

**UJI AKTIVITAS PENURUNAN KADAR GLUKOSA FRAKSI METANOL
DAN N-HEKSAN DAUN BELUNTAS (*Pluchea indica* L.) DENGAN
METODE PENGHAMBATAN ALFA-AMILASE**

Skripsi

Untuk memenuhi sebagian persyaratan

mencapai gelar Sarjana Farmasi



diajukan oleh :

Salsabila Nur Azizah

33101800075

kepada

FAKULTAS KEDOKTERAN PROGRAM STUDI FARMASI

UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG

SEMARANG

2023

SKRIPSI

**UJI AKTIVITAS PENURUNAN KADAR GLUKOSA FRAKSI METANOL
DAN N-HEKSAN DAUN BELUNTAS (*Pluchea indica* L.) DENGAN
METODE PENGHAMBATAN ALFA-AMILASE**

Yang dipersiapkan dan disusun oleh

Salsabila Nur Azizah

33101800075

telah dipertahankan di depan Dewan Penguji

pada tanggal, 24 Agustus 2023

dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Susunan Tim Penguji

Pembimbing I



Dr. apt. Rina Wijayanti, M.Sc.

Anggota Tim Penguji



Winda Susmayanti, M.Si

Pembimbing II



apt. Ika Buana Januarti, M.Sc.



apt. Chintiana Nindya Putri, M.Farm

Semarang, 24 Agustus 2023

Fakultas Kedokteran Prodi Farmasi

Universitas Islam Sultan Agung

Dekan,



Dr. dr. H. Setyo Trisnadi, S.H., Sp.KF

SURAT PERNYATAAN

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Salsabila Nur Azizah

Nim : 33101800075

Dengan ini menyatakan skripsi yang berjudul :

**“UJI AKTIVITAS PENURUNAN KADAR GLUKOSA FRAKSI
METANOL DAN N-HEKSAN DAUN BELUNTAS (*Pluchea indica* L.)
DENGAN METODE PENGHAMBATAN ALFA-AMILASE”**

Adalah benar karya saya dan penuh kesadaran bahwa saya tidak melakukan tindakan plagiasi atau mengambil sebagian atau seluruh hasil karya tulis ilmiah orang lain tanpa menyebutkan sumbernya. Apabila dikemudian hari saya terbukti melakukan tindakan plagiat tersebut maka saya siap menerima sanksi apapun termasuk penutupan gelar sarjana yang telah diberikan.

Semarang, 24 Agustus 2023

Yang Menyatakan,



SEPULEH RIBU RUPIAH
TEL. 021 76AKX608650671
METERAI TEMPEL

Salsabila Nur Azizah

PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI ILMIAH

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Salsabila Nur Azizah

NIM : 33101800075

Program studi : Farmasi

Fakultas : Kedokteran

Alamat : Asrama ex brigif 5 Banyumanik, Kota Semarang

No HP/Email : [085606409026/bilanasalsa91@gmail.com](mailto:085606409026@bilanasalsa91@gmail.com)

Dengan ini menyatakan karya ilmiah berupa skripsi dengan judul:

**“UJI AKTIVITAS PENURUNAN KADAR GLUKOSA FRAKSI
METANOL DAN N-HEKSAN DAUN BELUNTAS (*Pluchea indica* L.)
DENGAN METODE PENGHAMBATAN ENZIM ALFA-AMILASE”**

Dan menyetujuinya menjadi milik Universitas Islam Sultan Agung Semarang serta memberikan Hak Bebas Royalti Non Eksklusif untuk disimpan, dialih mediakan, dikelola dalam pangkalan data dan dipublikasikan di internet atau media lain untuk kepentingan akademis selama tetap mencantumkan nama penulis sebagai pemilik hak cipta. Apabila dikemudian terbukti ada pelanggaran Hak Cipta/ Plagiarisme dalam karya ilmiah ini, maka segala bentuk tuntutan hokum yang timbul akan saya tanggung secara pribadi tanpa melibatkan Universitas Islam Sultan Agung.

Semarang, 24 Agustus 2023

Yang Menyatakan



Salsabila Nur Azizah

PRAKATA

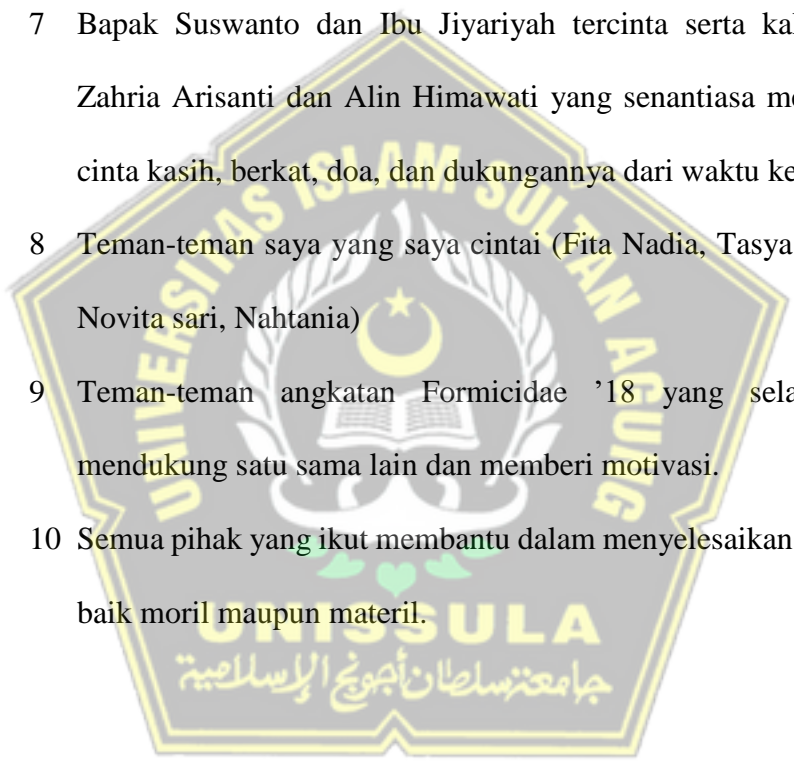
Assalamualaikum wr wb

Segala puji bagi Allah SWT yang telah melimpahkan nikmat, rahmat serta hidayah-Nya sehingga penulis mampu menyelesaikan penyusunan skripsi ini dengan judul **“UJI AKTIVITAS PENURUNAN KADAR GLUKOSA FRAKSI METANOL DAN FRAKSI N-HEKSAN DAUN BELUNTAS (*Pluchea indica* L.) DENGAN METODE PENGHAMBATAN ALFA-AMILASE”** sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana farmasi di Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung.

Dalam proses penyusunan skripsi ini penulis banyak mendapatkan bimbingan serta arahan dari berbagai pihak. Untuk itu ucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya dan penghargaan yang setinggi-tingginya penulis sampaikan terutama kepada :

- 1 Bapak Prof. Dr. H.Gunarto, SH., M. Hum., selaku Rektor Universitas Islam Sultan Agung Semarang.
- 2 Dr. dr. H. Setyo Trisnadi, S.H.,Sp.KF selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Islam Sultan Agung Semarang.
- 3 Ibu Dr. apt. Rina Wijayanti, M.Sc. selaku Ketua Prodi Farmasi Universitas Islam Sultan Agung Semarang.
- 4 Ibu Dr. apt. Rina Wijayanti, M.Sc. selaku pembimbing I dan Ibu apt. Ika Buana Januarti, M.Sc. selaku pembimbing II yang telah senantiasa membimbing, mengarahkan dan memotivasi penulis dalam menyelesaikan penelitian dan penyusunan skripsi ini.

- 5 Ibu Windi Susmawanti, S.Si.,M.Sc selau penguji I dan Ibu Apt. Chintiana Nindya Putri, M. Farm selaku penguji II yang telah memberikan saran dan masukan kepada penulis.
- 6 Segenap civitas akademika Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang terutama seluruh dosen, terima kasih atas segala ilmu dan bimbingannya.
- 7 Bapak Suswanto dan Ibu Jiyariyah tercinta serta kakak Atika Zahria Arisanti dan Alin Himawati yang senantiasa memberikan cinta kasih, berkat, doa, dan dukungannya dari waktu ke waktu.
- 8 Teman-teman saya yang saya cintai (Fita Nadia, Tasya Marellia, Novita sari, Nahtania)
- 9 Teman-teman angkatan Formicidae '18 yang selalu saling mendukung satu sama lain dan memberi motivasi.
- 10 Semua pihak yang ikut membantu dalam menyelesaikan skripsi ini baik moril maupun materil.



Dengan segala kerendahan hati penulis telah berusaha menyelesaikan skripsi ini, apabila masih terdapat kekurangan dan kelemahan yang terdapat pada skripsi ini maka saran dan kritik yang bersifat membangun dari pembaca akan diterima untuk penyempurnaan skripsi ini. semoga skripsi ini dapat berguna bagi penulis saat ini.

Wassalamualaikum wr.wb

Semarang, 24 Agustus 2023

Yang Menyatakan

Salsabila Nur Azizah



DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
SURAT PERNYATAAN.....	iii
PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI ILMIAH.....	iv
PRAKATA.....	v
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR SINGKATAN	xii
DAFTAR TABEL.....	xiii
DAFTAR GAMBAR.....	xiv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xv
INTISARI.....	xvi
BAB 1	1
PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	5
1.3. Tujuan Penelitian.....	5
1.3.1. Tujuan Umum	5
1.3.2. Tujuan Khusus	5
1.4. Manfaat Penelitian.....	6
1.4.1. Manfaat Teoritis.....	6
1.4.2. Manfaat Praktis	6
BAB II.....	7
TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1. Daun beluntas	7
2.1.1. Deskripsi daun beluntas	7
2.1.2. Klasifikasi daun beluntas.....	8
2.1.3. Potensi ekstrak daun beluntas	8
2.2. Diabetes melitus	9
2.2.1. Pengertian diabetes.....	9
2.2.2. Patogenesis.....	10

2.2.3.	Klasifikasi DM	11
2.2.4.	Faktor resiko	12
2.2.5.	Diagnosa DM	12
2.2.6.	Gejala DM	13
2.3.	Flavonoid	14
2.4.	Tanin	15
2.6.	Ekstraksi	18
2.6.1.	Ekstraksi Maserasi	18
2.7.	Fraksinasi	19
2.8.	Enzim α -amilase	19
2.9.	Akarbosa	20
2.10.	Uji penghambatan α -amilase	21
2.11.	Hubungan antara fraksi metanol dan fraksi n-heksan dengan penurunan kadar glukosa	23
2.12.	Kerangka teori	25
2.13.	Kerangka konsep	25
2.13.	Hipotesis	25
BAB III	46
METODE PENELITIAN	46
3.1.	Jenis penelitian dan rancangan penelitian	46
3.1.1.	Jenis Penelitian	46
3.1.2.	Rancangan Penelitian	46
3.2.	Variabel Penelitian dan Definisi Operasional	46
3.2.1.	Variabel Penelitian	46
3.2.2.	Definisi Operasional	47
3.3.	Populasi dan Sampel	48
3.3.1.	Populasi	48
3.3.2.	Sampel	48
3.4.	Instrumen Penelitian dan Bahan Penelitian	49
3.4.1.	Instrumen Penelitian	49
3.4.2.	Bahan Penelitian	49
3.5.	Cara Penelitian	49

3.5.1.	Determinasi Daun Beluntas (<i>Pluchea indica</i> L.)	49
3.5.3.	Ekstraksi dan Fraksinasi Daun Beluntas (<i>Pluchea indica</i> L.).....	50
3.5.4.	Skrining Fitokimia Fraksi Metanol dan N-heksan Daun Beluntas (<i>Pluchea indica</i> L.).....	51
3.5.5.	Penyiapan larutan uji inhibisi alfa amilase	52
3.5.6.	Uji pendahuluan aktivitas alfa-amilase	55
3.6.	Alur Penelitian.....	57
3.7.	Lokasi dan Waktu Penelitian.....	58
3.8.	Analisis Data	58
BAB IV		60
HASIL DAN PEMBAHASAN.....		60
4.1	Hasil Penelitian.....	60
4.1.1	Determinasi Daun Beluntas (<i>Pluchea indica</i> L.)	60
4.1.2	Rendemen dan Kadar Air Ekstrak.....	61
4.1.3	Hasil Uji Skrining Fitokimia.....	61
4.1.4	Uji Pendahuluan Inhibisi alfa-amilase	62
4.1.5	Uji Aktivitas Penurunan kadar Glukosa Fraksi Metanol dan N-heksan Daun Beluntas	63
4.1.6	Analisis Pengukuran IC ₅₀ Penurunan Kadar Glukosa Darah Fraksi Metanol dan Fraksi N-Heksan Daun Beluntas.....	64
4.2	Pembahasan	65
4.2.1	Determinasi Tanaman Beluntas	65
4.2.2	Ekstraksi Metanol Daun Beluntas.....	66
4.2.3	Fraksinasi Daun Beluntas.....	67
4.2.4	Skrining Fitokimia	68
4.2.5	Uji Pendahuluan Inhibisi Fraksi Metanol dan N-heksan Daun Beluntas Dengan Metode Inhibisi Enzim Alfa-Amilase.....	70
4.2.6	Uji Inhibisi Fraksi Metanol dan N-heksan Daun Beluntas Dengan Metode Inhibisi Enzim Alfa-Amilase	70
4.2.7	Pengaruh Fraksi Metanol dan Fraksi N-heksan Daun Beluntas Terhadap Penurunan Kadar Glukosa	73
BAB V.....		79
PENUTUP.....		79
DAFTAR PUSTAKA		80



DAFTAR SINGKATAN

IC₅₀ : Inhibition Concentration 50%

DM : Diabetes Melitus

DNS : Dinitrosalicylic Acid



DAFTAR TABEL

Tabel 4.1 Hasil Kadar Air	61
Tabel 4.2 Hasil Skrining Fitokimia.....	62
Tabel 4.3 Nilai IC ₅₀	64
Tabel 4.4 Uji Normalitas Homogenitas dan One Way ANOVA.....	65
Tabel 4.5 Uji Post Hoc LSD	65



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Daun Beluntas	8
Gambar 2.2 Kerangka Teori.....	25
Gambar 2.3 Kerangka konsep.....	25
Gambar 2.4 Alur Penelitian.....	57



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Surat Determinasi	88
Lampiran 2 Sertifikasi Analisis <i>3,5-Dinitrosalicylic Acid</i>	89
Lampiran 3 Sertifikasi Analisis Pati	90
Lampiran 4 Sertifikasi Analisis <i>Dimethyl Sulfoxide</i>	91
Lampiran 5 Sertifikasi Analisis <i>Pottasium Sodium Tartate Tetrahydrate</i> 92	
Lampiran 6 Sertifikasi Analisis Enzim Alfa Amilase.....	93
Lampiran 7 Perhitungan Rendemen Ekstrak dan Fraksi.....	94
Lampiran 8 Perhitungan pembuatan KH_2PO_4 0,02 M dan NaOH 2N	94
Lampiran 9 Perhitungan Enzim Alfa Amilase	95
Lampiran 10 Perhitungan Pengenceran Akarbosa	95
Lampiran 11 Perhitungan Pengenceran Sampel	96
Lampiran 12 Hasil Perhitungan Penghambatan Fraksi Metanol.....	97
Lampiran 13 Data Hasil Perhitungan Penghambatan Fraksi N-heksan....	98
Lampiran 14 Data perhitungan Penghambatan Kontrol Positif Akarbosa	100
Lampiran 15 Kurva % inhibisi Enzim Alfa Amilase	102
Lampiran 16 Dokumentasi Penelitian.....	105
Lampiran 17 Hasil IC_{50} Fraksi Metanol dan Fraksi N-heksan.....	108

INTISARI

Diabetes melitus merupakan penyakit kronik atau menahun yang menyebabkan gangguan metabolik dengan ditandai peningkatan kadar gula darah berlebih. Salah satu obat alternatif yang dapat dikembangkan yaitu daun beluntas. Daun beluntas memiliki aktivitas penurunan kadar glukosa

Penelitian ini merupakan studi eksperimental dengan desain *post-test only control group design*. Tahapan yang dilakukan diantaranya ekstraksi, fraksinasi, skrining fitokimia, uji pendahuluan, dan uji aktivitas penurunan kadar glukosa dengan metode inhibisi alfa amilase. Konsentrasi sampel dari masing-masing yaitu fraksi metanol dan fraksi n-heksan dengan masing-masing konsentrasi 31,25; 62,5; 125; 250; dan 500 µg/ml. Pengujian aktivitas penurunan kadar glukosa dilakukan dengan spektrofotometri UV-Vis. Analisis menggunakan *One Way ANOVA* dan dilanjutkan dengan *Post Hoc LSD*.

