

**AKTIVITAS PENGHAMBATAN ENZIM α -GLUKOSIDASE DAN
 α -AMILASE DARI EKSTRAK DAUN SALAM, DAUN PANDAN,
DAUN JERUK PURUT DAN KOMBINASINYA**

(Skripsi)

Oleh

DEVI SABARINA



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2016**

ABSTRACT

INHIBITION ACTIVITIES OF BAY, PANDAN, AND CITRUS LEAVES AND THEIR COMBINATION AGAINST α -GLUCOSIDASE AND α -AMYLASE ENZYMES

By

Devi Sabarina

Diabetes mellitus is one of the common degenerative diseases continuing to increase in number of incidence. Refined carbohydrates have significant role in the disease development due to their ability to increase blood sugar. Therefore, limiting of sugar absorption through inhibition of carbohydrate digestion enzymes, such as α -glucosidase and α -amylase, will be effective strategy to modulate blood sugar level of diabetic patients. The study aimed to evaluate the inhibition effects of bay (*Eugenia polyantha*), pandan (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.), citrus (*Citrus hystrix* D.C.) leaves and their combinations against α -glucosidase and α -amylase enzymes, and to find out the best combination between the leaves that have high abilities to inhibit the both enzymes. Moreover, due to the leaves are rich in polyphenol, the role of polyphenol compounds in enzyme inhibition was also elucidated. Three single leaves extracts and five of their combinations were applied to inhibit α -glucosidase hydrolising

p-nitrophenyl- *D*-glucopyranoside or α -amylase hydrolysing starch solution. All of the leaves and their combination had inhibition activities against α -glucosidase and α -amylase enzymes with levels of inhibition were between 20.14% to 35.30% for α -glucosidase and 17.63% to 26.04% for α -amylase. The role of polyphenol compounds on inhibition of the carbohydrate digestion enzymes was not observed.

Keywords: *bay leaf, pandan leaf, citrus leaf, anti-diabetic, starch hydrolysis, phenolic compound.*

ABSTRAK

AKTIVITAS PENGHAMBATAN ENZIM -GLUKOSIDASE DAN -AMILASE DARI EKSTRAK DAUN SALAM, DAUN PANDAN, DAUN JERUK PURUT DAN KOMBINASINYA

Oleh

Devi Sabarina

Diabetes mellitus adalah salah satu penyakit degeneratif yang umum terjadi dan terus meningkat. Olahan karbohidrat memiliki peran yang signifikan dalam perkembangan penyakit diabetes mellitus karena kemampuannya meningkatkan kadar gula darah. Oleh karena itu, menghambat penyerapan glukosa melalui penghambatan enzim pencernaan karbohidrat seperti -glukosidase dan -amilase akan menjadi strategi yang efektif dalam memodulasi kadar gula darah penderita diabetes. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui peran dari daun salam, daun pandan, daun jeruk dan kombinasinya dalam menghambat aktivitas enzim -glukosidase dan -amilase, dan mendapatkan kombinasi terbaik daun yang memiliki kemampuan tinggi dalam menghambat kedua enzim tersebut. Selain itu, daun kaya akan senyawa fenolik, peran dari senyawa fenolik dalam menghambat aktivitas enzim juga dipelajari. Ekstrak tiga daun tunggal dan lima kombinasi

digunakan untuk menghambat aktivitas enzim α -glukosidase dalam menghidrolisis *p-nitrophenyl- α -D-glukopyranosyde* atau α -amilase dalam menghidrolisis pati. Semua daun dan kombinasinya memiliki penghambatan terhadap aktivitas enzim α -glukosidase dan α -amilase dengan tingkat penghambatan berkisar 20,14%-35,30% pada enzim α -glukosidase dan 17,63%-26,04% pada enzim α -amilase. Peran senyawa fenolik dalam menghambat aktivitas enzim pencernaan karbohidrat tidak terlihat.

Kata kunci : *daun salam, daun pandan, daun jeruk, antidiabetes, hidrolisis pati, senyawa fenolik.*

**AKTIVITAS PENGHAMBATAN ENZIM α -GLUKOSIDASE DAN
 α -AMILASE DARI EKSTRAK DAUN SALAM, DAUN PANDAN,
DAUN JERUK PURUT DAN KOMBINASINYA**

Oleh

DEVI SABARINA

Skripsi

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh Gelar
SARJANA TEKNOLOGI PERTANIAN**

Pada

**Jurusan Teknologi Hasil Pertanian
Fakultas Pertanian**



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2016**

Judul Skripsi : **AKTIVITAS PENGHAMBATAN ENZIM
 α -GLUKOSIDASE DAN α -AMILASE DARI DAUN
SALAM, DAUN PANDAN, DAUN JERUK PURUT
DAN KOMBINASINYA**

Nama Mahasiswa : **Devi Sabarina**

No. Pokok Mahasiswa : 1214051023

Program Studi : Teknologi Hasil Pertanian

Fakultas : Pertanian



Dr. Ir. