

DAYA INHIBISI TRIPSIN BEBERAPA EKSTRAK TANAMAN SUKU LEGUMINOSA

Sri Hartati* dan Hadiman**

* Puslitbang Kimia Terapan LIPI Kawasan PUSPIPTK Serpong Tangerang 15310

** Fakultas MIPA, Universitas Padjadjaran, Bandung

INTISARI

Dalam usaha mencari inhibitor protease yang potensial, khususnya yang menghambat keaktifan tripsin telah dilakukan penapisan pendahuluan terhadap beberapa ekstrak tumbuhan suku Leguminosa. Dari 9 (sembilan) ekstrak tumbuhan yang diteliti ternyata yang potensial menghambat keaktifan tripsin adalah ekstrak daun dan kulit dari kaliandra (*Caliandra haetocephala*), dan bunga merak (*Caesalpinia pulcherima*), dan ekstrak kulit flamboyan (*Delonix regia*), petai cina (*Leucaena glauca*), dan turi putih (*Sesbania grandiflora*).

Hasil analisis secara kromatografi lapis tipis dari ekstrak daun dan ekstrak kulit batang tumbuhan tersebut yang dianggap mempunyai keaktifan menghambat yang paling potensial memberikan dugaan bahwa senyawa aktifnya berasal dari golongan senyawa peptida dan polifenol.

ABSTRACT

In search of potensial protease inhibitor, especially those which inhibit trypsin activity, preliminary screening of some plant extracts of Leguminosae family has been carried out. From 9 (nine) plant extracts examined, those which gave potential enzyme inhibition, were leaf and bark extracts of *Caesalpinia pulcherima*, and *Caliandra chaemotocephala*, and bark extract of *Delonix regia*, *Leucaena glauca*, and *Sesbania grandiflora*.

Thin layer chromatographic analysis of the leaf and bark extracts of the plants considered to have the most potensial inhibitor activity indicated that the active principles were of peptide and polyphenolic compounds.

PENDAHULUAN

Zat-zat yang bersifat menghambat aktivitas enzim proteolitik tertentu telah banyak ditemukan dalam tumbuh-tumbuhan terutama dalam Leguminosa (15) seperti kacang-kacangan, juga pada padi-padian dan umbi-umbian (9,10).

Read dan Heas (2) yang pertama kali mengenal adanya inhibitor tripsin dalam tanaman, telah mengamati adanya inhibitor tripsin dalam ekstrak air tepung kedele. Selanjutnya Kunitz berhasil mengisolasi kristalnya yang dikenal sebagai inhibitor Kunitz.

Inhibitor protease, khususnya terhadap tripsin telah banyak menarik perhatian para peneliti dalam banyak

disiplin ilmu. Antara lain sifat farmakologis yang khas dan banyak ditemukan sebagai anti tumor (11) dari inhibitor tersebut memberikan harapan yang besar pada penggunaan klinis. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa pada urine penderita kanker jumlah enzim protease lebih besar dari pada yang normal.

Penelitian adanya inhibitor tripsin dari beberapa ekstrak tanaman suku leguminosa telah dilakukan dengan menggunakan sistem hidroksil amin-ferriklorida menurut metoda Aoyogi *et al*, (11), dan pada tulisan berikut ini akan dikemukakan hasil percobaan yang dilakukan dengan beberapa tanaman suku Leguminosa yang ada di Indonesia.

PERCOBAAN

Tanaman

Digunakan kulit batang kayu dan daun dari beberapa tanaman suku Leguminosa yang diambil dari koleksi Departemen Biologi ITB, Bandung. Tanaman tersebut adalah 1. Flamboyan (*Delonix regia* RAFIN.); 2. Turi putih (*Sesbania grandiflora* PERS.); 3. Petai Cina (*Leucaena glauca* BTH.); 4. Kaliandra (*Kaliandra haemotocephala*); 5. Dadap (*Erythrina indica* LAM.); 6. Bunga merak (*Caesalpinia pulcherima* Swartz); 7. Bunga kupu-kupu (*Bauhinia purpurea*); 8. Kacang babi (*Tephrosia vogelii* HOOK.); 9. Kihujan (*Pithecolobium saman* PRIN.).

Bahan Kimia

Bahan kimia yang dipergunakan adalah kualitas pro analisa dari E. Merck dan SIGMA.

Larutan buffer tris - HCl

[Tris (hidroksimetil) amina metan] 1,21 g dan 0,5 g $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, keduanya dilarutkan dalam air suling kemudian pH diatur dengan HCl 0,1 N (10 - 15 tetes) sampai pH 8,2 dan diencerkan sampai 200 ml dengan air suling.