Hasil penelitian menunjukkan adanya perbedaan bermakna antara kontrol negatif dengan semua kelompok sampel. Nilai IC_{50} yang didapatkan pada sampel fraksi metanol sebesar 75,37 µg/ml, pada fraksi n-heksan didapatkan nilai IC_{50} sebesar 84,68 µg/ml, dan pada akar bosa sebesar 51,66 µg/ml. Hasil nilai IC_{50} dari kedua fraksi menunjukkan nilai IC_{50} yang kuat yang berarti sebagai penurun kadar glukosa kuat.

Kesimpulan dari penelitian ini adalah fraksi metanol dan fraksi n-heksan daun beluntas memiliki aktivitas sebagai penurun kadar glukosa.

Kata kunci : Daun Beluntas, Fraksi Metanol, Fraksi N-heksan, Penurunan Kadar Glukosa, IC_{50} , Alfa-amilase

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Diabetes melitus merupakan penyakit kronik atau menahun yang menyebabkan gangguan metabolik dengan ditandai peningkatan kadar gula darah berlebih. Diabetes melitus terjadi karena adanya kelainan pada sekresi insulin, kerja insulin, atau keduanya (Soelistijo SA, Lindarto D, Decroli E, Permana H, Sucipto KW, Kusnadi Y, 2021). Mekanisme kerja insulin yaitu pada pankreas terdapat sel β yang berfungsi untuk menghasilkan insulin. Insulin dihasilkan dengan adanya rangsangan molekul glukosa kepada sel β . Kemudian glukosa masuk ke dalam membran sel dengan bantuan GLUT-2 yang selanjutnya molekul glukosa akan mengalami proses glikolisis dan fosforilasi di dalam sel dan membebaskan molekul ATP. (Hasanah, 2013)

Data dari WHO menunjukkan bahwa setidaknya terdapat 422 juta orang dewasa mengidap diabetes pada tahun 2014. Prevalensi terbesar penderita diabetes menurut WHO terletak di Asia Tenggara dan daerah Pasifik Timur (WHO,2014). Menurut International Diabetes Federation (2021), 537 juta penduduk yang berada di rentang usia 20-79 tahun hidup dengan menderita diabetes, diperkirakan prevalensi tersebut akan meningkat mencapai 643 juta di tahun 2030 dan akan mencapai 783 juta di tahun 2045.

Berdasarkan Riskerdas 2018, angka prevalensi Diabetes Melitus terbesar berdasarkan provinsi terletak pada provinsi DKI Jakarta (2,6%)

disusul Daerah Istimewa Yogyakarta (2,4%) dan Kalimantan Timur dan Sulawesi utara (2,3%). Prevalensi pemeriksaan kadar gula darah pada penduduk umur >15 tahun paling besar terletak pada rentang usia 55-74 tahun (19,6%). Berdasarkan jenis kelamin, perempuan memiliki persentase prevalensi lebih besar (12,7%) dibanding dengan laki-laki (9,0%). Sedangkan jika dilihat dari wilayah tempat tinggal, penduduk pedesaan memiliki persentase prevalensi lebih besar (11,2%) jika dibandingkan dengan penduduk perkotaan (10,6%).

Salah satu obat yang dapat digunakan untuk menangani diabetes mellitus adalah akarbosa. Akarbosa bekerja dengan cara menghambat kerja enzim alfa amilase. Enzim alfa amilase merupakan enzim yang berfungsi memecah karbohidrat menjadi gula sederhana dan glukosa. Penggunaan obat sintetik antidiabetes seperti akarbosa dalam jangka waktu panjang dapat memberikan beberapa efek samping seperti gangguan pada sistem saluran pencernaan seperti mual, muntah, nyeri perut, dan kembung sehingga, penggunaan obat bahan alam pada saat ini sebagai terapi alternatif lebih dipertimbangkan karena potensi dan minimalnya efek samping yang diberikan (Yuniarto & Selifiana, 2018). Daun beluntas sering digunakan sebagai obat tradisional karena mudah ditemukan serta dikenal berkhasiat dalam mengobati berbagai penyakit. Beberapa kegunaan daun beluntas dimanfaatkan masyarakat sebagai penambah nafsu makan, antidiaphoretik, antipiretik, pelancar pencernaan, deodorant, antibakteria, antidiare,

antitusif, dan emollient. Akan tetapi pemanfaatan daun beluntas sebagai antidiabetes pada masyarakat masih jarang dilakukan.

Pengujian ekstrak daun beluntas (*Pluchea indica* L.) berdasarkan penelitian (Sachan, 2019), pada *Pluchea lanceolata* dengan konsentrasi antara 9,30 sampai 500 $\mu\text{g/ml}$ ditemukan aktivitas penghambatan enzim α -amilase tertinggi jika dibandingkan dengan obat standar (akarbose). Nilai IC_{50} yang didapatkan dari ekstrak tanaman tersebut yaitu sebesar 4,83 $\mu\text{g/ml}$.

Senyawa yang diduga berperan sebagai inhibitor alfa amilase adalah flavonoid dan tanin. Flavonoid yaitu senyawa fenolik yang akan membentuk senyawa kompleks dengan pati, yang menyebabkan pati tidak dapat dihidrolisis oleh α -amilase dikarenakan sisi aktif α -amilase (tempat berikatannya dengan substrat) tidak dapat mengenali struktur senyawa kompleks yang terbentuk antara pati dan flavonoid (Shoffiyanti et al., 2019). Flavonoid yang terdapat dalam daun beluntas yang dapat menghambat enzim alfa-amilase adalah kuersetin dan luteolin. (Widyawati, 2023)

Tanin juga diduga menunjukkan aktivitas penghambatan enzim α -amilase. Tanin dilaporkan memiliki aktivitas penghambatan α -amilase dan α glukosidase, di mana inhibitor tanin dapat mengikat baik ke situs aktif atau ke situs sekunder bebas enzim untuk menimbulkan kompleks enzim-inhibitor. (Monteiro de Souza, 2012)

Senyawa non-polar terdapat senyawa terpenoid yang diduga juga mampu menurunkan aktivitas enzim alfa amilase. Namun, diduga senyawa

terpenoid yang mampu menurunkan aktivitas enzim adalah jenis oleanane, ursane dan lupane dan mekanisme dimana aktivitas ini masih tidak diketahui. (de Sales et al., 2012)

Fraksinasi dilakukan untuk memisahkan senyawa-senyawa metabolit sekunder yang ada pada tanaman daun beluntas berdasarkan kepolarannya seperti flavonoid, tanin, terpenoid, dan alkaloid. Pada tahap fraksinasi, digunakan pelarut metanol dan n-heksan. Metanol digunakan untuk melarutkan senyawa-senyawa yang bersifat polar sedangkan n-heksan digunakan untuk melarutkan senyawa-senyawa yang bersifat non-polar (Marliana & Saleh, 2011). Metanol digunakan pada ekstraksi pada penelitian ini karena metanol mampu menyari baik senyawa metabolit yang bersifat polar maupun non-polar dengan baik (Saputra et al., 2018). Fraksinasi dilakukan dengan pelarut n-heksan untuk memisahkan senyawa nonpolar seperti klorofil, triterpen, lemak dan senyawa nonpolar lainnya. Metanol digunakan untuk melarutkan senyawa polar seperti flavonoid dan tanin (Koirewoa et al., 2012). Digunakannya pelarut n-heksan untuk fraksinasi karena n-heksan bersifat volatil, stabil, dan selektif (Constanty & Tukiran, 2021). Fraksinasi pada penelitian ini ditujukan untuk melihat fraksi yang lebih berpotensi untuk menurunkan kadar glukosa darah dengan metode penghambatan alfa-amilase, langkah ini dapat digunakan untuk penelitian pendahuluan sebagai awal yang kemudian dilanjutkan tahapan berikutnya yaitu proses isolasi untuk menemukan senyawa aktif yang dapat menurunkan kadar glukosa.

1.2. Rumusan Masalah

Dari latar belakang diatas maka rumusan masalah pada penelitian sebagai berikut :

1. Apakah senyawa metabolit sekunder dari fraksi metanol dan fraksi n-heksan daun beluntas mampu menghambat enzim alfa amilase?
2. Apa saja senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam fraksi metanol dan fraksi n-heksan daun beluntas?

1.3. Tujuan Penelitian

1.3.1. Tujuan Umum

Tujuan umum dari penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas penurunan kadar glukosa fraksi metanol dan n-heksan daun beluntas (*Pluchea indica* L.) dengan metode penghambatan α -amilase

1.3.2. Tujuan Khusus

- 1.3.2.1. Mengetahui kandungan senyawa fitokimia pada ekstrak Daun Beluntas (*Pluchea indica* L.) dengan melakukan skrining fitokimia.
- 1.3.2.2. Mengetahui aktivitas penurunan kadar glukosa Fraksi metanol dan n-heksan Daun Beluntas (*Pluchea indica* L.) dengan metode inhibisi α -amilase dengan melihat nilai IC_{50} .

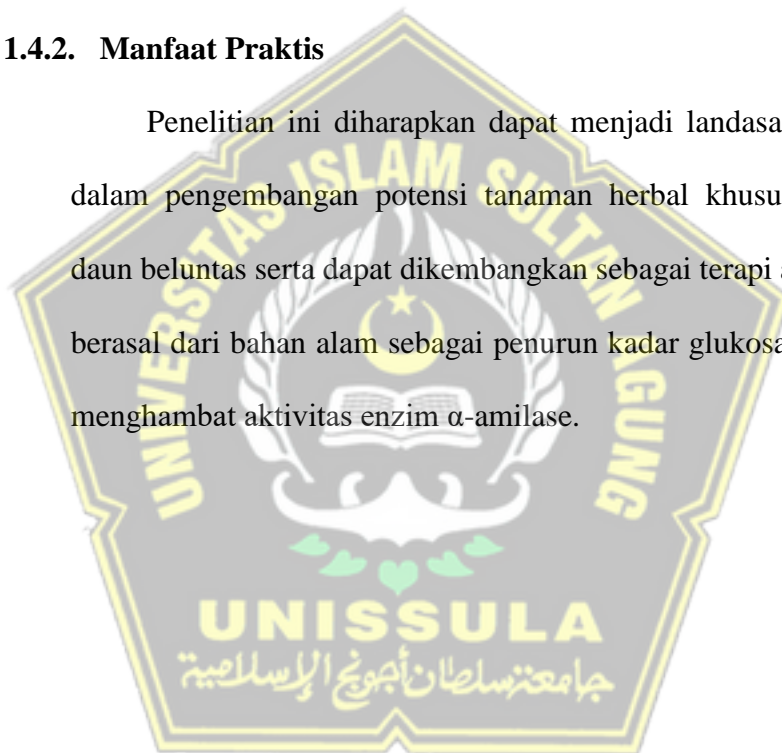
1.4. Manfaat Penelitian

1.4.1. Manfaat Teoritis

Penelitian ini diharapkan dapat dijadikan sebagai sumber informasi ilmiah mengenai pemanfaatan fraksi metanol dan n-heksan daun beluntas (*Pluchea indica* L.) sebagai penurun kadar glukosa yang mampu menghambat enzim α -amilase.

1.4.2. Manfaat Praktis

Penelitian ini diharapkan dapat menjadi landasan dan petunjuk dalam pengembangan potensi tanaman herbal khususnya tanaman daun beluntas serta dapat dikembangkan sebagai terapi alternatif yang berasal dari bahan alam sebagai penurun kadar glukosa yang mampu menghambat aktivitas enzim α -amilase.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Daun beluntas

2.1.1. Deskripsi daun beluntas

Tanaman daun beluntas merupakan tanaman yang berasal dari Indonesia yang telah tersebar luas di sebagian besar wilayah Indonesia, dengan potensi yang cukup besar untuk dibudidayakan karena keunggulannya. Tanaman beluntas dapat tumbuh di daerah dengan kontur tanah yang sangat kasar dan berbatu serta di daerah dataran rendah di seluruh Indonesia. Tanaman beluntas merupakan salah satu tanaman semak belukar yang ditanam sebagai pagar tanaman atau tanaman liar. (Susetyarini et al., 2020)

Tanaman beluntas merupakan tanaman perdu tegak yang seringnya bercabang banyak dan memiliki ketinggian 0,5-2m. Daun tanaman beluntas berambut dan berwarna hijau muda. Helaian daun beluntas berbentuk oval elips atau bulat telur terbalik dengan pangkal daun runcing dan tepi daunnya bergigi. Letak daun beluntas berseling dan bertangkai pendek dengan panjang daun sebesar 2,5-9 cm. (Mohamad, Irfan Fitriansyah; and Raden, 2017)

2.1.2. Klasifikasi daun beluntas

Gambar daun beluntas tersaji pada Gambar 2.1



Gambar 2.1 Daun Beluntas

Tanaman beluntas memiliki klasifikasi sebagai berikut :

Kingdom : Plantae

Divisi : Magnoliophyta

Kelas : Mangnoliopsida

Ordo : Asterales

Famili: Asteraceae

Genus : *Pluchea*

Spesies : *Pluchea indica*

(Fachri et al., 2021)

2.1.3. Potensi ekstrak daun beluntas

Beluntas mengandung senyawa metabolik sekunder yang mampu menghambat α -amilase seperti flavonoid, tanin, dan terpenoid. Enzim tersebut mampu mengubah disakarida menjadi glukosa. Flavonoid akan

membentuk senyawa kompleks dengan pati, yang menyebabkan pati tidak dapat dihidrolisis oleh α -amilase dikarenakan sisi aktif α -amilase (tempat berikatannya dengan substrat) tidak dapat mengenali struktur senyawa kompleks yang terbentuk antara pati dan flavonoid (Shoffiyanti et al., 2019). Selain itu, beluntas memiliki senyawa tanin yang tanin dapat mengikat baik ke situs aktif atau ke situs sekunder bebas enzim untuk menimbulkan kompleks enzim-inhibitor. (Monteiro de Souza, 2012)

Senyawa fitokimia lainnya yang terdapat pada tanaman beluntas adalah terpenoid, senyawa terpenoid yang diduga juga mampu menurunkan aktivitas enzim alfa amilase. (de Sales et al., 2012)

Daun beluntas sering digunakan sebagai obat karena mudah ditemukan serta dikenal berkhasiat dalam mengobati berbagai penyakit. Beberapa kegunaan yang biasa dimanfaatkan masyarakat yaitu sebagai penambah nafsu makan, antidiaphoretik, antipiretik, pelancar pencernaan, deodorant, antibakteria, antidiare, antitusif, dan emollient. Namun, pemanfaatan daun beluntas sebagai antidiabetes masih jarang dilakukan. (T. A. Putri et al., 2017)

2.2. Diabetes melitus

2.2.1. Pengertian diabetes

Diabetes merupakan penyakit metabolik yang ditandai dengan hiperglikemia kronis disertai dengan gangguan metabolisme karbohidrat, lipid, dan protein. Diabetes diduga merupakan penyakit tertua yang diketahui manusia (Baynest, 2015). Insulin merupakan hormon yang

diproduksi oleh pankreas yang berfungsi mengontrol kadar glukosa darah dengan mengatur produksi dan penyimpanan glukosa. Pada diabetes terjadi penurunan kemampuan tubuh untuk merespon insulin atau terjadi penurunan insulin yang diproduksi oleh pankreas yang menyebabkan kelainan pada metabolisme karbohidrat, protein, dan lemak (Gupta et al., 2015). Hiperglikemia kronik yang diakibatkan oleh diabetes melitus disertai dengan kerusakan jangka panjang, disfungsi, dan kegagalan berbagai organ terutama mata, ginjal, saraf, jantung, dan pembuluh darah. Patogenesis dari diabetes melitus mendasari terjadinya destruksi autoimmune pada sel beta pankreas yang dapat menyebabkan defisiensi insulin dan gangguan biosignalling yang merupakan konsekuensi dari resistensi insulin (Ngugi et al., 2014).

