-5} . 1 gram sampel homogenkan dalam 9 ml NaCl 0,9% dengan bantuan vortex dalam tabung reaksi induk, yang kemudian di pipet sebanyak 1ml dari tabung induk kedalam tabung pengenceran 10^{-1} , dan seterusnya hingga pengenceran 10^{-5} . Dan dibuat 3x replikasi.
7. Buat serial pengenceran ekstrak kulit batang kait kait dari 10^{-1} hingga 10^{-5} . 1 gram sampel homogenkan dalam 9 ml NaCl 0,9% dengan bantuan vortex dalam tabung reaksi induk, yang kemudian di pipet sebanyak 1ml dari tabung induk kedalam tabung pengenceran 10^{-1} , dan seterusnya hingga pengenceran 10^{-5} . Dan dibuat 3x replikasi.

8. Buat serial pengenceran simplisia daun kait kait dari 10^{-1} hingga 10^{-5} . 1 gram sampel homogenkan dalam 9 ml NaCl 0,9% dengan bantuan vortex dalam tabung reaksi induk, yang kemudian di pipet sebanyak 1ml dari tabung induk kedalam tabung pengenceran 10^{-1} , dan seterusnya hingga pengenceran 10^{-5} . Dan dibuat 3x replikasi.

9. Buat serial pengenceran simplisia kulit batang kait kait dari 10^{-1} hingga 10^{-5} . 1 gram sampel homogenkan dalam 9 ml NaCl 0,9% dengan bantuan vortex dalam tabung reaksi induk, yang kemudian di pipet sebanyak 1ml dari tabung induk kedalam tabung pengenceran 10^{-1} , dan seterusnya hingga pengenceran 10^{-5} . Dan dibuat 3x replikasi.

F. Prosedur analisis cemaran mikroba ALT Alat:

Erlenmeyer, hot plate, aquadest, gelas ukur, media TSA, batang pengaduk, autoklaf, mikropipet, mikrotip, cawan petri, LAF, media steril, label, bunsen, oven.

Bahan:

media steril TSA (Tryptic Soy Agar) & serial pengenceran Prosedur kerja:

Diketahui

- Cara pembuatan media TSA menurut aturan pembuatan didalam kemasan media, yaitu 40gr/1000ml aquadest.

- Untuk 4 sampel membutuhkan 60 cawan petri, 1 cawan petri berisi $\pm$ 20 ml media, sehingga $60 \times 20\text{ml} = 1200\text{ml}$ media

- $40\text{gr}/1000\text{ml} \times 1200\text{ml} = 48 \text{ gr}$ media yang ditimbang dan dilarutkan dalam 1200ml aquadest.

Maka prosedur kerjanya:

1. Timbang serbuk media TSA (Tryptic Soy Agar) sebanyak 48 gram dan dilarutkan dalam 1200ml aquadest. Aduk hingga media menjadi transparan sambil dipanaskan di atas hot plate.

2. Sterilkan media yang sudah larut, dengan alat autoklaf sebagai sterilisasi basah

3. Inokulasikan 100 μL serial pengenceran sampel dari 10^{-1} hingga 10^{-5} dalam cawan petri yang sudah steril.

4. Tuang media sebanyak 20ml kedalam cawan petri steril berisi 100 μL serial pengenceran sampel, kemudian homogenkan dengan memutar cawan petri membentuk angka 8. Lalu tunggu media menjadi keras. Inokulasi sampel dan penuangan media kedalam cawan petri dilakukan sebanyak 3x replikasi.

5. Bungkus cawan petri dengan plastik wrap yang berisi media yang sudah keras, kemudian inkubasi didalam inkubator pada suhu 36°C selama 24-48 jam, lalu lakukan pengamatan.

Hasil

1. Simplisia Daun Kait - Kait

Tingkat Pengenceran (Standard Plate Count)	Total Koloni			Rata - Rata Koloni	SPC
	Rep 1	Rep 2	Rep 3		
10-1 4	3	2	3	$< 3,0 \times 10^2$	$(3,0 \times 10^2) CFU/gr$
10-2 2	1	1	1,33	$< 3,0 \times 10^3$	$(1,3 \times 10^3) CFU/gr$
10-3 1	1	0	1	$< 3,0 \times 10^4$	$(1,0 \times 10^3) CFU/gr$
10-4 0	0	0	0	$< 3,0 \times 10^5$	CFU/gr
10-5 0	0	0	0	$< 3,0 \times 10^6$	CFU/gr

Hasil uji ALT pada simplisia daun kait-kait menunjukkan nilai tertinggi sebesar $3,0 \times 10^2$ CFU/g. Nilai tersebut jauh di bawah batas maksimum ALT untuk simplisia, yaitu $\leq 5 \times 10^7$ CFU/g berdasarkan Peraturan BPOM Nomor 32 Tahun 2019. Oleh karena itu, simplisia daun kait-kait memenuhi persyaratan mutu mikrobiologi dan dinyatakan layak digunakan sebagai bahan baku obat tradisional dari aspek cemaran mikroba.