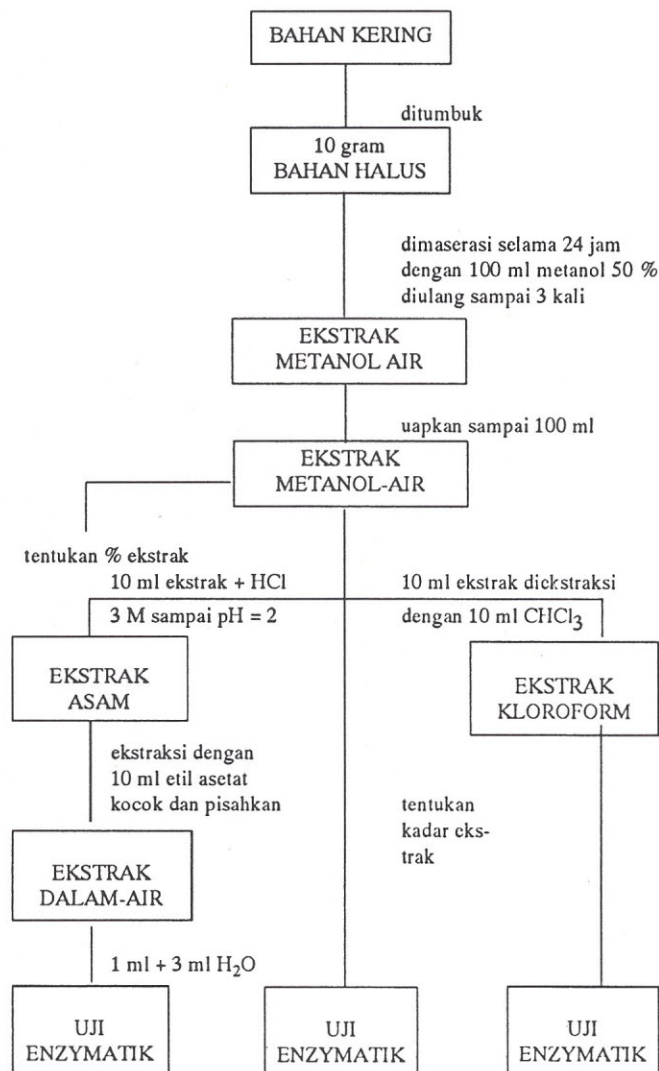
Tripsin (Difco Co. USA)

2 mg tripsin dilarutkan dalam 10 ml buffer tris - HCl. TAME (p-tosyl-arginine methyl ester hydrochloride) 1 M Sebagai substrat sintesis yang diperoleh dari Tokyo Kasei Kogyo Co, Jepang. 0,189 g TAME dilarutkan dalam 5 ml buffer tris-HCl.

Ekstraksi

Daun dan kulit pohon yang dikumpulkan ditentukan dahulu kadar airnya sebelum dikeringkan di udara kemudian ditumbuk halus, selanjutnya diperlakukan seperti pada Skema - 1.

Skema - 1 Percobaan uji enzimatik



Penentuan kadar ekstrak

Satu ml ekstrak tanaman diuapkan dalam penangas air sampai kering, kemudian didinginkan dalam eksikator lalu ditimbang beratnya sampai konstan dan persentase ekstrak dihitung.

Uji enzimatik

1. Ekstrak dalam air

Kedalam masing-masing ekstrak 10 µl, 25 µl, 50 µl, 100 µl, 200 µl yang telah dikeringkan tambahkan 350 µl buffer tris-HCl dan 100 µl larutan TAME, dikocok kemudian dimasukkan kedalam inkubator suhu 37°C, tambahkan larutan tripsin, inkubasi selama 15 menit. Ditambahkan 1 ml larutan hidroksil amin dalam NaOH

simpan dalam suhu kamar selama 25 menit, kemudian ditambahkan 0,5 ml larutan triklorasetat. Pipet larutan tersebut 1 ml lalu ditambah larutan FeCl₃ 0,2 M, ukur absorbans pada panjang gelombang 525 um dengan spektrofotometer. Sebagai pembanding dilakukan sistim reaksi tanpa inhibitor (ekstrak tanaman). Produk akhir hasil reaksi enzimatis akan memberikan warna merah dengan FeCl₃. Daya inhibisi diperoleh dengan cara menghitung produk dalam reaksi sistim tanpa inhibitor (a) dan produk dalam reaksi sistim dengan inhibitor (ekstrak tanaman) (b), dimana % inhibisi adalah $(a-b)/a \times 100 \%$ (11).

2. Ekstrak dalam kloroform

Dipipet 10 ml ekstrak air, dimasukkan kedalam corong pisah 50 ml ditambah 10 ml, kloroform kocok sampai homogen, kemudian dibiarkan sampai terpisah antara fasa air dan fasa kloroform. Fasa kloroform dipisahkan dari fasa air lalu ditentukan kadar ekstrak dalam kloroform. Ekstrak kloroform ini dipipet sehingga masing-masing mengandung kadar ekstrak 100 µg/ml dan dilakukan uji enzimatik seperti diatas.

3. Ekstrak asam

Dipipet 10 ml ekstrak dalam air, diasamkan dengan HCl 3 M sampai pH 2, dimasukkan kedalam corong pisah, dikocok dengan 10 ml etil asetat sampai homogen, dibiarkan sampai terpisah kembali antara kedua fasa tersebut, kemudian diambil 1 ml ekstrak dalam fasa air, diencerkan dengan air suling sampai 3 ml, dipipet hasil pengenceran tersebut masing-masing 20 µl dan 50 µl, dan dilakukan uji enzimatik seperti di atas.

Analisa kromatografi lapis tipis

Percobaan kromatografi lapis tipis ekstrak asal dari daun dan kulit batang dilakukan pada silika gel G 60 dengan larutan pengelusi n-butil alkohol : alkohol : air (4 : 1 : 1) v/v, deteksi noda (7) dilakukan dengan cara-cara (1) pemeriksaan dibawah lampu UV, (2) dengan pereaksi FeCl₃ 1 % dalam alkohol, (3) dengan pereaksi Ninhidrin, (4) dengan pereaksi Vanilin sulfat, dan (5) dengan uap iodium.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Untuk mengetahui kebenaran dari bahan tanaman yang diteliti, terlebih dahulu dilakukan determinasi di Departemen Biologi ITB dan dibandingkan dengan literatur (1). Hasil determinasi menunjukkan bahwa semua tanaman yang diteliti termasuk Leguminosa.