2.2.2. Patogenesis

Diabetes melitus merupakan penyakit yang disebabkan oleh adanya kekurangan insulin secara relatif maupun absolut. Defisiensi insulin dapat terjadi melalui 3 jalan, yaitu :

- a. Rusaknya sel-sel B pankreas karena pengaruh dari luar (virus, zat kimia, dll)
- b. Desensitasi atau penurunan reseptor glukosa pada kelenjar pankreas.
- c. Desensitasi atau kerusakan reseptor insulins di jaringan perifer (Fatimah, 2015)

2.2.3. Klasifikasi DM

Terdapat beberapa klasifikasi DM dan berikut adalah penjelasan klasifikasi DM menurut *American Diabetes Association* :

- (1) DM tipe 1 (P penghancuran sel B, biasanya menyebabkan defisiensi insulin absolut)

Beberapa bentuk diabetes tipe 1 tidak memiliki etiologi yang diketahui pasti. Beberapa diantaranya memiliki insulinopenia permanen dan rentan terhadap ketoasidosis, tetapi tidak memiliki gejala autoimunitas. Dalam bentuk diabetes tipe ini, tingkat penghancuran pada sel-B cukup bervariasi. Stadium akhir pada penyakit ini adalah sedikit sekali atau bahkan tidak ada sama sekali sekresi insulin, yang mana dimanifestasikan oleh rendahnya atau tidak terdeteksinya level plasma C-peptida. Diabetes tipe 1 ini umumnya terjadi pada masa kanak-kanak dan remaja, namun tidak menutup kemungkinan terjadi pada semua usia. (Of & Mellitus, 2014)

- (2) DM tipe 2

Kebanyakan pasien diabetes tipe 2 mengalami obesitas. Pada pasien yang tidak mengalami obesitas mungkin mengalami peningkatan persentase lemak tubuh yang didistribusikan terutama di daerah perut. Diabetes tipe 2 seringkali tidak terdiagnosis selama bertahun-tahun karena hiperglikemia berkembang secara bertahap dan pada tahap awal seringkali tidak parah (Of & Mellitus, 2014).

(3) Diabetes gestasional

Selama bertahun-tahun diabetes gestasional telah didefinisikan sebagai semua derajat intoleransi glukosa yang terjadi ada awal kehamilan. Pada diabetes gestasional definisi diterapkan apakah kondisi tersebut menetap atau tidak setelah kehamilan dan tidak melihat kemungkinan bahwa intoleransi glukosa yang tidak diketahui mungkin telah terjadi atau dimulai bersamaan dengan kehamilan. (Of & Mellitus, 2014)

2.2.4. Faktor resiko

Beberapa faktor resiko terkait diabetes melitus antara lain obesitas, hipertensi, riwayat keluarga diabetes melitus, dislipidemia, umur, dan juga konsumsi alkohol dan rokok (Fatimah, 2015).

2.2.5. Diagnosa DM

Secara umum diabetes melitus dapat didiagnosa apabila seseorang memiliki :

- a. Nilai HbA1c 6,5 % (≥ 48 mmol/mol)
- b. Glukosa plasma acak atau random 200 mg/dl ($\geq 11,1$ mmol/l)
- c. Glukosa darah puasa 126 mg/dl ($\geq 7,0$ mmol/dl)
- d. OGTT 2-jam glukosa dalam plasma vena 200mg/dl ($\geq 11,1$ mmol/l)

(Petersmann et al., 2019)

2.2.6. Gejala DM

Seringkali diabetes muncul tanpa adanya gejala, namun ada beberapa gejala yang bisa diwaspadai sebagai penanda kemungkinan adanya diabetes. Gejala diabetes yang sering dirasakan antara lain poliuria (sering buang air kecil), polidipsia (sering haus), dan polifagia (banyak makan/mudah lapar). Selain itu sering pula muncul keluhan penglihatan kabur, koordinasi gerak anggota tubuh terganggu, kesemutan pada tangan atau kaki, timbul gatal-gatal yang seringkali sangat mengganggu (pruritus), dan berat badan menurun tanpa sebab yang jelas. Penderita DM tipe 2 umumnya lebih mudah terkena infeksi, sukar sembuh dari luka, daya penglihatan makin buruk, dan umumnya menderita hipertensi, hiperlipidemia, obesitas, dan juga komplikasi pada pembuluh darah dan syaraf (DEPKES RI, 2005).

Tingginya kadar glukosa dalam darah, metabolit glukosa, atau tingginya asam lemak dalam darah menyebabkan permeabilitas sel endotel meningkat sehingga molekul yang mengandung lemak masuk ke dalam sel. Kerusakan sel-sel endotel akan mencetuskan reaksi imun dan inflamasi sehingga akhirnya terjadi pengendapan trombosit, makrofag, dan jaringan fibrosis serta proliferasi sel otot polos pembuluh darah yang merupakan terjadinya awal lesi aterosklerosis dalam pembuluh darah sehingga memicu peningkatan tekanan darah (Sari et al., 2017).

Hiperlipidemia memiliki hubungan erat dengan diabetes melitus. Hiperlipidemia disebabkan karena kadar trigliserida melampaui batas normal. Jika tubuh kelebihan kadar trigliserida, maka akan diikuti dengan meningkatnya kadar gula darah, karena jika tubuh kelebihan kadar trigliserida akan mengakibatkan resistensi insulin sehingga metabolisme gula darah akan terganggu. Kadar gula darah apabila naik dan berlangsung lama, maka akan memicu terjadinya peningkatan kadar trigliserida sehingga dapat menimbulkan penyakit degeneratif. Akibatnya kadar gula darah akan tinggi seiring dengan tingginya kadar trigliserida. (L. Putri et al., 2019)

Diabetes melitus akan menyebabkan kerusakan dinding arteri sehingga membentuk bekuan darah yang disebut thrombus. Pada beberapa kasus thrombus akan membesar dan menutup lumen arteri, atau thrombus dapat terlepas dan membentuk emboli yang akan mengikuti aliran darah dan menyumbat arteri di daerah lain. Jaringan yang memperoleh vaskularisasi dari arteri yang tersumbat oleh emboli tersebut akan mati karena kehilangan suplai oksigen secara cepat, yang bila terjadi di jantung akan menyebabkan kerusakan pada jantung sehingga menjadi penyakit jantung. (Ramadany et al., 2013)

2.3. Flavonoid

Senyawa flavonoid pada penghambatan enzim alfa amilase akan membentuk senyawa kompleks dengan pati, yang menyebabkan pati tidak

dapat dihidrolisis oleh alfa amilase dikarenakan sisi aktif enzim tidak dapat mengenali struktur senyawa kompleks yang terbentuk antara pati dan flavonoid. Flavonoid yang diduga berperan dalam penghambatan alfa amilase adalah kuersetin dan luteolin. (Shoffiyanti et al., 2019)

2.4. Tanin

Tanin merupakan salah satu senyawa golongan polifenol yang juga banyak dijumpai di tanaman. Tanin dapat diidentifikasi sebagai senyawa polifenol dengan berat molekul lebih dari 1000g/mol serta dapat membentuk senyawa kompleks dengan protein. Struktur senyawa tanin terdiri dari cincin benzena (C6) yang berikatan dengan gugus hidroksil (-OH). Tanin memiliki peranan biologis yang besar karena fungsinya sebagai pengendap protein dan penghelat logam. Oleh karena itu tanin diprediksi dapat berperan sebagai antioksidan biologis. (Noer et al., 2014)

Tanin diklarifikasikan menurut struktur menjadi 2 kelompok besar yaitu tanin terhidrolisis dan tanin terkondensasi. Tanin terhidrolisis mudah dihidrolisis oleh asam atau enzim menjadi gula dan asam karboksilat fenolik, tanin yang dapat dihidrolisis biasanya dibagi lagi menjadi galotanin dan ellagitanin. Hidrolisis galotanin menghasilkan asam galat sedangkan ellagitanin menghasilkan asam ellagic. Tanin terkondensasi tidak mengandung gugus gula dalam molekulnya. Tanin mampu berikatan dengan baik pada sisi aktif maupun ke sisi sekunder dari enzim. Tanin menunjukkan jenis penghambatan yang dimilikinya adalah kompetitif, karena asam kuinat pada tanin dapat berikatan dengan situs aktif lebih baik

daripada situs lain manapun di permukaan. Tanin menunjukkan dapat menjadi penghambat enzim amilase yang sama kuatnya dengan akarbosa (Monteiro de Souza, 2012). Tanin memiliki potensi dalam menghambat aktivitas enzim alfa amilase. Struktur pada tanin yang berpotensi dalam menghambat enzim alfa amilase yaitu asamgallyokuinat. Situs enzim alfa amilase terdiri dari 7 subsitus dan situs katalitik terletak diantara subsitus (-1) dan subsitus (+1). Gugus OH dari substrat pati dapat berikatan dengan asam amino dari celah situs aktif, gugus OH pada molekul asam gallyokuinat juga dapat berperan dalam ikatan hidrogen pada enzim alfa amilase.

2.5. Terpenoid

Terpenoid adalah senyawa yang terdiri dari berbagai struktur yang biasa ditemukan pada hewan maupun tumbuhan. Terpenoid biasanya muncul dari gabungan isoprena. Terpenoid dibagi menjadi monoterpen (C₁₀), seskuiterpen (C₁₅), diterpen (C₂₀), sesterterpen (C₂₅), triterpen (C₃₀), dan tetraterpen (C₄₀). Triterpenoid adalah kelompok besar dan secara struktural kelompok produk alami yang beragam yang berasal dari squalene atau 30-karbon asiklik terkait prekursor dengan beberapa kegunaan potensial dalam obat. Beberapa triterpenoid dengan aktivitas biologis yang telah dikarakterisasi dengan baik termasuk sterol, steroid, dan saponin. Berbagai efek biologis nyata dan potensial yang dapat digunakan sedang dipelajari untuk triterpenoid. Antiinflamasi, analgesik, antimikroba, antimikotik, antivirus, antiplasmodial, antiulcerogenik,

antikariogenik, imunomodulator, pelindung pembuluh darah, antiobesitas, antikanker dan efek tonik adalah salah satunya menggunakan penggunaan terkait untuk senyawa ini. Aktivitas hepato dan kardioprotektif juga terkait dengan triterpenoid.

Triterpenoid merupakan sumber yang menjanjikan dan berkembang untuk bahan alami yang aktif secara biologis senyawa yang berpotensi untuk penelitian dan pengembangan zat baru dengan aktivitas farmakologis. Namun, terlepas dari fakta bahwa triterpenoid tersebar luas dalam tanaman, aktivitas penghambatan α -amilase hanya terkait untuk jenis oleanane, ursane dan lupane dan mekanisme aktivitas ini masih belum diketahui (de Sales et al., 2012). Asam ursolat menunjukkan penghambatan yang lebih kuat daripada asam oleanolik menunjukkan bahwa pergeseran gugus metil C-29 dari C-20 ke C-19 dapat meningkatkan penghambatan aamilase. Penghambatan asam betulinic jauh lebih banyak lebih lemah dari pada asam ursolat dan asam oleanolik, menunjukkan bahwa cincin-E beranggota enam mungkin penting untuk penghambatan. Selain itu, kelompok substituen dan posisinya juga memiliki beberapa berdampak pada aktivitas penghambatan. Asam korosolat menunjukkan lebih besar penghambatan daripada asam asiatik, menunjukkan bahwa pengenalan gugus hidroksil pada C-24 dapat melemahkan penghambatan. (Zhang et al., 2017)

2.6. Ekstraksi

Ekstraksi merupakan pemisahan zat target dan zat yang tidak berguna dimana teknik pemisahan berdasarkan perbedaan distribusi zat terlarut antara dua pelarut atau lebih yang saling bercampur. Pada umumnya, zat terlarut yang diekstrak bersifat tidak larut atau sedikit larut dalam suatu pelarut tetapi mudah larut dengan pelarut lain. Definisi lain mengenai ekstraksi yaitu suatu proses yang dilakukan untuk memperoleh kandungan senyawa kimia dari jaringan tumbuhan maupun hewan dengan pelarut yang sesuai dalam standar prosedur ekstraksi. Proses ekstraksi akan berhenti ketika kesetimbangan telah tercapai antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dan konsentrasi dalam simplisia. Setelah proses ekstraksi selesai, residu padat dan pelarut dipisahkan dengan cara penyaringan. (Sudarwati & M.A Hanny Ferry Fernanda, 2019)

2.6.1. Ekstraksi Maserasi

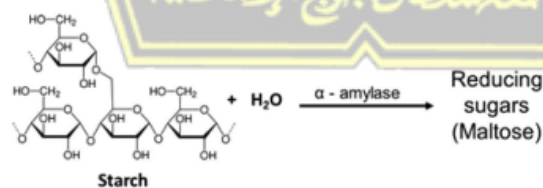
Maserasi merupakan cara penyarian yang sederhana. Maserasi dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari. Cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif, zat aktif akan larut dengan karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dengan yang di luar sel, maka larutan yang terpekat didesak keluar. Peristiwa tersebut berulang sehingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar sel dan di dalam sel. (Sudarwati & M.A Hanny Ferry Fernanda, 2019)

2.7. Fraksinasi

Prinsip dari fraksinasi adalah proses penarikan senyawa pada suatu ekstrak dengan menggunakan dua macam pelarut yang tidak saling bercampur. Pelarut yang umumnya dipakai untuk fraksinasi adalah n-heksan, etil asetat, dan metanol. Untuk menarik lemak dan senyawa non polar digunakan n-heksan, untuk menarik senyawa semi polar digunakan etil asetat, sedangkan metanol digunakan untuk menarik senyawa-senyawa polar. Dari proses ini dapat diduga sifat kepolaran dari senyawa yang akan dipisahkan. Senyawa non-polar akan larut dengan senyawa non polar sedangkan senyawa polar akan larut dengan senyawa polar juga. (Sudarwati & M.A Hanny Ferry Fernanda, 2019)

2.8. Enzim α -amilase

Enzim alfa-amilase merupakan enzim yang memiliki kemampuan memecah ikatan glukosida pada polimer pati menjadi molekul yang lebih kecil sehingga mempengaruhi kadar glukosa dalam darah.