2. Simplisia Kulit Batang Kait - Kait

Total Koloni		SPC		
Tingkat Pengenceran	Rata - Rata			
Koloni	Rep 1	Rep 2	Rep 3	(Standard Plate Count)
10-1 4	0	2	3	$< 3,0 \times 10^2$
10-2 0	3	1	2	$(3,0 \times 10^2) CFU/gr$
10-3 2	0	0	2	$< 3,0 \times 10^3$
10-4 3	1	0	2	$(2,0 \times 10^3) CFU/gr$
10-5 1	1	0	1	$< 3,0 \times 10^4$
				$(1,0 \times 10^4) CFU/gr$

Hasil pengujian ALT pada simplisia kulit batang kait-kait menunjukkan nilai tertinggi sebesar $3,0 \times 10^2$ CFU/g. Hasil tersebut masih jauh di bawah batas maksimum ALT simplisia, yaitu $\leq 5 \times 10^7$ CFU/g sesuai Peraturan BPOM Nomor 32 Tahun 2019. Dengan demikian, simplisia kulit batang kait-kait telah memenuhi persyaratan keamanan mikrobiologi dan layak digunakan sebagai bahan baku obat tradisional.

3. Ekstrak Daun Kait - Kait

Tingkat Pengenceran (Standard Plate Count)	Total Koloni			Rata - Rata Koloni	SPC
	Rep 1	Rep 2	Rep 3		
10-1 3	1	0	2	$< 3,0 \times 10^2$	$(2,0 \times 10^2) CFU/gr$
10-2 1	0	2	1,5	$< 3,0 \times 10^3$	$(1,5 \times 10^3) CFU/gr$
10-3 0	1	0	1	$< 3,0 \times 10^4$	$(1,0 \times 10^4) CFU/gr$
10-4 1	0	0	1	$< 3,0 \times 10^5$	$(1,0 \times 10^5) CFU/gr$

10-5 0 0 0 0 $< 3,0 \times 10^6 \text{ CFU/gr}$

Hasil uji ALT pada ekstrak daun kait-kait menunjukkan nilai tertinggi sebesar $2,0 \times 10^2 \text{ CFU/g}$. Berdasarkan Peraturan BPOM Nomor 32 Tahun 2019, batas maksimum ALT untuk ekstrak adalah $\leq 1 \times 10^5 \text{ CFU/g}$. Oleh karena itu, nilai ALT yang diperoleh memenuhi persyaratan mutu mikrobiologi, sehingga ekstrak daun kait-kait dinyatakan aman dari aspek cemaran bakteri aerob dan layak digunakan sebagai bahan baku sediaan obat tradisional.

4. Ekstrak Kulit Batang Kait - Kait

Tingkat Pengenceran (Standard Plate Count)	Total Koloni			Rata - Rata Koloni	SPC
Rep 1 Rep 2 Rep 3					
10-1 0	3	3	3	$< 3,0 \times 10^2$	$(3,0 \times 10^2) \text{ CFU/gr}$
10-2 0	2	0	2	$< 3,0 \times 10^3$	$(2,0 \times 10^3) \text{ CFU/gr}$
10-3 0	2	0	2	$< 3,0 \times 10^4$	$(2,0 \times 10^4) \text{ CFU/gr}$
10-4 1	1	0	1	$< 3,0 \times 10^5$	$(1,0 \times 10^5) \text{ CFU/gr}$
10-5 0	0	0	0	$< 3,0 \times 10^6$	CFU/gr

Hasil pengujian ALT pada ekstrak kulit batang kait-kait menunjukkan nilai tertinggi sebesar $3,0 \times 10^2 \text{ CFU/g}$. Nilai tersebut masih berada jauh di bawah batas maksimum ALT untuk ekstrak, yaitu $\leq 1 \times 10^5 \text{ CFU/g}$ sesuai Peraturan BPOM Nomor 32 Tahun 2019. Dengan demikian, ekstrak kulit batang kait-kait memenuhi persyaratan keamanan dan mutu mikrobiologi, sehingga layak digunakan sebagai bahan baku obat tradisional berdasarkan parameter ALT.