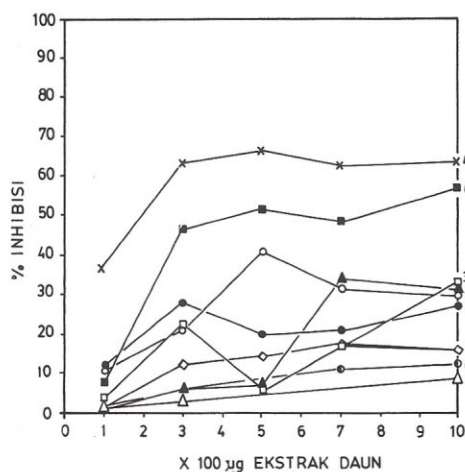
Pada umumnya susut pengeringan dari daun lebih besar dari pada kulit batang, yang menyatakan bahwa kelebihan air dalam daun diperlukan untuk proses fotosintesis (Tabel 1).

Hasil uji enzimatik dalam berbagai ekstrak dapat dilihat dalam Tabel 2, 3 dan 4. Hasil pemeriksaan daya inhibisi dari ekstrak tanaman dalam metanol ditunjukkan pada

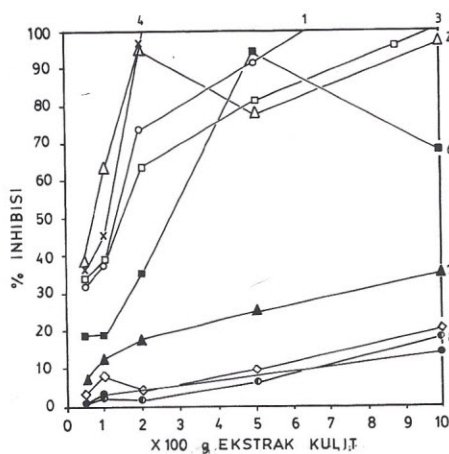
Tabel 1. Pengeringan bahan dan residu ekstrak

No.	Nama Tanaman	Persen Air (b/b)		Persen Ekstrak (b/v)	
		Daun	Kulit	Daun	Kulit
1.	Flamboyan	59,31	49,57	3,82	1,56
2.	Turi putih	75,57	75,71	3,32	1,74
3.	Petai Cina	68,54	62,35	3,32	1,74
4.	Kaliandra	55,20	50,12	1,86	1,19
5.	Dadap	79,95	75,50	2,53	1,25
6.	Bunga merak	65,42	58,02	3,49	2,25
7.	Bunga kupu-kupu	64,40	65,02	2,13	2,69
8.	Kacang babi	62,99	73,08	2,36	2,25
9.	Kihujan	48,93	43,86	3,09	1,35

Gambar 1 dan 2. Secara keseluruhan terlihat bahwa ekstrak tanaman yang diteliti sekurang-kurangnya mengandung inhibitor tripsin dan daya inhibisi ini sebanding dengan kenaikan konsentrasi. Dari Gambar 1 daya inhibisi yang



Gambar 1. Daya inhibisi tripsin dari ekstrak daun, ○ (1) Flamboyan, △ (2) Turi putih, □ (3) Petai Cina, x (4) Kaliandra, ● (5) Dadap, ■ (6) Bunga merak, ▲ (7) Bunga kupu-kupu, ⊙ (8) Kacang babi, ◇ (9) Kihujan.



Gambar 2. Daya inhibisi tripsin dari ekstrak kulit, ○ (1) Flamboyan, △ (2) Turi putih, □ (3) Petai Cina, x (4) Kaliandra, ● (5) Dadap, ■ (6) Bunga merak, ▲ (7) Bunga kupu-kupu, ⊙ (8) Kacang babi, ◇ (9) Kihujan.

paling menonjol adalah dari ekstrak daun kaliandra dan bunga merak, dengan kadar ekstrak diatas 300 µg daya inhibisi diatas 50 %. Ekstrak kulit batang flamboyan, petai Cina, Turi putih dan bunga merak memiliki daya inhibisi tripsin cukup potensial yang dapat dilihat dalam Gambar 2. Dari ekstrak kulit tersebut diatas rata - rata menghambat lebih besar dari 50 % untuk kadar ekstrak kasar lebih besar dari 200 µg.

Tabel 2. Daya inhibisi dari ekstrak daun dan kulit hasil ekstraksi dengan kloroform per100 µg

No. Nama tanaman	Daun		Kulit	
	Kadar ekstrak (ug/ml)	Persen inhibisi /100 ug	Kadar ekstrak (ug/ml)	Persen inhibisi /100 ug
1. Flamboyan	1800	2	2600	-
2. Turi putih	1400	8	2000	-
3. Petai Cina	4000	37	3700	6
4. Kaliandra	3000	24	1800	-
5. Dadap	3600	11	2600	1
6. Bunga merak	4600	22	5200	1
7. Bunga kupu-kupu	1400	9	1600	-
8. Kacang babi	3600	9	5000	2
9. Kihujan	4300	1	2100	-

Tabel 3. Daya inhibisi ekstrak daun dan kulit batang dalam ekstrak air setelah ditarik dengan etil asetat pada pH 2.