Gambar 2.2 Mekanisme katalisis enzim alfa amilase

Salah satu amilase yang banyak dikembangkan saat ini adalah enzim amilase pemecah pati mentah (APPM). Enzim ini mempunyai kelebihan mampu bekerja pada substrat yang tidak melalui proses gelatinisasi (pati mentah). Enzim APPM yang berasal dari mikroba

umumnya mempunyai spektrum yang lebih luas dalam industri sebab sifatnya lebih stabil jika dibandingkan dengan enzim APPM yang berasal dari tanaman dan hewan. Enzim APPM diduga mempunyai daerah pengikatan pati yang lebih banyak dibandingkan amilase konvensional sehinggamampu berikatan dengan granula pati mentah. Daerah pengikatan pati tersebut mengandung sekitar 50-100 asam amino dengan susunan residu asam amino tertentu sehingga mampu berinteraksi kuat dengan residu glukosa pada amilosa dan amilopektin. (Nangin & Sutrisno, 2015)

2.8.1 Mikroba Penghasil Enzim APPM

Sejauh ini enzim APPM masih dihasilkan oleh sejumlah kecil mikroba saja. Beberapa mikroba penghasil enzim APPM yaitu *Aspergillus niger*, *Bacillus amyloliquifaciens* ABBD, *Streptomyces* sp. *Bacillus aquamaris* MSC 6.2, *Saccaromycopsis filbugera*, *Bacillus subtilis* 65, *Penicilium* sp. X-1, *Bacillus licheniformis*, *Geobacillus thermodenitrificans*, *lebsiela pneumoniae*, dan *Sacccaromyces serevisiae*. (Nangin & Sutrisno, 2015)

2.9. Akarbosa

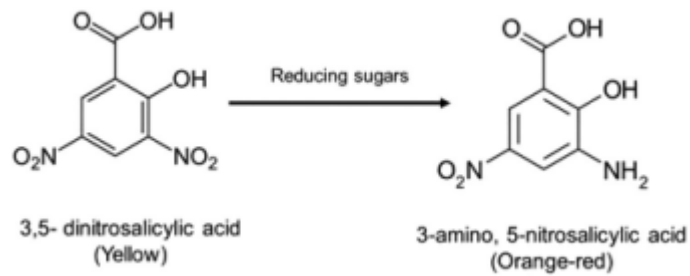
Akarbosa merupakan inhibitor alfa glucosidase dan alfa amilase oral yang digunakan dalam pengelolaan diabetes tipe 2. Akarbosa adalah inhibitor kompetitif dan reversible pada *brush border* pada usus halus, sehingga menghalangi degradasi pati dan sukrosa dan memperpanjang

tingkat penyerapan glukosa dan fruktosa di saluran pencernaan. Melalui efek ini, akarbosa mengurangi konsentrasi glukosa darah, terutama pada tingkat postprandial. Akarbosa juga disebutkan memiliki efek hipoglikemik pada pasien dengan glikometabolisme abnormal, serta berperan dalam mencegah kejadian kardiovaskular. (Zhu et al., 2013)

Namun akarbosa memiliki efek samping yaitu diare dan perut kembung akibat penghambatan hidrolisis pati yang berkepanjangan. Selain itu, penghambatan alfa amilase yang berlebihan dari akarbosa dapat menyebabkan akumulasi karbohidrat yang tidak tercerna di usus besar. Akibatnya dapat terjadi fermentasi bakteri dan hal itu akan memicu terjadinya komplikasi gastrointestinal seperti perut kembung dan diare. (Oboh et al., 2016)

2.10. Uji penghambatan α -amilase

Uji inhibisi terhadap enzim α -amilase dapat ditentukan dengan melakukan perhitungan jumlah gula reduksi setelah terjadi reaksi hidrolisis menggunakan metode DNS (Dinitrosalicylic acid), metode ini untuk menentukan total gula pereduksi dalam sampel yang mengandung pati. Pati merupakan polisakarida dari glukosa yang dihubungkan oleh ikatan α -1,4-glikosida. Enzim alfa amilase merupakan enzim golongan hidrolase yang mampu menjadi senyawa-senyawa yang lebih sederhana seperti oligosakarida, disakarida, atau monosakarida. (Fariyanto et al., 2020)



Gambar 2.3 Mekanisme DNS

Metode DNS yang digunakan dalam mengidentifikasi adanya reaksi enzimatik secara kualitatif ditandai dengan adanya perubahan warna larutan dari kuning menjadi coklat keemasan. DNS berfungsi sebagai oksidator yang ketika berikatan dengan pati (substrat), DNS akan tereduksi membentuk 3-amino-5-nitrosalisilat oleh gula reduksi yang dihasilkan dari reaksi enzim alfa amilase dengan substrat. Sedangkan sampel akan berikatan dengan enzim alfa amilase untuk mencegah substrat berikatan dengan enzim sehingga tidak menghasilkan gula reduksi. Dalam pengukuran secara kuantitatif aktivitas enzim diukur menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 540nm. Senyawa yang dihasilkan dari reaksi DNS mampu menyerap dengan kuat gelombang elektromagnetik pada panjang gelombang 540-550 nm. (Fariyanto et al., 2020)

Interpretasi dari pengujian penghambatan enzim α -amilase adalah dengan melihat nilai IC_{50} . Nilai IC_{50} merupakan konsentrasi suatu zat yang dapat menghambat kerja enzim menjadi setengah kali dibandingkan dengan kontrolnya. Suatu senyawa dikatakan sebagai antidiabetes sangat

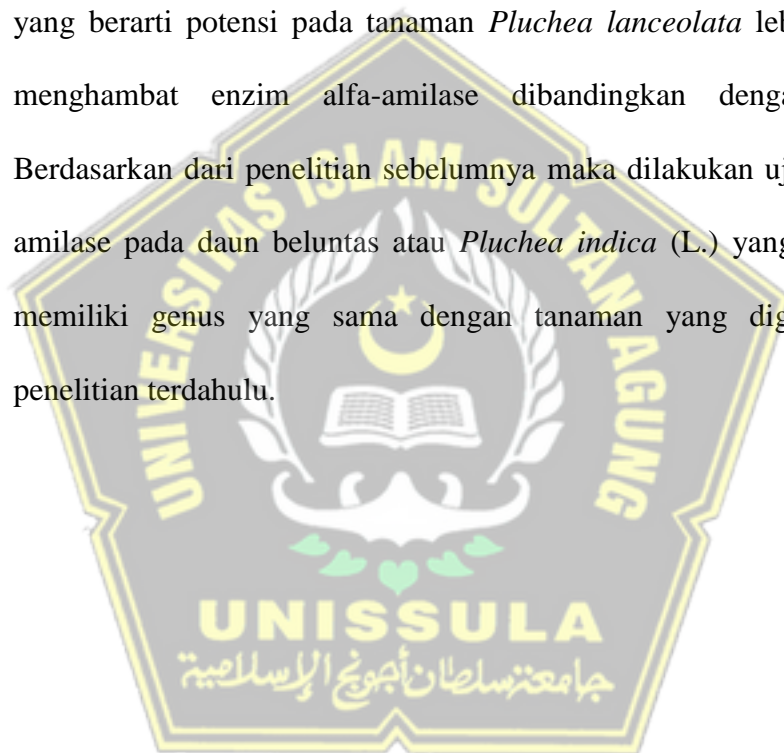
kuat apabila nilai IC_{50} kurang dari 50 ppm, kuat apabila nilai IC_{50} antara 50-100 ppm, sedang apabila nilai IC_{50} berkisar antara 100-150 ppm, dan lemah apabila nilai IC_{50} berkisar antara 150-200 ppm. (Arditiana et al., 2015) Semakin kecil nilai IC_{50} maka semakin besar aktivitasnya dalam menghambat kerja enzim alfa-amilase, sedangkan semakin besar nilai IC_{50} maka semakin kecil kemampuan sampel dalam menghambat enzim. (Alfiani, 2022)

2.11. Hubungan antara fraksi metanol dan fraksi n-heksan dengan penurunan kadar glukosa

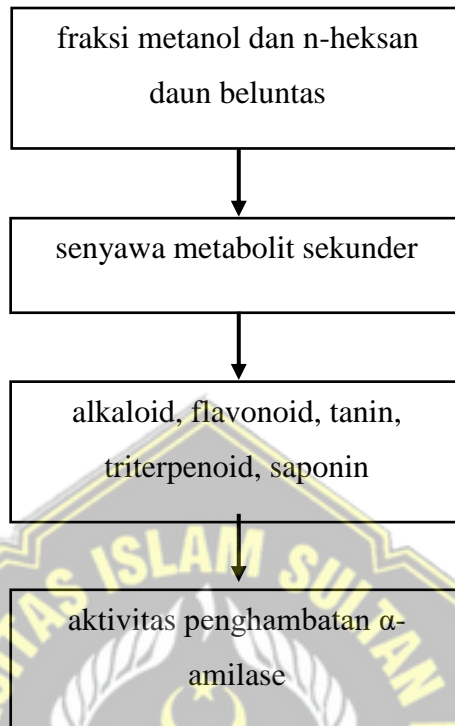
Proses fraksinasi merupakan salah satu proses untuk menciptakan obat baru. Proses fraksinasi dilakukan setelah ekstraksi dan sebelum isolasi. Fraksi metanol dan n-heksan digunakan untuk memisahkan senyawa berdasarkan kepolarannya. Fraksi metanol digunakan untuk memisahkan senyawa polar seperti flavonoid dan tanin. Flavonoid dapat menyebabkan pati tidak dapat dihidrolisis oleh alfa amilase dikarenakan sisi aktif enzim tidak dapat mengenali struktur senyawa kompleks yang terbentuk antara pati dan flavonoid dan tanin mampu berikatan dengan baik pada sisi aktif maupun ke sisi sekunder dari enzim sehingga menyebabkan enzim tidak mampu berikatan dengan substrat. Fraksi n-heksan digunakan untuk memisahkan senyawa-senyawa nonpolar seperti klorofil, triterpen, lemak dan senyawa nonpolar lainnya. Triterpenoid memiliki efek terapeutik terhadap kondisi diabetes melitus tipe 2 dengan menurunkan kadar glukosa darah 2 jam postprandial dengan mencegah α -glukosidase dan α -amilase dengan menunda penyerapan karbohidrat di usus sehingga dapat

menurunkan kadar glukosa darah postprandial. (Husna & Murbawani, 2016)

Pada penelitian (Sachan, 2019) dikatakan tanaman *Pluchea lanceolata* memiliki nilai IC_{50} sebesar 4,83 $\mu\text{g/ml}$. Dibandingkan dengan kontrol positif yang digunakan yaitu akarbosa, nilai IC_{50} dari sampel lebih rendah yang mana pada akarbosa didapatkan nilai IC_{50} sebesar 29,33 $\mu\text{g/ml}$ yang berarti potensi pada tanaman *Pluchea lanceolata* lebih berpotensi menghambat enzim alfa-amilase dibandingkan dengan akarbosa. Berdasarkan dari penelitian sebelumnya maka dilakukan uji inhibisi alfa amilase pada daun beluntas atau *Pluchea indica* (L.) yang mana masih memiliki genus yang sama dengan tanaman yang digunakan pada penelitian terdahulu.

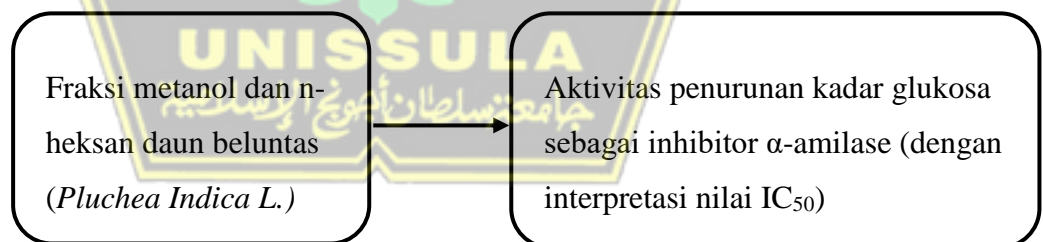


2.12. Kerangka teori



Gambar 4.2 Kerangka Teori

2.13. Kerangka konsep



Gambar 2.5 Kerangka konsep

2.13. Hipotesis

Hipotesis dari penelitian ini adalah fraksi metanol dan n-heksan daun beluntas (*Pluchea indica* L) memiliki aktivitas penurunan kadar glukosa dengan kemampuan menghambat enzim α -amilase.

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1. Jenis penelitian dan rancangan penelitian

3.1.1. Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah jenis penelitian eksperimental di mana pada penelitian ini menggunakan pendekatan penelitian kuantitatif yang termasuk dalam penelitian analitik.

3.1.2. Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan pada penelitian ini adalah rancangan penelitian *post-test only control group design*.

3.2. Variabel Penelitian dan Definisi Operasional

3.2.1. Variabel Penelitian

3.2.1.1. Variabel bebas

Variabel bebas pada penelitian ini yaitu Fraksi Metanol dan N-heksan Daun Beluntas (*Pluchea indica* L.)

3.2.1.2. Variabel terikat

Variabel terikat pada penelitian ini yaitu Aktivitas Penurunan Kadar Glukosa.

3.2.1.3. Variable kontrol

Variable kontrol pada penelitian ini yaitu suhu, pH, panjang gelombang, volume pipetkan sampel, volume pipetkan substrat, volume pipetkan enzim, volume pipetkan DNS

3.2.2. Definisi Operasional

3.2.2.1. Fraksi Metanol dan N-heksan Daun Beluntas (*Pluchea indica* L.)

Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi menggunakan metanol. Daun beluntas yang akan diteliti didapatkan dari Desa Celo, Kecamatan Ndawe, Kabupaten Kudus, Provinsi Jawa Tengah, Indonesia. Setelah ekstraksi, dilakukan fraksinasi dengan metode cair-cair menggunakan corong pisah. Fraksi pada penelitian ini menggunakan perbandingan 1:10 dimana ekstrak yang diambil 10gram dan dilarutkan pada masing-masing pelarut metanol dan n-heksan 100ml. Fraksi dibuat pada konsentrasi 31,25 µg/ml; 62,50µg/ml; 125 µg/ml; 250 µg/ml; dan 500 µg/ml²

Skala : Rasio

3.2.2.2. Aktivitas penurunan kadar glukosa

Aktivitas penurunan kadar glukosa merupakan kemampuan suatu sampel untuk menghambat enzim alfa amilase sehingga dapat menurunkan kadar glukosa. Aktivitas penurunan kadar glukosa dilihat pada nilai IC₅₀ yang didapatkan. Suatu senyawa dikatakan sebagai

nilai IC_{50} sangat kuat apabila nilai IC_{50} kurang dari 50 ppm, kuat apabila nilai IC_{50} antara 50-100 ppm, sedang apabila nilai IC_{50} berkisar antara 100-150 ppm, dan lemah apabila nilai IC_{50} berkisar antara 150-200 ppm

Skala : Rasio

3.2.2.3. Uji pendahuluan aktivitas inhibisi enzim α -amilase

Uji pendahuluan aktivitas enzim alfa-amilase merupakan uji yang dilakukan sebelum melakukan uji aktivitas inhibisi alfa-amilase. Uji pendahuluan aktivitas inhibisi enzim alfa amilase terdiri dari optimasi suhu dan optimasi pH. Optimasi tersebut dilakukan untuk mengetahui enzim bekerja pada suhu dan pH optimal.

Skala : Rasio

3.3. Populasi dan Sampel

3.3.1. Populasi

Populasi pada penelitian ini adalah Fraksi Metanol dan N-heksan Daun Beluntas (*Pluchea indica* L.)

3.3.2. Sampel

Sampel pada penelitian ini adalah fraksi metanol dan n-heksan Daun Beluntas (*Pluchea indica* L) pada konsentrasi 31,25 $\mu\text{g/ml}$; 62,50 $\mu\text{g/ml}$; 125 $\mu\text{g/ml}$; 250 $\mu\text{g/ml}$; dan 500 $\mu\text{g/ml}$.

3.4. Instrumen Penelitian dan Bahan Penelitian

3.4.1. Instrumen Penelitian

Instrumen yang digunakan pada penelitian ini adalah inkubator, tabung reaksi, pipet ukur, corong pisah, gelas ukur, gelas beaker, neraca analitik, bunsen, rotary evaporator, vacuum pump, dan cawan porselin.

3.4.2. Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah Daun Beluntas (*Pluchea indica* L), metanol, n-heksan, akarbosa, enzim α -amilase yang berasal dari *Bacillus licheniformis*, larutan dapar fosfat, pati 1%, DNS (*Dinitrosalicylic acid*), HCl, pereaksi Mayer dan Dragendroff, FeCl_3 1%, CHCl_3 , akuades.

3.5. Cara Penelitian

3.5.1. Determinasi Daun Beluntas (*Pluchea indica* L.)

Determinasi Daun Beluntas (*Pluchea indica* L.) dilakukan di laboratorium FMIPA Universitas Negeri Semarang

3.5.2. Pembuatan simplisia

Daun beluntas yang telah didapat kemudian dikumpulkan, dibersihkan dengan air mengalir dan ditiriskan, kemudian dikeringkan dengan cara dimasukkan ke dalam lemari pengering dengan temperatur $40-50^{\circ}\text{C}$ hingga kering yang ditandai apabila daun telah rapuh. Simplisia selanjutnya dihaluskan dengan menggunakan blender

menjadi serbuk hingga agak halus lalu dimasukkan kedalam wadah tertutup dan disimpan di tempat tertutup.