G. Prosedur analisis cemaran mikroba AKK Alat:

Erlenmeyer, hot plate, aquadest, gelas ukur, media PDA (Potato Dextrose Agar), batang pengaduk, autoklaf, mikropipet, mikrotip, cawan petri, LAF, media steril, label, bunsen, oven.

Bahan:

media steril (Potato Dextrose Agar) & serial pengenceran

Prosedur kerja:

Diketahui

- Cara pembuatan media TSA menurut aturan pembuatan didalam kemasan media, yaitu 39gr/1000ml aquadest.

- Untuk 4 sampel membutuhkan 60 cawan petri, 1 cawan petri berisi $\pm 20 \text{ ml}$ media, sehingga $60 \times 20 \text{ ml} = 1200 \text{ ml}$ media

- $39 \text{ gr}/1000 \text{ ml} \times 1200 \text{ ml} = 46,8 \text{ gr}$ media yang ditimbang dan dilarutkan dalam 1200ml aquadest

- Antibiotik kloramfenikol 250mg kapsul. Jika ingin membuat 50mg/1000ml dalam 1200ml media, maka kloramfenikol yang ditimbang adalah 60mg atau 0,06gr.

- 0,06 gr kloramfenikol dibasahkan dengan sedikit NaCl 0,9% steril.

Maka prosedur kerjanya:

1. Timbang serbuk media (Potato Dextrose Agar) sebanyak 46,8 gram dan dilarutkan dalam 1200ml aquadest. Aduk hingga media menjadi transparan sambil dipanaskan di atas hot plate.
2. Sterilkan media yang sudah homogen, dengan alat autoklaf sebagai sterilisasi basah.
3. Timbang kloramfenikol yang dibutuhkan untuk dicampurkan ke media PDA, yaitu sebanyak 0,06 gr.
4. Basahkan sedikit kloramfenikol dengan NaCl 0,9% didalam beaker yang sudah steril.
5. Masukkan kloramfenikol yang sudah dibasahkan dengan NaCl 0,9% kedalam media yang hangat.
6. Aduk ad homogen media yang sudah diberi kloramfenikol hingga tidak ada serbuk putih/serbuk kloramfenikol didalam media.
7. Inokulasikan 100 μ L serial pengenceran sampel dari 10^{-1} hingga 10^{-5} dalam cawan petri yang sudah steril.
8. Tuang media sebanyak 20ml kedalam cawan petri steril berisi 100 μ L serial pengenceran sampel, kemudian dihomogenkan dengan memutar cawan petri membentuk angka 8. Lalu tunggu media menjadi keras. Inokulasi sampel dan penuangan media kedalam cawan petri dilakukan sebanyak 3x replikasi.
9. Bungkus cawan petri dengan plastik wrap yang berisi media yang sudah keras, kemudian inkubasi di suhu 20-25°C selama 4 hari, lalu lakukan pengamatan

Hasil

1. Simplisia Daun Kait - Kait

Tingkat Pengenceran Total Koloni Rata - Rata Koloni SPC
(Standard Plate Count)

	Rep 1	Rep 2	Rep 3	
10-1 0	0	1	1	$< 3,0 \times 10^2$ ($1,0 \times 10^2$) CFU/gr
10-2 0	0	1	1	$< 3,0 \times 10^3$ ($1,0 \times 10^3$) CFU/gr
10-3 0	0	0	0	$< 3,0 \times 10^4$ CFU/gr
10-4 0	0	0	0	$< 3,0 \times 10^5$ CFU/gr
10-5 0	0	0	0	$< 3,0 \times 10^6$ CFU/gr

Berdasarkan hasil pengujian AKK, simplisia daun kait-kait menunjukkan jumlah koloni yang sangat rendah. Pada pengenceran 10^{-1} dan 10^{-2} diperoleh rata-rata masing-masing 1 koloni, sedangkan pada pengenceran 10^{-3} sampai 10^{-5} tidak ditemukan pertumbuhan koloni. Nilai AKK berdasarkan hasil perhitungan adalah $< 3,0 \times 10^2$ CFU/g (perkiraan $1,0 \times 10^2$ CFU/g). Nilai tersebut masih jauh di bawah batas AKK $\leq 5 \times 10^5$ koloni/g menurut Peraturan BPOM No.

32 Tahun 2019. Dengan demikian, simplisia daun kait-kait memenuhi persyaratan cemaran kapang dan khamir berdasarkan parameter AKK.