No. Nama Tanaman	Persen inhibisi ekstrak daun		Persen inhibisi ekstrak kulit	
	20 ul	50 ul	20 ul	50 ul
1. Flamboyan	15	21	20	27
2. Turi putih	-	6	14	25
3. Petai Cina	6	22	25	27
4. Kaliandra	12	18	18	51
5. Dadap	11	17	-	2
6. Bunga merak	14	31	18	25
7. Bunga kupu-kupu	-	-	-	6
8. Kacang babi	-	6	-	5
9. Kihujan	-	2	2	7

Tabel 4. Daya inhibisi ekstrak kering metanol-air dari daun dan kulit

No. Nama Tanaman	Daun		Kulit	
	Ekstrak kering (ug)	Persen inhibisi	Ekstrak kering (ug)	Persen inhibisi
1. Flamboyan	100	11	50	32,7
	300	21	100	38,5
	500	41	200	74,4
	700	31,5	500	91,1
	1000	30	1000	>100
2. Turi putih	100	2	50	38,9
	300	3,5	100	64,6
	500	-	200	95,8
	700	-	500	78,4
	1000	9,1	1000	97,49
3. Petai Cina	100	4	50	34,5
	300	22,5	100	39,3
	500	6	200	64,4
	700	16,9	500	81,61
	1000	33,1	1000	>100
4. Kaliandra	100	37	50	36,3
	300	63,9	100	46,5
	500	67,2	200	97,4
	700	63,2	500	>100
	1000	64,5	1000	-

No. Nama Tanaman	Daun		Kulit	
	Ekstrak kering (µg)	Persen inhibisi	Ekstrak kering (µg)	Persen inhibisi
5. Dadap	100	12	50	1
	300	28,4	100	3
	500	20	200	-
	700	21	500	-
	1000	27,7	1000	14,6
6. Bunga merak	100	8,6	50	19,6
	300	47,4	100	19,6
	500	52	200	35,7
	700	48,9	500	94,4
	1000	57,3	1000	68,3
7. Bunga kupu-kupu	100	1,4	50	5,7
	300	6,7	100	12,5
	500	7	200	17,8
	700	34,1	500	25,3
	1000	31	1000	34,9
8. Kacang babi	100	1,4	50	0,7
	300	5,8	100	2,1
	500	-	200	2,4
	700	10,7	500	7,1
	1000	12,7	1000	17,8
9. Kihujan	100	2,9	50	3,3
	300	12,8	100	8
	500	14,6	200	4,5
	700	18,1	500	9
	1000	15,5	675	15

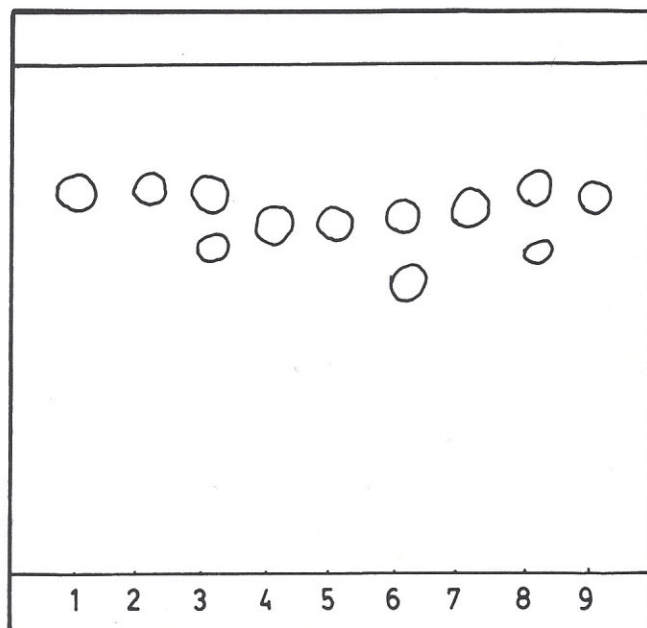
- = nilai inhibisi tidak terdeteksi

Kadar ekstrak paling tinggi dari hasil penyarian ekstrak alkohol dengan kloroform, baik dalam daun maupun kulit adalah bunga merak (Tabel 2). Jika dilihat secara keseluruhan, persen inhibisi umumnya dibawah 50 %, tetapi bila dibandingkan diantaranya adalah ekstrak daun petai cina yang menunjukkan persen inhibisi paling tinggi yaitu (37 %) disusul oleh kaliandra (24 %), bunga merak 22 % dan dadap (11 %). Dengan kadar ekstrak yang sama daya inhibisi tersebut tidak banyak berbeda bila dibandingkan dengan ekstrak dalam air (Tabel 4). Jadi keempat tanaman tersebut memang cukup potensial menghambat kerja enzim tripsin baik dalam ekstrak metanol maupun dalam ekstrak kloroform.