3.5.3. Ekstraksi dan Fraksinasi Daun Beluntas (*Pluchea indica* L.)

Daun beluntas yang sudah menjadi serbuk ditimbang dan diambil 300 g. Serbuk daun beluntas yang sudah ditimbang dimasukkan pada toples. Proses maserasi dilakukan dengan menambahkan metanol 96% sebagai pelarut dengan perbandingan 1:3 kemudian ditambahkan serbuk daun beluntas ke dalam toples. Setelah terisi dengan cairan penyari dan simplisia, wadah ditutup rapat lalu dibiarkan sampai kurun waktu 3 hari dan diaduk 1x24 jam, dan lakukan remaserasi hingga 3x. Filtrat dan endapan dipisahkan, selanjutnya filtrat diuapkan pada *rotary evaporator* dengan suhu 40°C dengan kecepatan 120rpm dan *waterbath* dengan suhu 40°C untuk mendapatkan ekstrak kental. (Roosevelt et al., 2015)

Ekstrak yang telah didapatkan kemudian difraksinasi dengan metode cair-cair menggunakan pelarut metanol dan n-heksan. Ekstrak yang telah diperoleh dipartisi dengan pelarut metanol dan n-heksan dengan perbandingan 1:10. Sebanyak 10 gram ekstrak dilarutkan dengan 100ml metanol dan dituangkan ke dalam corong pisah. Ditambahkan 100mL n-heksan ke dalam corong pisah kemudian digojog selama beberapa menit sambil sesekali membuka keran untuk mengeluarkan gas yang terbentuk. Larutan yang terbentuk didiamkan beberapa menit sampai bidang batas antara lapisan metanol dan lapisan

n-heksan terlihat. Lapisan atas merupakan lapisan non-polar yaitu n-heksan dan lapisan bawah adalah metanol. Lapisan dipisahkan dengan membuka katup corong pemisah untuk mengambil lapisan metanol, lapisan n-heksan didorong ke dalam corong kemudian ditambahkan pelarut n-heksan yang baru dengan perbandingan yang sama yaitu 100mL. Partisi dilakukan dengan cara yang sama sampai larutan n-heksan terlihat jernih (Wijayanti et al., 2021)

3.5.4. Skrining Fitokimia Fraksi Metanol dan N-heksan Daun Beluntas (*Pluchea indica* L.)

3.5.4.1. Flavonoid

Sebanyak 1 gram fraksi sampel dicampur dengan 5 ml etanol, dikocok, dipanaskan, dan dikocok lagi kemudian disaring. Kemudian ditambahkan Mg 0,2 g dan 3 tetes HCL pada masing-masing filtrat. Jika terjadi perubahan warna menjadi jingga sampai merah ungu menunjukkan adanya flavonoid. Jika warna kuning jingga menunjukkan adanya flavon, kalkon dan auron

3.5.4.2. Alkaloid

Sampel sebanyak 0,5 gram ditambahkan 1 ml asam klorida 2 N dan 9 ml air suling, dipanaskan di atas penangas air selama 2 menit, didinginkan dan disaring. Filtrat dipakai untuk tes alkaloida. Diambil 3 tabung reaksi lalu ke dalam masing-masing tabung reaksi dimasukkan 0,5 ml filtrat. Pada masing-masing tabung ditambahkan 2 tetes pereaksi, dan diamati hasilnya (Sulistyarini et al., 2019)

3.5.4.3. Saponin

Larutan fraksi sebanyak 1 gram dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan 10 ml air panas dan dikocok kuat selama 10 menit. Hasil dinyatakan positif apabila buih yang terbentuk stabil selama tidak kurang dari 10 menit, setinggi 1 cm sampai 10 cm. Pada penambahan 1 tetes HCl 2N, busa tidak hilang.

3.5.4.4. Tanin

Fraksi sampel masing-masing sebanyak 1 gram dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Kemudian ditambahkan 2-3 tetes FeCl₃ 1% pada tabung. Hasil positif ditandai dengan terbentuknya warna biru tua atau hitam kehijauan. (Deti Andasari et al., 2021)

3.5.4.5. Triterpenoid/ steroid

Sejumlah sampel dilarutkan dalam 0,5 mL kloroform dan direaksikan dengan 0,5 mL asam asetat anhidrat. Campuran tersebut ditambah 1-2 mL H₂SO₄ pekat melalui dinding tabung. Hasil positif terpenoid ditunjukkan dengan terbentuknya cincin kecoklatan atau violet pada perbatasan dua pelarut. (Afif et al., 2015)

3.5.5. Penyiapan larutan uji inhibisi alfa amilase

3.5.5.1. Pembuatan larutan enzim alfa-amilase

Ditimbang sebanyak 0,2 gram dilarutkan dengan dapar fosfat hingga larut di dalam gelas kimia lalu adu sampai homogen. Pindahkan larutan yang sudah homogen ke dalam labu

ukur 100ml, tambahkan dapar fosfat hingga 100ml dan kocok hingga homogen.

3.5.5.2. Pembuatan larutan dapar 6,8

Larutan dapar fosfat pH 6,8 dibuat dengan menambahkan 50mL KH_2PO_4 2N dengan 10ml NaOH 2N kemudian cukupkan dengan menambahkan aquadest hingga 200mL.

3.5.5.3. Pembuatan larutan dapar fosfat pH 6,9

Larutan dapar fosfat pH 6,9 dibuat dengan menambahkan 50mL KH_2PO_4 2N dengan 19 ml NaOH 2N kemudian cukupkan dengan menambahkan aquadest hingga 200mL.

3.5.5.4. Pembuatan larutan dapar fosfat pH 7

Larutan dapar fosfat pH 6,8 dibuat dengan menambahkan 50mL KH_2PO_4 2N dengan 25 ml NaOH 2N kemudian cukupkan dengan menambahkan aquadest hingga 200mL.

3.5.5.5. Pembuatan larutan dapar fosfat pH 7,2

Larutan dapar fosfat pH 6,8 dibuat dengan menambahkan 50mL KH_2PO_4 2N dengan 31 ml NaOH 2N kemudian cukupkan dengan menambahkan aquadest hingga 200mL.

3.5.5.6. Pembuatan larutan pati 1%

Ditimbang pati sebanyak 500mg kemudian larutkan dengan aquades sampai 50ml.

3.5.5.7. Pembuatan larutan baku NaOH 2N

Sebanyak 0,8 gram asam dinitrosalisilat dengan air bebas CO₂ hingga volume 10mL kedalam labu ukur, sehingga didapatkan konsentrasi 2N.

3.5.5.8. Pembuatan larutan Asam Dinitrosalisilat

Sebanyak 0,2 gram asam dinitrosalisilat ditimbang dan ditambahkan 4ml NaOH 2N diikuti dengan penambahan sodium potassium tartate tetrahydrate sebanyak 6 gram, kemudian ditambahkan air suling sebanyak 10ml hingga larut dan cukupkan volume hingga 20mL.

3.5.5.9. Pembuatan larutan akarbosa

Akarbosa ditimbang sebanyak 200 mg, masukkan ke dalam labu tentukur 100 ml, tambahkan DMSO secukupnya sampai serbuk larut, dan cukupkan dengan dapar fosfat pH 7. Lalu saring dengan kertas saring. Konsentrasi larutan akarbosa yang diperoleh yaitu 5000 µg/ml. Kemudian dilakukan pengenceran larutan akarbosa dengan dapar fosfat pH 6,8 hingga diperoleh konsentrasi 31,25 µg/ml; 62,5 µg/ml; 125,0 µg/ml; 250µg/ml dan 500 µg/ml.

3.5.5.10. Pembuatan larutan sampel

Larutan stok sampel dibuat dengan melarutkan 5 mg fraksi metanol dan n-heksan daun beluntas dengan 10 ml DMSO dalam mikrotube dan dicukupkan dengan dapar fosfat pH 7 sebanyak 40 ml hingga diperoleh konsentrasi 1000 µg/ml.

Kemudian dilakukan pengenceran larutan sampel dengan dapar fosfat pH 6,8 hingga memperoleh konsentrasi 31,25 µg/ml; 62,5 µg/ml; 125,0 µg/ml; 250µg/ml dan 500 µg/ml.

3.5.6. Uji pendahuluan aktivitas alfa-amilase

Sebelum dilakukan uji aktivitas inhibisi enzim alfa-amilase, terlebih dahulu dilakukan uji pendahuluan. Uji pendahuluan dilakukan untuk mengetahui suhu dan pH enzim yang optimal. Uji pendahuluan yang dilakukan pada penelitian ini yaitu optimasi suhu dan optimasi pH

3.5.6.1 Optimasi suhu

Optimasi suhu dilakukan dengan menambahkan 1 ml dapar fosfat pH 7 dengan 1 ml enzim alfa amilase. kemudian diinkubasi dengan suhu 37°C, 40°C, 50°C, dan 60°C selama masing-masing 30 menit. Lalu ditambahkan 1 ml pati 1% dan diinkubasi kembali selama 5menit. Setelah itu ditambahkan larutan DNS dan diletakkan diatas penangas suhu 100°C selama 5 menit hingga larutan berubah warna kemerahan. Lalu diukur absorbansinya pada spektrofotometri Uv-Vis panjang gelombang 540 nm.

3.5.6.2 Optimasi pH

Optimasi pH dilakukan dengan menambahkan 1 ml dapar fosfat pH 6,8; 6,9; 7; dan 7,2 dengan 1 ml enzim alfa amilase. kemudian diinkubasi dengan suhu 37°C selama masing-masing 30 menit. Lalu ditambahkan 1 ml pati 1% dan diinkubasi kembali selama 5menit.

Setelah itu ditambahkan larutan DNS dan diletakkan diatas penangas suhu 100°C selama 5 menit hingga larutan berubah warna kemerahan. Lalu diukur absorbansinya pada spektrofotometri Uv-Vis panjang gelombang 540 nm

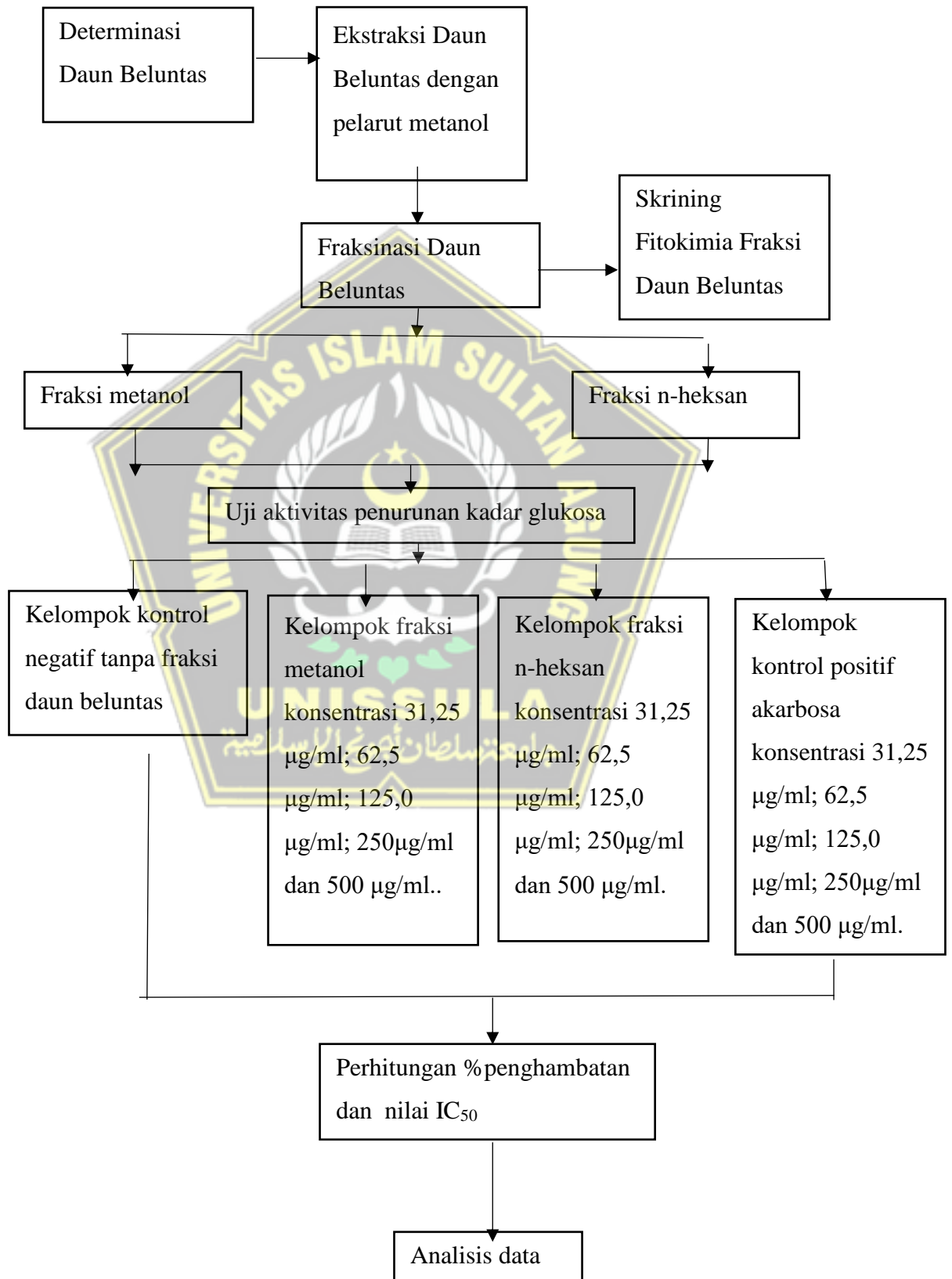
3.5.7 Uji Aktivitas Inhibisi Alfa amilase

Uji aktivitas inhibisi alfa amilase dilakukan dengan suhu dan pH optimal yang telah didapatkan dari uji pendahuluan sebelumnya. Uji aktivitas inhibisi alfa amilase dilakukan dengan menambahkan 1 ml sampel dengan 1 ml enzim alfa amilase kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit, kemudian ditambahkan larutan pati 1% dan diinkubasi kembali pada suhu 37°C selama 5 menit. Lalu ditambahkan 1 ml DNS dan diletakkan pada penangas suhu 100°C selama 5 menit sampai larutan berubah warna kemerahan. Larutan dibaca dengan spektrofotometri Uv-Vis dengan panjang gelombang 540 nm.

Pengujian pada kontrol positif dilakukan dengan tahapan yang sama hanya saja pada sampel diganti dengan larutan akarbosa. Pada kontrol negatif tidak menggunakan sampel.

Hasil absorbansi yang didapat kemudian dihitung % inhibisinya: Dari %inhibisi yang didapat kemudian diukur nilai IC_{50} dengan persamaan regresi linier $y=bx+a$.

3.6. Alur Penelitian



Gambar 2.6 Alur Penelitian

3.7. Lokasi dan Waktu Penelitian

3.7.1. Lokasi Penelitian

Lokasi penelitian dilaksanakan di Laboratorium Farmasi Universitas

Islam Sultan Agung Semarang pada bulan November 2022

3.7.2. Waktu Penelitian

No	Jenis kegiatan	Bulan			
		Februari	Juni	Juli	Agustus
1.	Determinasi tanaman				
2.	Pembuatan simplisia				
3.	Ekstraksi dan fraksinasi				
4.	Pembuatan larutan skrining fitokimia				
5.	Skrining fitokimia				
6.	Penyiapan larutan uji inhibisi α -amilase				
7.	Uji Pendahuluan				
8.	Uji inhibisi α -amilase				
9.	Analisis data				

3.8. Analisis Data

Data absorbansi yang diperoleh kemudian dihitung %inhibisi dan nilai IC_{50} yang dihitung dengan persamaan regresi $y=bx+a$ kemudian diolah dan dilakukan uji normalitas dan homogenitas. Diperoleh data

normal dan homogen sehingga dilanjutkan dengan pengujian ANOVA dan dilanjutkan dengan *Post Hoc LSD*



BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Penelitian

4.1.1 Determinasi Daun Beluntas (*Pluchea indica* L.)

Tanaman daun beluntas diperoleh dari daerah Colo, kecamatan Dawe, Kudus, Jawa Tengah. Determinasi tanaman daun beluntas dilakukan di Laboratorium Biologi FMIPA Universitas Negeri Semarang (UNNES). Hasil determinasi yang diperoleh terbukti bahwa sampel daun beluntas berasal dari tanaman beluntas (*Pluchea indica* L.) dari famili *Asteraceae* yang tercantum pada Lampiran 1.

Divisio : Tracheophyta

Classis : Magnoliopsida

SuperOrdo : Asteranae

Ordo : Asterales

Familia : Asteraceae

Genus : *Pluchea*

Species : *Pluchea indica* (L.) Less.

Vern.name : Beluntas / *Indian camphorweed*, *Indian pluchea*

4.1.2 Rendemen dan Kadar Air Ekstrak

Ekstrak daun beluntas didapatkan dari ekstraksi maserasi. Serbuk daun beluntas sebanyak 300 gram diperoleh ekstrak sebanyak 27,5 gram sehingga didapatkan persen rendemen sebesar 9,166%. Sedangkan bobot fraksi metanol 5,8 gram dan n-heksan didapatkan sebanyak 4,5 gram. Nilai rendemen fraksi metanol pada penelitian didapatkan sebesar 21,09% dan n-heksan sebesar 16,36%. Perhitungan rendemen ekstrak dan fraksi terdapat pada lampiran 7.