2. Simplisia Kulit Batang Kait - Kait

Tingkat Pengenceran (Standard Plate Count)	Total Koloni			Rata - Rata Koloni	SPC
	Rep 1	Rep 2	Rep 3		
10-1	0	0	1	1	$< 3,0 \times 10^2$ ($1,0 \times 10^2$) CFU/gr
10-2	0	0	0	0	$< 3,0 \times 10^3$ CFU/gr
10-3	0	0	0	0	$< 3,0 \times 10^4$ CFU/gr
10-4	0	0	0	0	$< 3,0 \times 10^5$ CFU/gr
10-5	0	0	0	0	$< 3,0 \times 10^6$ CFU/gr

Hasil pengujian menunjukkan bahwa simplisia kulit batang kait-kait memiliki jumlah koloni yang sangat rendah. Pada pengenceran 10^{-1} diperoleh rata-rata 1 koloni, sedangkan pada pengenceran 10^{-2} hingga 10^{-5} tidak ditemukan pertumbuhan koloni. Nilai AKK yang diperoleh adalah $< 3,0 \times 10^2$ CFU/g (perkiraan $1,0 \times 10^2$ CFU/g). Hasil tersebut berada jauh di bawah batas maksimum AKK $\leq 5 \times 10^5$ koloni/g berdasarkan Peraturan BPOM No. 32 Tahun 2019. Oleh karena itu, simplisia kulit batang kait-kait memenuhi persyaratan cemaran kapang dan khamir berdasarkan parameter yang diuji.

3. Ekstrak Daun Kait - Kait

Tingkat Pengenceran (Standard Plate Count)	Total Koloni			Rata - Rata Koloni	SPC
	Rep 1	Rep 2	Rep 3		
10-1	TBUD	32	22	27	$< 3,0 \times 10^2$ ($2,7 \times 10^2$) CFU/gr
10-2	1	2	150	51	$5,1 \times 10^3$ CFU/gr
10-3	0	0	0	0	$< 3,0 \times 10^4$ CFU/gr
10-4	0	0	0	0	$< 3,0 \times 10^5$ CFU/gr
10-5	0	0	0	0	$< 3,0 \times 10^6$ CFU/gr

Pada ekstrak daun kait-kait, pertumbuhan koloni lebih tinggi dibandingkan ketiga sampel lainnya. Pada pengenceran 10^{-1} diperoleh rata-rata 27 koloni, sedangkan pada pengenceran 10^{-2} diperoleh rata-rata 51 koloni. Berdasarkan tabel, nilai SPC yang digunakan adalah $5,1 \times 10^3$ CFU/g. Nilai tersebut masih jauh lebih rendah dibandingkan batas AKK $\leq 5 \times 10^5$ koloni/g yang ditetapkan dalam Peraturan BPOM No. 32 Tahun 2019. Dengan demikian, ekstrak daun kait-kait memenuhi persyaratan cemaran kapang dan khamir berdasarkan parameter AKK, meskipun memiliki jumlah cemaran paling tinggi dibandingkan sampel lainnya.

4. Ekstrak Kulit Batang Kait - Kait

Tingkat Pengenceran (Standard Plate Count)	Total Koloni			Rata - Rata Koloni	SPC
	Rep 1	Rep 2	Rep 3		
10-1	1	0	0	1	$< 3,0 \times 10^2$ ($1,0 \times 10^2$) <i>CFU/gr</i>
10-2	1	0	0	1	$< 3,0 \times 10^3$ ($1,0 \times 10^3$) <i>CFU/gr</i>
10-3	0	0	0	0	$< 3,0 \times 10^4$ <i>CFU/gr</i>
10-4	0	0	0	0	$< 3,0 \times 10^5$ <i>CFU/gr</i>
10-5	0	0	0	0	$< 3,0 \times 10^6$ <i>CFU/gr</i>

Hasil pengujian AKK pada ekstrak kulit batang kait-kait menunjukkan jumlah koloni yang sangat rendah. Pada pengenceran 10^{-1} dan 10^{-2} diperoleh rata-rata 1 koloni, sedangkan pada pengenceran 10^{-3} hingga 10^{-5} tidak ditemukan pertumbuhan koloni. Nilai AKK berdasarkan tabel adalah $< 3,0 \times 10^2$ CFU/g (perkiraan $1,0 \times 10^2$ CFU/g). Nilai tersebut jauh di bawah batas maksimum AKK $\leq 5 \times 10^5$ koloni/g berdasarkan Peraturan BPOM No. 32 Tahun 2019. Oleh karena itu, ekstrak kulit batang kait-kait memenuhi persyaratan cemaran kapang dan khamir berdasarkan parameter AKK.