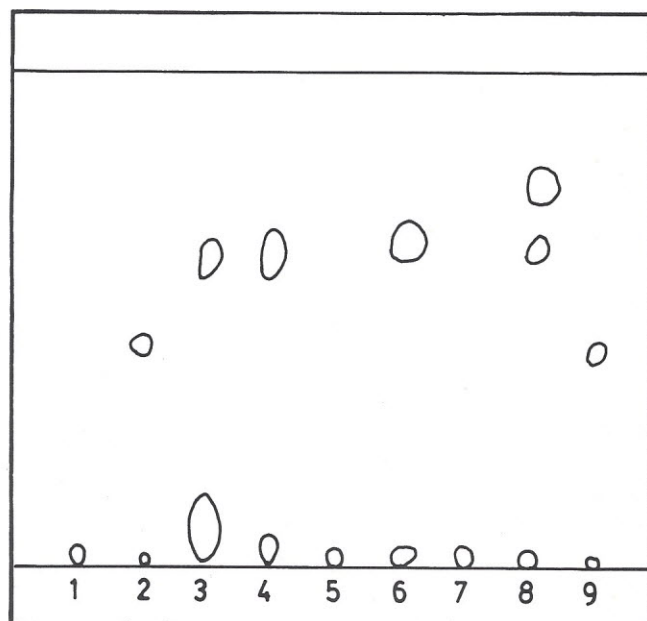
Hasil pengamatan uji enzimatik ekstrak asam dapat dilihat pada Tabel 3. Persen inhibisi pada ekstrak daun umumnya menunjukkan daya inhibisi tetapi beberapa ekstrak tidak menunjukkan hambatan sama sekali misalnya dari ekstrak daun bunga kupu-kupu. Terlihat bahwa daya inhibisi pada kaliandra masih tetap menonjol.

Apabila daya inhibisi dikaitkan dengan hasil kromatografi lapis tipis (KLT), akan diperoleh gambaran kemungkinan-kemungkinan kelompok senyawa mana yang mempunyai daya inhibisi tersebut. Ekstrak daun umumnya memberi noda spesifik berwarna merah -muda apabila hasil KLT diamati dibawah lampu UV (Gambar 3). Noda-noda tersebut diperkirakan kelompok fenolik (7). Tetapi

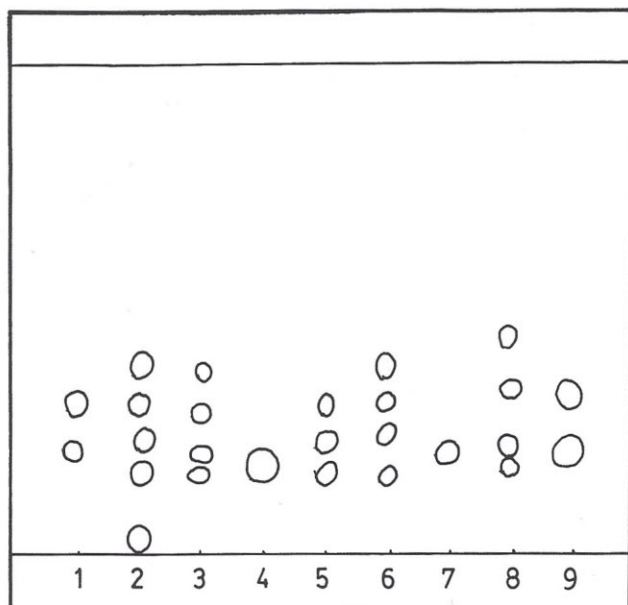
banyaknya peptida pada ekstrak daun (Gambar 5) merupakan salah satu kelompok lain yang mempunyai kaitan dengan daya inhibisi terhadap kerja enzim tripsin. Beberapa inhibitor diketahui merupakan suatu protein (15). Hasil dari Gambar 4 dan 6 ini menunjukkan adanya kelompok



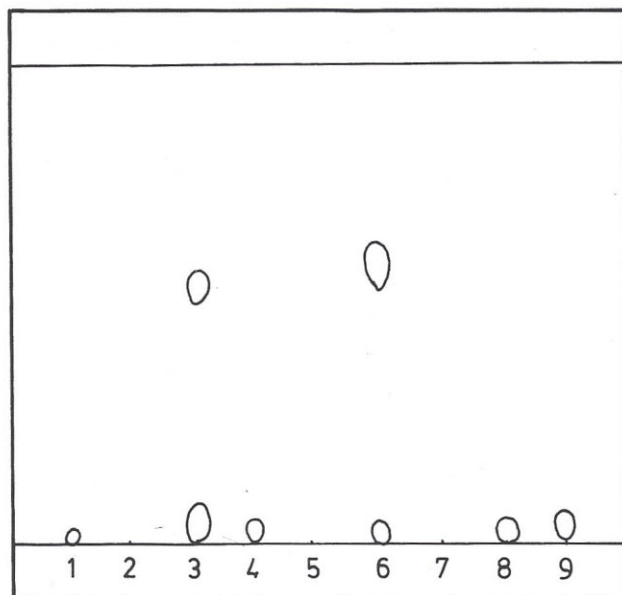
Gambar. 3 Kromatogram KLT ekstrak daun pada silika gel G 60, eluen dengan n-butyl-alkohol: alkohol: air (4: 1: 1 v/v), deteksi noda dengan sinar UV, 1 s/d 9 nama tanaman menurut urutan pada Tabel 4.



Gambar. 4 Kromatogram KLT ekstrak daun, pada silika gel G 60, eluen dengan n-butyl-alkohol: alkohol: air (4:1:1 v/v), deteksi noda dengan larutan FeCl_3 1 % dalam alkohol, 1 s/d 9 nama tanaman menurut urutan pada Tabel 4.



Gambar. 5 Kromatogram KLT ekstrak daun, pada silika gel G 60, eluen dengan n-butyl-alkohol: alkohol: air (4:1:1 v/v), deteksi noda dengan larutan ninhidrin, 1 s/d 9 nama tanaman menurut urutan pada Tabel 4.