Penetapan kadar air dilakukan dengan menggunakan alat moisturizer test. Hasil kadar air tersaji pada Tabel 4.1

Tabel 4.1 Hasil Kadar Air

Sampel	% kadar air	Warna dan Bentuk Fisik
Ekstrak	4,75%	Hijau kental
Fraksi metanol	9,5%	Hijau kental
Fraksi N-heksan	9,25%	Hijau kental

4.1.3 Hasil Uji Skrining Fitokimia

Uji skrining fitokimia menggunakan analisis kualitatif dengan metode tabung pada pengamatan perubahan warna. Hasil uji skrining fitokimia metode tabung fraksi metanol dan n-heksan daun beluntas dapat dilihat pada Tabel 4.2

Tabel 4.2 Hasil Skrining Fitokimia

Golongan senyawa	Fraksi Metanol	Fraksi N-hesan
Alkaloid		
- mayer	+	-
- dragendroff	+	-
Flavonoid	+	+
Saponin	+	+
Tanin	+	-
Steroid	+	+
Triterpenoid	+	+

ket : (-)tidak adanya senyawa metabolik yang terkandung pada sampel.

(+)adanya senyawa metabolik yang terkandung pada sampel.

4.1.4 Uji Pendahuluan Inhibisi alfa-amilase

Sebelum melakukan uji aktivitas penurunan kadar glukosa pada fraksi metanol dan fraksin-heksan daun beluntas, terlebih dahulu dilakukan uji pendahuluan. Uji pendahuluan yang dilakukan meliputi uji optimasi suhu dan uji optimasi pH. Tujuan dari dilakukannya uji optimasi adalah untuk mendapatkan aktivitas enzim yang optimal. Aktivitas enzim yang digunakan 0,1 U/mg.

4.1.4.1. Optimasi Suhu

Optimasi suhu dilakukan dengan variasi suhu 30°C, 37°C, 40°C, 50°C, dan 60°C. Tahap pertama inkubasi dilakukan selama 30mnt pada tiap masing-masing suhu. Tahap kedua inkubasi dilakukan selama 5menit pada masing-masing suhu. Hasil yang didapatkan yaitu enzim bekerja optimal pada suhu 37°C.

4.1.4.2 Optimasi pH

Optimasi pH dilakukan dengan variasi pH yaitu 6,8; 6,9; 7,0; dan 7,2. Hasil yang diperoleh yaitu aktivitas enzim optimal pada pH 7.

4.1.5 Uji Aktivitas Penurunan kadar Glukosa Fraksi Metanol dan N-heksan Daun Beluntas

Uji penghambatan aktivitas α -amilase dilakukan pada dua fraksi yaitu fraksi n-heksan, dan fraksi metanol. Masing-masing fraksi dengan variasi konsentrasi 31,25; 62,5; 125; 250; dan 500 $\mu\text{g/ml}$. Tujuan dari adanya variasi konsentrasi yaitu untuk memperoleh persen penghambatan yang digunakan untuk menghitung nilai IC_{50} . Jika persen penghambatan yang diperoleh lebih besar maka efek yang ditimbulkan lebih baik. Sedangkan untuk nilai IC_{50} , jika menunjukkan nilai yang rendah maka efek yang ditimbulkan lebih besar.

Sebelum dilakukan uji penghambatan fraksi, dilakukan uji pada akarbosa sebagai kontrol positif. Perlakuan pada sampel, kontrol positif, dan kontrol negatif sama, hanya saja pada kontrol negatif tidak menggunakan sampel dan pada kontrol positif sampel digantikan dengan akarbosa. Kemudian setelah didapatkan nilai %inhibisi dihitung nilai IC_{50} dengan persamaan regresi $y=bx+a$. Hasil dari nilai IC_{50} dapat dilihat pada Tabel 4.3

Tabel 4.3 Nilai IC₅₀

Bahan Uji	Repetisi	Nilai IC ₅₀	IC ₅₀ rata-rata (µg/ml)
Akarbosa	1	47,7876	51,6646
	2	47,9877	
	3	59,2185	
Fraksi Metanol	1	68,4968	75,373
	2	79,8779	
Fraksi N- heksan	1	88,5308	84,6879
	2	91,0742	
	3	74,4587	

4.1.6 Analisis Pengukuran IC₅₀ Penurunan Kadar Glukosa Darah Fraksi

Metanol dan Fraksi N-Heksan Daun Beluntas

Analisis data pada penelitian ini dilakukan dengan menggunakan uji statistik untuk presentase penurunan kadar glukosa fraksi metanol dan fraksi n-heksan daun beluntas. Langkah pertama dalam analisis statistik yaitu dilakukan uji normalitas dan uji homogenitas. Uji normalitas dilakukan dengan Shapiro wilk karena jumlah data kurang dari 50. Uji homogenitas dilakukan dengan metode *Lavene Test*. Hasil analisis statistik data menunjukkan bahwa semua kelompok memiliki data terdistribusi normal dengan nilai signifikansi ($p > 0,05$), diperoleh hasil homogenitas ($p > 0,05$) sehingga kriteria uji parametrik *One Way ANOVA* terpenuhi dan dilanjutkan dengan uji *Post Hoc LSD* menentukan ada tidaknya perbedaan antar kelompok.

Tabel 4.4 Uji Normalitas Homogenitas dan One Way ANOVA

Perlakuan	Uji Shapiro Wilk	Ket.	Uji Lavene Test	Ket	One Way ANOVA
Kelompok 1	.338	Normal	.074	Homogen	.000
Kelompok 2	.272	Normal			
Kelompok 3	.247	Normal			
Kelompok 4	.396	Normal			

Tabel 4.5 Uji Post Hoc LSD

Perlakuan	Signifikansi	Keterangan
Kelompok 1 dan 2	.068	Tidak Berbeda Bermakna
Kelompok 1 dan 3	.522	Tidak Berbeda Bermakna
Kelompok 1 dan 4	.000*	Ada Perbedaan Bermakna
Kelompok 2 dan 3	.188	Tidak Berbeda Bermakna
Kelompok 2 dan 4	.000*	Ada Perbedaan Bermakna
Kelompok 3 dan 4	.000*	Ada Perbedaan Bermakna

Kelompok 1 : Fraksi Metanol

Kelompok 2 : Fraksi N-heksan

Kelompok 3 : Kontrol Positif

Kelompok 4 : Kontrol Negatif

4.2 Pembahasan

4.2.1 Determinasi Tanaman Beluntas

Determinasi tanaman beluntas bertujuan untuk membuktikan kebenaran tanaman yang dipakai pada penelitian. Sampel yang diambil adalah daun beluntas. Daun Beluntas didapatkan di daerah desa Colo, kecamatan Ndawe, kabupaten Kudus, Jawa Tengah. Determinasi tanaman dilakukan di Laboratorium Biologi FMIPA, Universitas Negeri Semarang. Dari proses determinasi diperoleh hasil yang menunjukkan bahwa benar

daun beluntas termasuk dalam famili asteraceae dengan spesies *Pluchea indica* (L.) Less.

4.2.2 Ekstraksi Metanol Daun Beluntas

Metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi. Maserasi merupakan metode ekstraksi yang banyak digunakan pada penelitian karena memiliki keuntungan cara pengerjaannya lebih mudah dan juga memerlukan peralatan yang minim. Selain itu juga metode maserasi memungkinkan bahan yang sudah halus memungkinkan untuk direndam dalam pelarut sampai meresap dan melunakkan susunan sel, sehingga zat-zat yang mudah larut akan terlarut. (Diana Febriani et al., 2015). Pengadukan pada maserasi dilakukan untuk menjamin keseimbangan konsentrasi bahan yang diekstraksi lebih cepat didalam pelarut. Remaserasi bertujuan untuk menyari kembali senyawa-senyawa yang mungkin masih tertinggal. (Wendersteyt et al., 2021)

Ekstraksi maserasi pada penelitian ini menggunakan pelarut metanol karena metanol dapat melarutkan senyawa-senyawa polar dan nonpolar sehingga sangat baik untuk mengekstraksi kandungan metabolik dalam tumbuhan. Adanya gugus hidroksil pada strukturnya membuat metanol mampu menarik semua komponen polar, sedangkan adanya gugus metil membuat metanol mampu menarik semua komponen non polar yang terkandung dalam daun beluntas. (Saputra et al., 2018) Ekstrak diukur kadar airnya menggunakan alat *moisturizer test* dan didapatkan kadar air ekstrak sebesar 4,75%. Hal ini sesuai dengan persyaratan kadar air yang baik yakni

<10%. Kadar air akan mempengaruhi kestabilan ekstrak, apabila kadar air >10% maka memungkinkan terjadinya ketidakstabilan ekstrak dan pertumbuhan mikroba didalamnya. (Febriyenti et al., 2018)

4.2.3 Fraksinasi Daun Beluntas

Fraksinasi dilakukan dengan metode cair-cair yaitu proses pemisahan suatu komponen dari fase cair ke fase cair lainnya. Fraksinasi pada penelitian ini menghasilkan 2 fraksi yaitu fraksi metanol dan fraksi n-heksan. Fraksi metanol digunakan untuk melarutkan senyawa yang bersifat polar sedangkan fraksi n-heksan dapat melarutkan senyawa yang bersifat non-polar. Pada lapisan atas lapisan n-heksan dan pada lapisan bawah adalah metanol. Hal ini terjadi karena bobot jenis dari kedua pelarut tersebut berbeda. Bobot jenis dari metanol yaitu $0,7918 \text{ gr/cm}^3$, lebih besar dibandingkan dengan bobot jenis n-heksan yaitu $0,6548 \text{ gr/cm}^3$. (Anjaswati et al., 2021) Lapisan metanol diambil dengan cara membuka kran corong pisah secara perlahan kemudian lakukan hal yang sama pada lapisan n-heksan. Lalu masukkan kembali lapisan metanol ke dalam corong pisah kemudian tambahkan n-heksan dengan perbandingan yang sama. Partisi dengan cara yang sama sampai larutan n-heksan terlihat jernih. (Wijayanti et al., 2021)

Hasil rendemen pada penelitian ini berbeda dengan penelitian terdahulu. Penelitian lain didapatkan rendemen sebesar 23%. Perbedaan ini dapat disebabkan karena metode maserasi tidak dilakukan pergantian pelarut secara berkala sehingga terjadi kejenuhan pelarut. Akibatnya,

senyawa aktif tidak tersari secara sempurna. Selain itu, perbedaan suhu dan perbandingan pelarut juga mempengaruhi hasil rendemen (Safitri et al., 2018)

4.2.4 Skrining Fitokimia

Uji skrining fitokimia dilakukan uji secara kualitatif dari fraksi metanol dan n-heksan daun beluntas. Hasil skrining daun beluntas mengandung beberapa kandungan senyawa diantaranya alkaloid, flavonoid, saponin, terpenoid, dan tanin. Fraksi metanol dan n-heksan diidentifikasi mengandung senyawa flavonoid dengan perubahan warna menjadi jingga sampai merah keunguan setelah bereaksi dengan Mg 0,2 gr dan 3 tetes HCl pada masing-masing fraksi. Hasil pengujian flavonoid pada fraksi metanol dan n-heksan daun beluntas adalah positif. Pada reaksi flavonoid dengan penambahan HCl dan logam Mg untuk mereduksi inti berzopiron yang terdapat dalam senyawa flavonoid sehingga terbentuk warna merah jingga. (Agustina et al., 2017)

Alkaloid diidentifikasi dengan menggunakan pereaksi Mayer, dan Dragendroff. Hasil positif dari adanya alkaloid ditunjukkan dengan adanya endapan kuning dan jingga. (Sulistyarini et al., 2019) Hasil dari pengujian alkaloid fraksi metanol daun beluntas adalah positif, sedangkan pada fraksi n-heksan tidak terdeteksi adanya alkaloid. Alkaloid memiliki basa nitrogen pada rantai sikliknya dan mengandung beragam substituen sehingga alkaloid bersifat semipolar, sehingga mampu larut pada pelarut polar dan nonpolar. (W. S. Putri et al., 2013) Prinsip dari reaksi pengendapan yang

terjadi karena adanya peran atom nitrogen yang mempunyai pasangan elektron bebas pada alkaloid dapat mengganti ion iodo dalam perikatan kovalen koordinasi dengan ionisi-pereaksi tersebut sehingga membentuk ion logam. (Agustina et al., 2017)

Saponin diidentifikasi dengan menambahkan 10 ml air panas dan dikocok kuat selama 10 menit. Hasil dinyatakan positif apabila terdapat buih yang terbentuk dan stabil tidak kurang dari 10 menit, setinggi 1cm sampai 10 cm. Pada penambahan 1 tetes HCl 2N busa tidak hilang. Hasil dari pengujian saponin fraksi metanol dan n-heksan daun beluntas adalah positif. Saponin bersifat polar sehingga dapat larut dalam pelarut polar, saponin juga bersifat nonpolar karena memiliki gugus hidrofob yaitu aglikon (sapogenin). Busa yang dihasilkan pada uji saponin disebabkan karena adanya glikosida yang dapat membentuk busa dalam air dan terhidrolisis menjadi glukosa dan senyawa lainnya. (Agustina et al., 2017)

Terpenoid diidentifikasi dengan penambahan pereaksi H_2SO_4 pekat. Uji positif triterpenoid ditunjukkan dengan terbentuknya cincin berwarna kehitaman diantara 2 pelarut. Hasil dari pengujian terpenoid fraksi metanol dan n-heksan daun beluntas adalah positif. Pada pengujian terpenoid menggunakan asam asetat anhidrat dan H_2SO_4 , terbentuk warna ungu atau jingga menandakan adanya triterpenoid. Hal ini disebabkan oleh kemampuan senyawa terpenoid membentuk warna oleh H_2SO_4 dalam pelarut asam asetat anhidrat.

Tanin diidentifikasi dengan penambahan 2-3 tetes FeCl₃ 1%. Hasil positif ditandai dengan terbentuknya warna biru tua atau hitam kehijauan. Hasil dari pengujian tanin pada fraksi metanol adalah positif dan n-heksan daun beluntas adalah negatif. Senyawa tanin adalah senyawa yang bersifat polar karena adanya gugus OH, maka ketika sampel ditambahkan FeCl₃ 10% akan terjadi perubahan warna seperti biru tua atau hijau kehitaman yang menandakan adanya senyawa tanin. (Sulistyarini et al., 2019)

4.2.5 Uji Pendahuluan Inhibisi Fraksi Metanol dan N-heksan Daun

Beluntas Dengan Metode Inhibisi Enzim Alfa-Amilase

Uji optimasi dilakukan untuk mengetahui enzim bekerja optimal pada suhu dan pH tertentu. Optimasi suhu pada penelitian ini dilakukan dengan variasi suhu 37°C, 40°C, 50°C, dan 60°C. Hasil penelitian suhu optimal yaitu suhu 37°C. Hasil tersebut sesuai literatur yang mengatakan bahwa enzim alfa amilase optimal pada suhu 37°C. (Soeka, 2015) Sedangkan pada uji optimasi pH terletak pada pH optimal 7, sesuai dengan literatur yang mengatakan enzim alfa amilase optimal pada pH 7 (Soeka, 2015)

4.2.6 Uji Inhibisi Fraksi Metanol dan N-heksan Daun Beluntas Dengan

Metode Inhibisi Enzim Alfa-Amilase

Uji inhibisi fraksi metanol dan n-heksan daun beluntas menggunakan metode inhibisi enzim alfa-amilase. Alfa amilase merupakan enzim yang berfungsi memecah karbohidrat menjadi gula sederhana dan glukosa. Pengujian inhibisi alfa amilase mengacu pada penelitian (Odhav et al., 2010) Pada penelitian ini digunakan metode *dinitrosalicylic acid* (DNS)

karena metode ini umum digunakan dalam pengujian inhibisi enzim alfa amilase dan juga memiliki tingkat ketelitian yang tinggi sehingga dapat diaplikasikan pada gula dengan kadar kecil sekalipun. (Rulianah et al., 2017) DNS adalah senyawa aromatis yang mampu bereaksi dengan gula reduksi membentuk asam 3-amino-5-nitrosalisilat yang merupakan suatu senyawa yang mampu menyerap radiasi gelombang elektromagnetik pada panjang gelombang maksimum 540 nm. (Gaspersz et al., 2022) Prinsip dari metode DNS dalam pengujian inhibisi enzim alfa amilase adalah pengukuran gula reduksi hasil reaksi hidrolisis pati oleh enzim alfa amilase yang kemudian diukur absorbansinya dengan metode spektrofotometri. Reagen DNS yang digunakan terbentuk dari senyawa 2-hidroksi-5-asam dinitrobenzoat yang berfungsi sebagai oksidan, potasium sodium tartate tetrahidrate atau garam *Rochelle* yang berfungsi untuk mencegah disolusi oksigen dalam reagen, dan natrium hidroksida untuk menyediakan media yang dibutuhkan dalam reaksi redoks. (Sari sasi gendro, 2022) Pada penelitian ini digunakan pati sebagai substrat. Pati merupakan polimer glukosa yang terbentuknya diawali dengan ikatan glikosida yaitu ikatan antara molekul glukosa melalui oksigen pada atom karbon pertama (C1). (Nangin & Sutrisno, 2015) Perlakuan inkubasi bertujuan untuk memberi kesempatan enzim dengan substrat untuk mengkatalisis reaksi hidrolisis pati. Perlakuan peningkatan suhu menjadi 100°C dilakukan untuk menghentikan reaksi katalisis enzim alfa-amilase. Pada proses pemanasan 100°C enzim akan mengalami gangguan pada struktur tiga dimensi dan

perubahan konfigurasi enzim, sehingga menyebabkan kemampuan katalisis enzim menghilang dan menyebabkan enzim menjadi tidak aktif. (Wahyuni et al., 2017)

Aktivitas katalisis dari enzim alfa amilase dengan pati akan menghasilkan gula reduksi. Sampel dalam penelitian ini dimaksudkan menjadi senyawa inhibitor yang mampu menghambat kerja enzim alfa amilase dalam mengkatalisis pati atau substrat sehingga tidak terbentuk gula reduksi. Pada metode DNS gula reduksi akan bereaksi dengan 3-5 dinitrosalicylic acid (DNS) dan menghasilkan senyawa 3-amino-5 nitrosalisilat yang berwarna jingga kemerahan dan dapat diukur dengan spektrofotometri. Tidak terbentuknya gula pereduksi menyebabkan intensitas warna yang terbentuk menurun, sehingga absorbansi pada panjang gelombang maksimum pun menurun. Semakin kecil nilai absorbansi yang diukur semakin besar pula potensi sampel dalam menghambat enzim alfa amilase. (Nugraha & Hasanah, 2018)

Pengukuran inhibisi alfa amilase dilihat berdasarkan pada nilai IC_{50} . Semakin kecil nilai IC_{50} maka semakin besar potensi suatu senyawa dalam menghambat enzim alfa amilase.