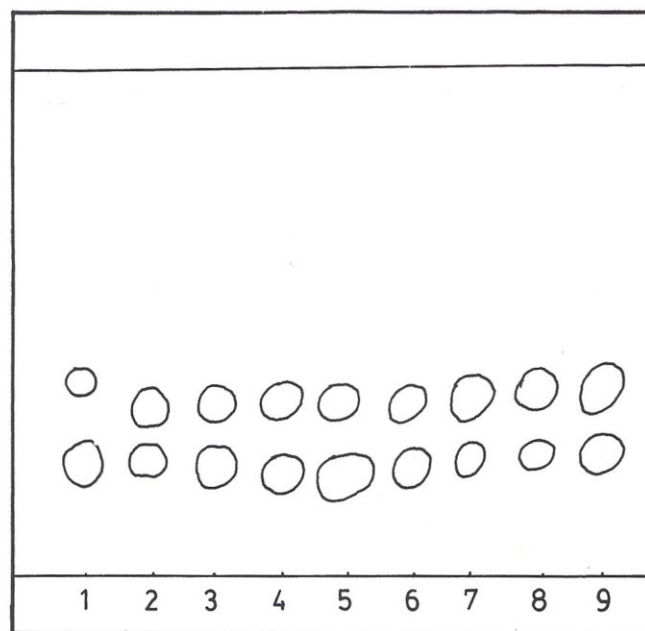


Gambar. 6 Kromatogram KLT ekstrak daun, pada silika gel G 60, eluen dengan n-butyl-alkohol: alkohol: air (4:1:1 v/v), deteksi noda dengan uap Iodium, 1 s/d 9 nama tanaman menurut urutan pada Tabel 4.

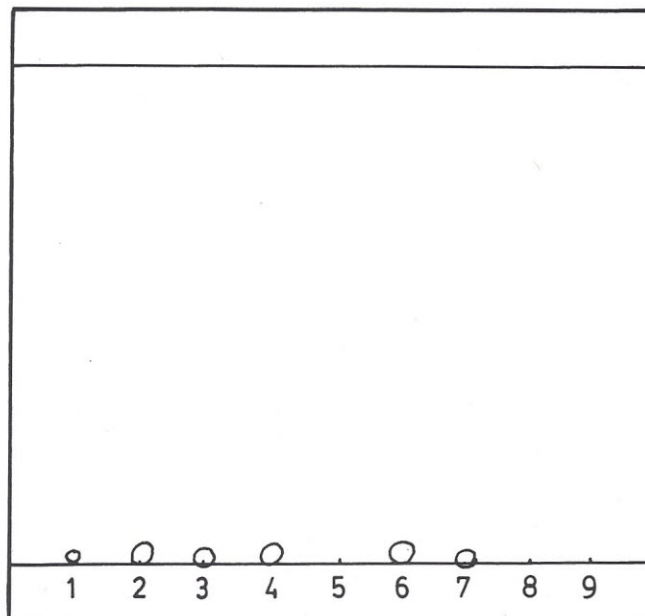
senyawa polifenol (6). Namun, dari gambar tersebut sulit menyatakan bagaimana kaitannya dengan daya inhibisi masing-masing ekstrak daun karena besarnya dan banyaknya noda tidak dapat dikaitkan dengan daya inhibisi masing-masing ekstrak daun.

Hasil KLT ekstrak kulit batang, memperlihatkan adanya kelompok yang mempunyai noda dalam pengamatan cara

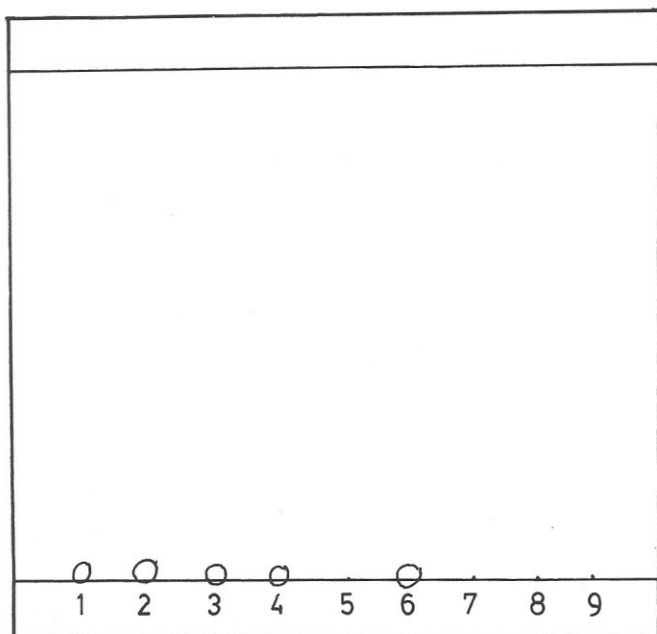
visual (Gambar 8) dan dengan pereaksi FeCl_3 (Gambar 9), dengan nilai inhibisi yang tinggi sedangkan ekstrak tanaman dadap, bunga kupu-kupu, kacang babi dan kihujan tidak memberikan noda dan menunjukkan daya inhibisi yang rendah dibandingkan dengan kelompok ekstrak kulit tersebut yang memberikan noda. Jadi diperkirakan kelompok polifenol dari ekstrak kulit ini dapat dikaitkan dengan daya inhibisi kerja enzim tripsin tersebut.



Gambar. 7 Kromatogram KLT ekstrak kulit, pada silika gel G 60, eluen dengan n-butyl-alkohol: alkohol: air (4:1:1 v/v), deteksi noda dengan larutan ninhidrin, 1 s/d 9 nama tanaman menurut urutan pada Tabel 4.

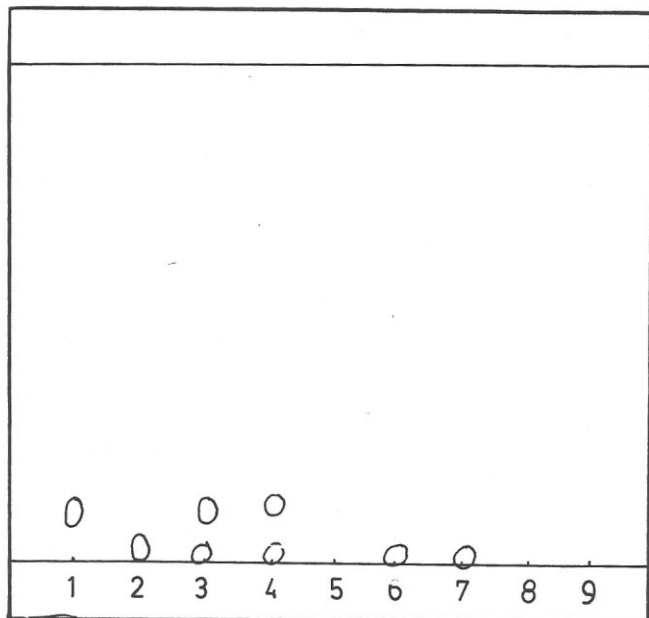


Gambar. 8 Kromatogram KLT ekstrak kulit batang, pada silika gel G 60, eluen n-butyl-alkohol: alkohol: air (4:1:1 v/v), deteksi noda secara visual, 1 s/d 9 nama tanaman menurut urutan pada Tabel 4.



Gambar. 9 Kromatogram KLT ekstrak kulit batang, pada silika gel G 60, eluen n-butyl-alkohol: alkohol: air (4:1:1 v/v), penampakan noda dengan larutan FeCl_3 1% dalam alkohol, 1 s/d 9 nama tanaman menurut urutan pada Tabel 4.

Hasil KLT dengan pereaksi ninhidrin (Gambar 10) menunjukkan bahwa semua ekstrak kulit batang menampakkan noda baik dengan Rf dan luas noda relatif sama. Sehingga dalam hal ini hasil KLT dengan pereaksi ninhidrin tidak dapat dikaitkan dengan daya inhibisi.



Gambar. 10 Kromatogram KLT ekstrak kulit batang, pada silika gel G 60, eluenn-butyl-alkohol: alkohol: air (4:1:1 v/v), penampakan noda dengan larutan vanilin-asam sulfat, 1 s/d 9 nama tanaman menurut urutan pada Tabel 4.

Nilai R_f dan warna noda yang ditunjukkan dalam Gambar 3 sampai dengan Gambar 10, secara keseluruhan dirangkum dalam Tabel 5 dan 6.

Tabel 5. Nilai R_f dan warna noda dari hasil kromatografi lapis tipis dari ekstrak daun dengan sistim pelarut n-butyl-alkohol : alkohol : air (4 : 1 : 1 v/v), plat silika gel G 60 0,2 mm, deteksi noda dengan larutan ninhidrin, sinar UV, larutan FeCl_3 dan uap I_2 .

Tanaman	Cara deteksi			
	UV	FeCl_3	Ninhidrin	Uap I_2
1. Flamboyan	75 (mm)	1,1 (bm)	19 (v) 29 (mv)	1,1 (c)
2. Turi putih	75 (mm)	1,1 (bm) 43 (bm)	3 (mv) 15 (v) 22 (mv) 29 (mv) 38 (mv)	—
3. Petai cina	75 (hd) 64 (mc)	7,7 (bm) 43 (bm)	15 (mv) 19 (v) 29 (mv) 38 (mv)	5 (c) 54 (c)
4. Kaliandra	68 (mm)	2,2 (bm) 43 (bm)	18 (v)	3 (c)
5. Dadap	68 (mm)	1,1 (bm)	15 (mv) 21 (mv) 29 (mv)	—
6. Bunga merak	71 (mm) 57 (mm)	1,1 (bm) 65 (bm)	14 (mv) 22 (mv) 29 (mv) 39 (mv)	3 (c) 58 (c)
7. Bunga kupu-kupu	72 (mm)	2,2 (bm)	29 (mv)	—
8. Kacang babi	75 (hd) 64 (hd)	1,1 (bm) 63 (bm) 76 (bm)	16 (mv) 21 (v) 31 (mv) 44 (mv)	3 (c)
9. Kihujan	74 (mm)	1,1 (bm) 43 (bm)	19 (v) 30 (mv)	5 (c)

Keterangan :

mm = merah muda
hd = hijau daun
mc = merah kecoklatan
bm = biru muda
mv = merah violet

v = violet
vm = violet muda
c = coklat
ch = coklat hijau
m = merah

Tabel 6. Nilai hRf dan warna noda dari hasil kromatografi lapis tipis dari ekstrak kulit dengan sistim pelarut n-butil-alkohol : alkohol : air (4 : 1 : 1 v/v), plat silika gel G 60 0,2 mm, deteksi noda dengan larutan FeCl₃, larutan vanilin-sulfat, larutan ninhidrin dan visual.