Pengujian pertama yang dilakukan adalah pengujian pada akarbosa. Akarbosa merupakan obat yang sering digunakan pada penelitian inhibisi alfa amilase karena memiliki mekanisme menghambat kerja enzim alfa amilase dengan bekerja pada usus halus dan memperlambat penyerapan karbohidrat melalui sistem kompetitif dari enzim pencernaan.

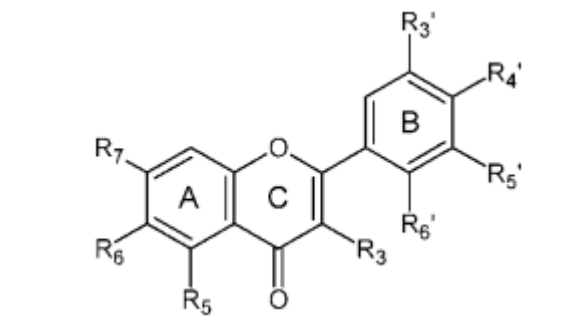
Selanjutnya dilakukan pengujian terhadap sampel fraksi metanol dan n-heksan. Pengukuran dilakukan dengan cara yang sama dengan kontrol negatif dan kontrol positif. Hasil dari rata-rata IC_{50} fraksi metanol adalah 75,37 $\mu\text{g/ml}$ dan pada fraksi n-heksan adalah 84,68 $\mu\text{g/ml}$. Kedua hasil tersebut berdasarkan parameter nilai IC_{50} maka termasuk dalam kategori kuat.

4.2.7 Pengaruh Fraksi Metanol dan Fraksi N-heksan Daun Beluntas

Terhadap Penurunan Kadar Glukosa

Hasil dari analisis SPSS menunjukkan bahwa terdapat perbedaan bermakna antara kontrol negatif dengan fraksi metanol dan n-heksan. Hal ini menunjukkan bahwa fraksi metanol dan n-heksan daun beluntas memiliki aktivitas penurunan kadar glukosa. Kemampuan fraksi metanol dan n-heksan didapatkan dari adanya kandungan senyawa metabolik seperti flavonoid, tanin, terpenoid, dan saponin.

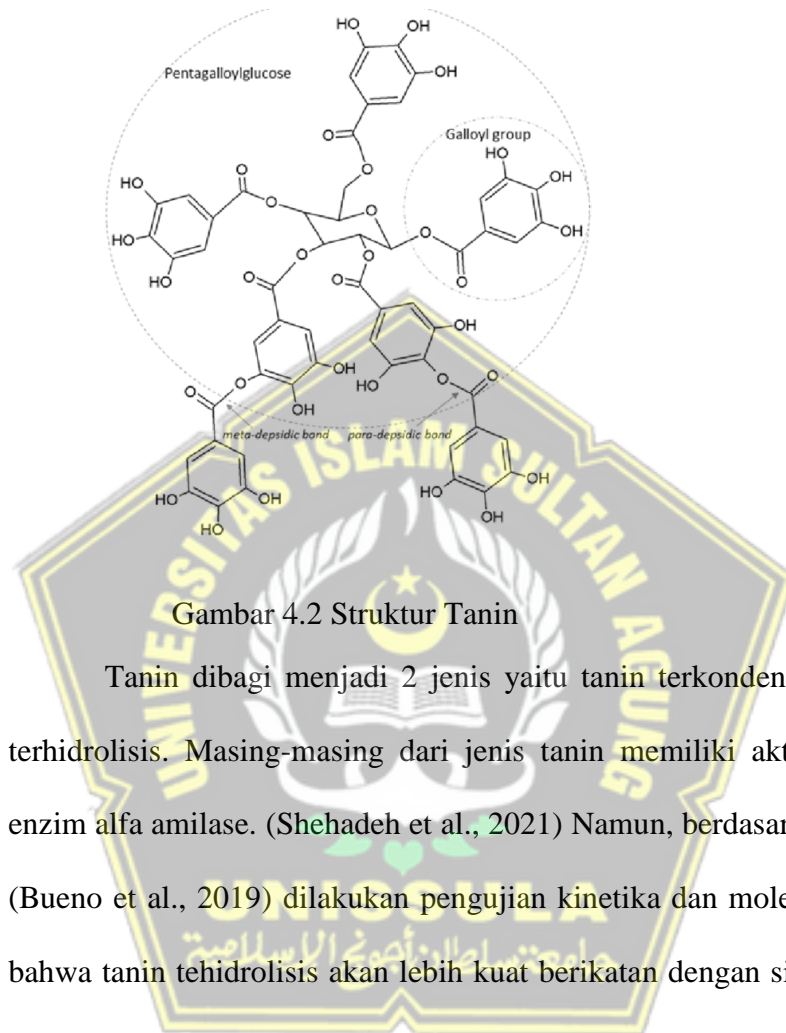
Fraksi metanol dan n-heksan memiliki potensi dalam menghambat alfa amilase karena adanya kandungan flavonoid, tanin, dan terpenoid. Flavonoid merupakan senyawa fenolik alami yang banyak ditemukan pada tanaman dan memiliki beberapa aktivitas metabolik.



Gambar 4.1 Struktur Flavon dan Flavonol

Flavonoid memiliki kerangka struktural umum yang terdiri dari dua cincin aromatik (A dan B) yang dihubungkan melalui tiga karbon yang melekat pada cincin A, membentuk heterosiklus teroksigenasi (cincin C) dan dibagi menjadi beberapa kelompok. Interaksi antara flavonoid dengan enzim alfa amilase telah diteliti bahwa flavonoid menunjukkan potensi penghambatan yang berkorelasi dengan jumlah gugus hidroksil pada cincin B flavonoid. Interaksi terjadi dengan pembentukan ikatan hidrogen antara gugus hidroksil pada posisi R6 atau R7 dari cincin A dan posisi R4' atau R5; dari cincin B ligan polifenol dan residu katalitik dari tempat pengikatan dan pembentukan sistem π -terkonjugasi yang menstabilkan interaksi dengan situs aktif. (de Sales et al., 2012) Ikatan rangkap C2-C3 terkonjugasi ke gugus 4-keto dan bertanggungjawab atas delokalisasi elektron antara benzopiron (cincin C) dan cincin benzena(A). Apabila senyawa terkonjugasi maka akan memberikan stabilitas senyawa yang lebih baik ketika berikatan dengan enzim. ikatan yang menonjol pada reaksi ini adalah ikatan hidrogen yang terbentuk antara atom oksigen karboksil rantai

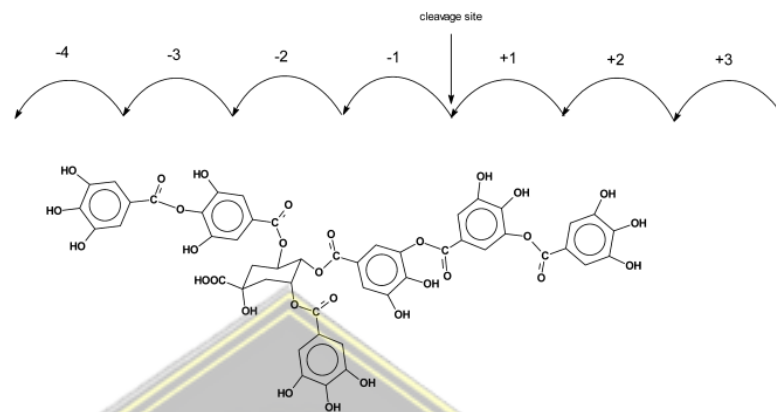
samping dan gugus hidroksil flavonoid yang meniru ikatan glikosidik yang biasanya dibelah oleh enzim alfa amilase. (Lo Piparo et al., 2018)



Gambar 4.2 Struktur Tanin

Tanin dibagi menjadi 2 jenis yaitu tanin terkondensasi dan tanin terhidrolisis. Masing-masing dari jenis tanin memiliki aktivitas inhibisi enzim alfa amilase. (Shehadeh et al., 2021) Namun, berdasarkan penelitian (Bueno et al., 2019) dilakukan pengujian kinetika dan molecular docking bahwa tanin terhidrolisis akan lebih kuat berikatan dengan sisi aktif enzim daripada tanin terkondensasi. Tanin memiliki potensi dalam menghambat aktivitas enzim alfa amilase. Struktur pada tanin yang berpotensi dalam menghambat enzim alfa amilase yaitu asamgallyokuinat. Situs enzim alfa amilase terdiri dari 7 subsitus dan situs katalitik terletak diantara subsitus (-1) dan subsitus (+1). Gugus OH dari substrat pati dapat berikatan dengan asam amino dari celah situs aktif, gugus OH pada molekul asam

gallyokuinat juga dapat berperan dalam ikatan hidrogen pada enzim alfa amilase.



Gambar 4.3 Subsitus Alfa-amilase

Terpenoid memiliki aktivitas inhibisi enzim alfa amilase, khususnya pada jenis oleanane, ursane dan lupane. (de Sales et al., 2012) Untuk aktivitas α -amilase, tampaknya keragaman kerangka struktural triterpen pentasiklik memiliki dampak yang signifikan terhadap penghambatan. Fakta bahwa asam ursolat menunjukkan penghambatan yang lebih kuat daripada asam oleanolik menunjukkan bahwa pergeseran gugus metil C-29 dari C-20 ke C-19 dapat meningkatkan penghambatan α amilase. Penghambatan asam betulinic jauh lebih banyak lebih lemah dari pada asam ursolat dan asam oleanolik, menunjukkan bahwa cincin-E beranggota enam mungkin penting untuk penghambatan. Selain itu, kelompok substituen dan posisinya juga memiliki beberapa berdampak pada aktivitas penghambatan. Asam korosolat menunjukkan lebih besar penghambatan daripada asam asiatic, menunjukkan bahwa pengenalan gugus hidroksil pada C-24 dapat melemahkan penghambatan. (Zhang et al., 2017)

Hasil analisis menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan bermakna antara fraksi metanol dan fraksi n-heksan dengan kontrol positif. Hal ini berarti aktivitas penurunan kadar glukosa yang dimiliki fraksi metanol dan n-heksan sama atau sebanding dengan aktivitas yang dimiliki oleh akar bosa.

Nilai IC_{50} merupakan parameter dalam pengukuran aktivitas inhibisi enzim alfa-amilase. Nilai IC_{50} adalah kemampuan suatu sampel yang dapat menghambat 50% aktivitas enzim alfa amilase pada suatu uji. Didapatkan rata-rata nilai IC_{50} pada fraksi metanol daun beluntas sebesar 75,373 $\mu\text{g/mL}$, pada fraksi n-heksan daun didapatkan nilai IC_{50} sebesar 84,6879 $\mu\text{g/mL}$, dan pada kontrol positif akar bosa didapatkan nilai IC_{50} sebesar 51,6646 $\mu\text{g/mL}$. Dari hasil nilai IC_{50} yang didapat maka disimpulkan bahwa aktivitas penurunan kadar glukosa dari fraksi metanol dan fraksi n-heksan adalah kuat. (Arditiana et al., 2015)

Hasil *Post Hoc* LSD menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan bermakna antara fraksi metanol dan fraksi n-heksan. Hal ini berarti bahwa dari kedua sampel tersebut memiliki aktivitas penurunan kadar glukosa sama atau sebanding.

Keterbatasan dalam penelitian ini adalah belum dilakukan uji aktivitas secara in-vivo pada fraksi metanol dan fraksi n-heksan daun beluntas sehingga belum diketahui apakah hasil uji secara invitro ini linier dengan hasil uji secara in-vivo. Selain itu juga belum dilakukan isolasi

sehingga belum diketahui pasti senyawa aktif yang memiliki aktivitas sebagai penurun kadar glukosa.



BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

5.1.1 Fraksi metanol dan fraksi n-heksan daun beluntas (*Pluchea indica* L.) memiliki aktivitas penurunan kadar glukosa dengan inhibisi enzim alfa amilase.

5.1.2 Fraksi metanol daun beluntas positif mengandung senyawa metabolik sekunder alkaloid, flavonoid, tanin, terpenoid, dan steroid, sedangkan fraksi n-heksan daun beluntas mengandung flavonoid, saponin, terpenoid, dan steroid.

5.1.3 Fraksi metanol daun beluntas (*Pluchea indica* L.) mempunyai aktivitas tertinggi dalam menghambat enzim alfa amilase dengan nilai rata-rata IC₅₀ adalah 75,373 µg/ml, sedangkan pada fraksi n-heksan memiliki nilai IC₅₀ sebesar 84,6879 µg/ml

5.2 Saran

5.2.1 Perlunya dilakukan penelitian lebih lanjut untuk aktivitas antidiabetes daun beluntas (*Pluchea indica* L.) menggunakan hewan uji.

5.2.2 Perlunya dilakukan penelitian lebih lanjut untuk aktivitas antidiabetes daun beluntas (*Pluchea indica* L.) secara in vitro untuk menemukan senyawa aktif dalam fraksi metanol dan fraksi n-heksan dengan cara proses isolasi.