Tanaman	Cara deteksi			
	FeCl ₃	Vanilin sulfat	Ninhidrin	Visual
1. Flamboyan	1 (bm)	10 (m)	22 (v) 38 (v)	1 (ch)
2. Turi putih	1 (bm)	2 (m)	22 (v) 34 (v)	1 (ch)
3. Petai cina	1 (bm)	1 (m) 10 (m)	22 (v) 35 (v)	1 (ch)
4. Kaliandra	1 (bm)	1 (m) 10 (m)	20 (v) 35 (v)	1 (ch)
5. Dadap			20 (v) 34 (v)	-
6. Bunga merak	1 (bm)	1 (m)	20 (v) 35 (v)	1(ch)
7. Bunga kupu-kupu	-	1 (m)	21 (v) 35 (v)	1 (ch)
8. Kacang babi	-	-	21 (v) 35 (v)	-
9. Kihujan	-	-	21 (v) 36 (v)	-

Keterangan :

mm = merah muda
hd = hijau daun
mc = merah kecoklatan
bm = biru muda
mv = merah violet

v = violet
vm = violet muda
c = coklat
ch = coklat hijau
m = merah

KESIMPULAN

Dari hasil pengujian inhibitor tripsin dengan cara spektrofotometri dan analisis kromatografi lapis tipis ini, dapat disimpulkan hal-hal sebagai berikut (1) Beberapa ekstrak tanaman dari suku Leguminosa yang diteliti umumnya mengandung inhibitor tripsin. Ekstrak daun yang berdaya inhibisi cukup potensial adalah dari bunga merak (*Caesalpinia pulcherima*) dan kaliandra (*Kaliandra haemotocephala*), sedangkan untuk ekstrak kulit batang adalah dari turi putih (*Sesbania grandiflora*), petai cina (*Leucaena glauca*), flamboyan (*Delonix regia*), kaliandra (*Kaliandra haemotocephala*) dan bunga merak (*Caesalpinia pulcherima*). (2) Dari beberapa pengamatan hasil kromatografi lapis tipis, diperkirakan kelompok peptida pada ekstrak daun dan kelompok polifenol pada ekstrak kulit yang menyatakan adanya hubungan dengan daya inhibisi.

PUSTAKA

1. D.C. Baker, A. Beknope, Flora Van Java, RIJKS Herbarium Leiden, *Fam.119*, (1941).

2. B. Bosterling, U. Quast, Soy Bean Trypsin Inhibitor (Kunitz) is Double Handed, *Biochemica et Biophysica Acta*, 667, 54 - 58, (1981).
3. Board on Science and Technology for International Development Research Council, Tropical Legumes : Resources for future, National Academic of Sciences, Washington D.C, 1 - 9, 1979.
4. E J.H.Cornier, . K. Watanabe, Illustrated and Guide to Tropical Plants, Hirokawa Publishing Co. Inc., Tokyo, 234 - 314, (1979).
5. G. Jones, S. Moore, and W. H. Stein, Properties of Chromatographically Puried Trypsin Inhibitor from Lima Beans, *J. Biochemistry*, 2, no 1, 66 - 67, (1963).
6. J.B. Harbone, Chemotaxonomy of *Leguminosae*, Academic Press London and New York, (1971), pp.235 - 536.
7. J.B. Harbone, Phytochemical Methods, Second Edition, London, New York, Chapman and Hall (1988) p. 4 - 178.
8. G. F. Harmer Strard, L T. Black and J D., Glover, Trypsin Inhibitor in Soy Product : Modification of Standard Analytical Procedure, *J. Cereal Chem.*, 8: 42-45, (1980).
9. S. Sumathi and T. N. Pattabiran, Natural Plant Enzyme Inhibitor, *Biochemica et Biophysica Acta*. 566: 115-127, (1979).
10. T. Aoyogi, S. Miyata, M. Nando, F. Kojima, M. Matsuzaki, Biological Activities of Leupeptiens , *J. Antibiotics*, Vol XXII no. 11 : 558 -563, (1969).
11. T. Aoyogi and H. Umezawa, Structure and Activities of Protease Inhibitor of Microbial Origin, Institute of Microbial Chemistry, Tokyo Japan, 429 - 452, (1970).
12. J. R. Whitaker and R.E Feeney, Enzyme Inhibitor in Food; Committee on Food Protection and Nutrition Board National Research Council, Second Ed., National Academic of Siences, Washington D.C.(1973), pp. 237-287 .
13. K. Baitner, Trypsin Inhibitor and Chemotrypsin Inhibitor Studies With Soybean Extracts, *J. Agric. Food Chem.* 29 : 201 - 203, (1981).
14. B.O. de Lumen, and P.S. Belo Jr, Inhibitor of Trypsin and Chymotrypsin in Winged Bean (*Psophocarpus tetragolabus*) Tubers. *J. Agric. Food Chem.* 29 : 884 - 886, (1981).
15. I. E. Liener, Toxic Constituents of Foodstuffs : Protease Inhibitor, Academic Press, New York and London, 1969, pp. 7 - 51.
16. A.K Das and A.K Bhattacharjee, A systematic Approach to Phytochemical Screening, Chemical Unit, Botanical survey of India, Calcutta, *Tropical Science* Vol. XII, No. 1 : 54-58 (1978).