DAFTAR PUSTAKA

- Afif, S., Fasya, A. G., & Ningsih, R. (2015). *Extraction , Toxicity Assay and Identification of Active Compounds of Red Algae (Eucheuma cottonii) from Sumenep Madura*. 4(2), 101–106.
- Agustina, W., Nurhamidah, & Handayani, D. (2017). Skrining Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Beberapa Fraksi dari Kulit Banteng Jarak (*Ricinus communis L.*). *Jurnal Pendidikan Dan Ilmu Kimia*, 1(2), 117–122.
- Alfiani, L. A. (2022). Uji Aktivitas Penghambatan Enzim α -amilase oleh Ekstrak Herba Ciplukan (*Physalis Angulate L*) Secara In Vitro. *Jurnal Ilmiah Wahana Pendidikan*, 8(September), 335–346.
<https://doi.org/https://doi.org/10.5281/zenodo.7049485>
- Anjaswati, D., Pratimasari, D., & Nirwana, A. P. (2021). Perbandingan Rendemen Ekstrak Etanol , Fraksi n- Heksana , Etil Asetat , dan Air Daun Bit (*Beta vulgaris L .*) Menggunakan Fraksinasi Bertingkat. *Stikes*, 1(1), 1–6.
- Arditiana, A., Rochmawati, N., Widinugroho, P., & Puspitasari, R. D. (2015). HIPERTENSI DAN DIABETES Supplements of Black Grass Jelly and Banaba Leaves to Treatment Cholesterol , Hypertension , and Diabetes. *Jurnal Pangan Dan Agroindustri*, 3(1), 166–173.
- Baynest, H. W. (2015). Classification, Pathophysiology, Diagnosis and Management of Diabetes Mellitus. *Journal of Diabetes & Metabolism*, 06(05).
<https://doi.org/10.4172/2155-6156.1000541>
- Bueno, P. S. A., Kato-Schwartz, C. G., de Souza Lima, D., Bracht, A., Peralta, R. M., & Seixas, F. A. V. (2019). In silico evaluation of condensed and hydrolysable tannins as inhibitors of pancreatic α -amylase. *Journal of Molecular Modeling*, 25(9). <https://doi.org/10.1007/s00894-019-4176-3>
- Constanty, I. C., & Tukiran, T. (2021). AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DARI FRAKSI n-HEKSANA KULIT BATANG TUMBUHAN JAMBU SEMARANG (*Syzygium samarangense*). *Jurnal Kimia Riset*, 6(1), 1.

<https://doi.org/10.20473/jkr.v6i1.24467>

de Sales, P. M., de Souza, P. M., Simeoni, L. A., Magalhães, P. de O., & Silveira, D. (2012). α -amylase inhibitors: A review of raw material and isolated compounds from plant source. *Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 15(1), 141–183. <https://doi.org/10.18433/j35s3k>

DEPKES RI. (2005). Pharmaceutical Care Untuk Penyakit Diabetes Mellitus. *Departemen Kesehatan RI*, 1–89.

Deti Andasari, S., Hana Mustofa, C., & Oktavia Arabela, E. (2021). Standarisasi Parameter Spesifik Dan Non Spesifik Ekstrak Etil Asetat Daun Beluntas (*Pluchea indica* L.). *Jurnal Ilmu Farmasi*, 12(1), 47–53.

Diana Febriani, Dina Mulyati, & Endah Rismawati. (2015). Karakterisasi Simplisia dan Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata* Linn). *Prosiding Penelitian SPeSIA Unisba*, 475–480.

Fachri, B. A., Palupi, B., Rahmawati, I., & Rizkiana, M. F. (2021). Peningkatan Kapasitas Masyarakat di Desa Pujer Baru Dengan Pemanfaatan Tanaman Beluntas Sebagai Bahan Baku Essential Oil dan Turunannya. *Warta Pengabdian*, 15(1), 10–21. <https://doi.org/10.19184/wrtp.v15i1.14874>

Fariyanto, D. E., Bioteknologi, P. S., Teknologi, J., Pertanian, H., Teknologi, F., & Brawijaya, U. (2020). *Kata kunci: α -amilase; kacang hijau (*Phaseolus Radiatus* L); kecambah*. 4, 68–77.

Fatimah, R. N. (2015). Diabetes Melitus Tipe 2 [Artikel Review] Diabetes Melitus Tipe 2. *Jurnal Majority*, 2(5), 93–101. [jurnal_diabetes_type_2-with-cover-page-v2.pdf](#)

Febriyenti, Suharti, N., Lucida, H., Husni, E., & Sedona, O. (2018). 178-674-5-Pb. *Sains Farmasi Dan Klinis*, 5(1), 23–27.

Gaspersz, N., Fransina, E. G., & Ngarbingan, A. R. (2022). Uji Aktivitas Penghambatan Enzim α -Amilase dan Glukoamilase dari Ekstrak Etanol Daun

- Kirinyuh (*Chromolaena odorata* L.). *Jurnal Kimia Mulawarman*, 19(2), 51.
<https://doi.org/10.30872/jkm.v19i2.1120>
- Gupta, A., Sharma, M., & Sharma, J. (2015). *Review Article A Role of Insulin in different types of Diabetes*. 4(1), 58–77.
- Hasanah, U. (2013). Insulin Sebagai Pengatur kadar Gula Darah. *Jurnal Keluarga Sehat Sejahtera*, 11(22), 42–49.
- Husna, A. N., & Murbawani, A. (2016). PENGARUH PEMBERIAN BUBUK CENGKIH (*Syzigium aromaticum*) TERHADAP KADAR GLUKOSA DARAH PUASA DAN 2 JAM POSTPRANDIAL PADA WANITA PREDIABETES. *Journal of Nutrition College*, 5(3), 156–165.
- Koirewoa, Y. A., Fatimawali, & Wiyono, W. I. (2012). Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid Dalam Daun Beluntas (*Pluchea indica* L.). *Pharmacon*, 1(1), 47–52.
- Lo Piparo, E., Scheib, H., Frei, N., Williamson, G., Grigorov, M., & Chou, C. J. (2018). Flavonoids for controlling starch digestion: Structural requirements for inhibiting human α -amylase. *Journal of Medicinal Chemistry*, 51(12), 3555–3561. <https://doi.org/10.1021/jm800115x>
- Marliana, E., & Saleh, C. (2011). Uji Fitokimia dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kasar Etanol, Fraksi n-Heksana, Etil Asetat dan Metanol dari Buah Labu Air (*Lagenaria siceraria* (Molina) Standl). *Jurnal Kimia Mulawarman*, 8(2), 63–69.
- Mohamad, Irfan Fitriansyah; and Raden, B. I. (2017). REVIEW: PROFIL FITOKIMIA DAN AKTIVITAS FARMAKOLOGI BALUNTAS (*Pluchea indica* L.). *Unsrat Press*, 16(2), 337–346.
- Monteiro de Souza, P. (2012). *Inhibitory Activity of α -Amylase and α -Glucosidase by Plant Extracts from the Brazilian Cerrado*. 393–399.
- Nangin, D., & Sutrisno, A. (2015). Enzim Amilase Pemecah Pati Mentah dari

- Mikroba : Kajian Pustaka. *Jurnal Pangan Dan Agroindustri*, 3(3), 1032–1039.
- Ngugi, M. P., Makenzi, N., & Njagi, J. (2014). *Diabetes mellitus – A devastating metabolic disorder*. *Diabetes mellitus – a devastating metabolic disorder*. January 2015. <https://doi.org/10.15272/ajbps.v4i40.645>
- Noer, S., Pratiwi, R. D., Gresinta, E., Biologi, P., & Teknik, F. (2014). Penetapan Kadar Senyawa Fitokimia (Tanin, Saponin Dan Flavonoid Sebagai Kuersetin) Pada Ekstrak Daun Inggu (*Ruta angustifolia* L.). *Eksata: Jurnal Ilmu-Ilmu MIPA*, 19–29.
- Nugraha, M. R., & Hasanah, A. N. (2018). Metode Pengujian Aktifitas Antidiabetes. *Farmaka*, 16(3), 28–34.
- Oboh, G., Babatunde, O., Damilola, M., & Adeniyi, S. (2016). *ScienceDirect Influence of gallic acid on α -amylase and α -glucosidase inhibitory properties of acarbose*. 4–11. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2016.03.003>
- Odhav, B., Kandasamy, T., Khumalo, N., & Baijnath, H. (2010). Screening of African traditional vegetables for their alpha-amylase inhibitory effect. *Journal of Medicinal Plants Research*, 4(14), 1502–1507. <https://doi.org/10.5897/JMPR09.090>
- Of, D., & Mellitus, D. (2014). Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*, 37(SUPPL.1), 81–90. <https://doi.org/10.2337/dc14-S081>
- Petersmann, A., Müller-Wieland, D., Müller, U. A., Landgraf, R., Nauck, M., Freckmann, G., Heinemann, L., & Schleicher, E. (2019). Definition, Classification and Diagnosis of Diabetes Mellitus. *Experimental and Clinical Endocrinology and Diabetes*, 127, S1–S7. <https://doi.org/10.1055/a-1018-9078>
- Putri, L., Haryanto, E., & Syamsul, A. (2019). *Korelasi Kadar Trigliserida Dengan Kadar Glukosa Pada Penderita Diabetes Mellitus Tipe II*. 8(1), 672–676.
- Putri, T. A., Ruyani, A., & Nugraheni, E. (2017). Uji Efek Pemberian Ekstrak

- Metanol Daun Beluntas (*Pluchea Indica L*) terhadap Kadar Glukosa dan Trigliserida Darah Mencit (*Mus Musculus*) yang Diinduksi Sukrosa. *Jurnal Kedokteran RAFLESIA*, 3(1), 94–107. <https://doi.org/10.33369/juke.v3i1.5629>
- Putri, W. S., Warditiani, N. K., & Larasanty, L. P. F. (2013). Phytochemical Screening Ethyl Acetate Extract of Mangosteen Peel (*Garcinia Mangostana L.*). *Journal Pharmacon*, 09(4), 58.
- Ramadany, A. F., Pujarini, L. A., & Candrasari, A. (2013). Hubungan Diabetes Melitus Dengan Kejadian Stroke Iskemik Di Rsud Dr. Moewardi Surakarta Tahun 2010. *Biomedika*, 5(2), 11–16. <https://doi.org/10.23917/biomedika.v5i2.264>
- Roosevelt, A., Lau, S. H. A., Syawal, H., Farmasi, A., Karsa, S., Studi, P., Sandi, D. F., & Makassar, K. (2015). *FORMULASI DAN UJI STABILITAS KRIME KSTRAK METHANOL DAUN BELUNTAS (Pluchea indica L.) DARI KOTA BENTENG KABUPATEN KEPULAUAN SELAYAR PROVINSI SULAWESI SELATAN*. 5, 19–25.
- Rulianah, S., Irfin, Z., Mufid, & Prayitno. (2017). Produksi Crude Selulase dari Bahan Baku Ampas Tebu Menggunakan Kapang *Phanerochaete chrysosporium*. *Jurnal Teknik Kimia Dan Lingkungan*, 1(1), 17–27. <https://doi.org/10.33795/jtkl.v1i1.24>
- Sachan, A. K. et al. (2019). In vitro Studies on the Inhibition of α -Amylase and α -Glucosidase by Hydro-ethanolic Extract of *Pluchea lanceolata*, *Alhagi pseudalhagi*, *Caesalpinia bonduc*. *Pharmacognosy Research*, 11(3 July-September), 310–314. https://doi.org/DOI: 10.4103/pr.pr_31_19
- Safitri, I., Nuria, M. C., & Puspitasari, A. D. (2018). Perbandingan Kadar Flavonoid Dan Fenolik Total Ekstrak Metanol Daun Beluntas. *Jurnal Inovasi Teknik Kimia*, 3(1), 31–36.
- Saputra, T. R., Ngatin, A., & Sarungu, Y. T. (2018). Penggunaan metode ekstraksi

maserasi dan partisi pada tumbuhan cocor bebek (*Kalanchoe pinnata*) dengan kepolaran berbeda. *Fullerene Journal of Chemistry*, 3(1), 5. <https://doi.org/10.37033/fjc.v3i1.26>

Sari, G. P., Chasani, S., Pemayun, T. G. D., Hadisaputro, S., & Nugroho, H. (2017). Faktor Risiko yang Berpengaruh terhadap Terjadinya Hipertensi pada Penderita Diabetes Melitus Tipe II di Wilayah Puskesmas Kabupaten Pati. *Jurnal Epidemiologi Kesehatan Komunitas*, 2(2), 54. <https://doi.org/10.14710/j.e.k.k.v2i2.3996>

Sari sasi gendro, dea aulya. (2022). Uji Aktivitas Antidiabetes Ekstrak Kayu Secang (*Caesalpinia sappan* L.) Secara In vitro Dengan Metode Inhibisi Enzim α -Amilase Secara In Vitro. *LP2M UST Jogja*, 390–400.

Shehadeh, M. B., Suaifan, G. A. R. Y., & Abu-Odeh, A. M. (2021). Plants secondary metabolites as blood glucose-lowering molecules. *Molecules*, 26(14). <https://doi.org/10.3390/molecules26144333>

Shoffiyanti, N., Dwita, L. P., & Anggia, V. (2019). *PENGHAMBATAN α -AMILASE DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL 70% DAUN ALPUKAT* a. 105–110.

Soeka, Y. S. (2015). *Kemampuan Bacillus licheniformis dalam menghasilkan enzim α -amilase The ability Bacillus licheniformis to produce α -amylase enzyme. 1*, 1162–1166. <https://doi.org/10.13057/psnmbi/m010534>

Soelistijo SA, Lindarto D, Decroli E, Permana H, Sucipto KW, Kusnadi Y, et. al. (2021). *Pedoman pengelolaan dan pencegahan diabetes melitus tipe 2 di Indonesia 2021*. 46.

Sudarwati, T. P., & M.A Hanny Ferry Fernanda. (2019). *APLIKASI PEMANFAATAN DAUN PEPAYA (Carica papaya) SEBAGAI BIOLARVASIDA TERHADAP LARVA Aedes aegypti* (N. R. Hariyati (ed.); 1st ed.). Anggota IKAPI (181/JTI/2017) Perum. Kota Baru Driyorejo, Jln. Granit Kumala 1/12, Gresik 61177. ranit Kumala 1/12, Gresik 61177%0Aw

- Sulistiyarini, I., Sari, D. A., & Wicaksono, T. A. (2019). Skrining Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder Batang Buah Naga (*Hylocereus polyrhizus*). *Jurnal Ilmiah Cendekia Eksakta*, 56–62.
- Susetyarini, E., Wahyono, P., Latifa, R., & Nurrohman, E. (2020). The Identification of Morphological and Anatomical Structures of *Pluchea indica*. *Journal of Physics: Conference Series*, 1539(1). <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1539/1/012001>
- Wahyuni, S., Suarya, P., & Saputra, I. M. A. (2017). ISOLASI ENZIM AMILASE DARI KECAMBAH BIJI JAGUNG LOKAL SERAYA (*Zea mays* L.) UNTUK HIDROLISIS PATI. *Jurnal Kimia*, 122. <https://doi.org/10.24843/jchem.2017.v11.i02.p04>
- Wendersteyt, N. V., Wewengkang, D. S., & Abdullah, S. S. (2021). UJI AKTIVITAS ANTIMIKROBA DARI EKSTRAK DAN FRAKSI ASCIDIAN *Herdmania momus* DARI PERAIRAN PULAU BANGKA LIKUPANG TERHADAP PERTUMBUHAN MIKROBA *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium* DAN *Candida albicans*. *Pharmakon*, 10(1), 706. <https://doi.org/10.35799/pha.10.2021.32758>
- Widyawati, P. S. (2023). *Journal of Food Technology and Agroindustry Volume 5 No 1 Februari 2023 PROFIL KUALITAS DAN SIFAT ANTIHIPERGLIKEMIK AIR SEDUHAN* *Journal of Food Technology and Agroindustry Volume 5 No 1 Februari 2023*. 5(1), 26–34.
- Wijayanti, R., Wahyuono, S., Puspitasari, I. K. A., & Rizal, D. M. (2021). Increased Reproductive Capacity of Sprague Dawley Male Rats Assessed from the Number of Leydig Cells, Sertoli Cells, Primary Spermatocytes, and the Diameter of The Seminiferous Tubules through the Effect of Methanol Extract, Soluble and Insoluble Fraction. *International Journal of Pharmaceutical Research*, 13(01), 3148–3154. <https://doi.org/10.31838/ijpr/2021.13.01.484>
- Yuniarto, A., & Selifiana, N. (2018). Aktivitas Inhibisi Enzim Alfa-glukosidase

dari Ekstrak Rimpang Bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) secara In vitro. *MPI (Media Pharmaceutica Indonesiana)*, 2(1), 22–25. <https://doi.org/10.24123/mpi.v2i1.1299>

Zhang, B. wei, Xing, Y., Wen, C., Yu, X. xia, Sun, W. long, Xiu, Z. long, & Dong, Y. sheng. (2017). Pentacyclic triterpenes as α -glucosidase and α -amylase inhibitors: Structure-activity relationships and the synergism with acarbose. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 27(22), 5065–5070. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2017.09.027>

Zhu, Q., Tong, Y., Wu, T., Li, J., & Tong, N. (2013). Comparison of the hypoglycemic effect of acarbose monotherapy in patients with type 2 diabetes mellitus consuming an eastern or western diet: A systematic meta-analysis. *Clinical Therapeutics*, 35(6), 880–899. <https://doi.org/10.1016/j.clinthera.2013.03.020>

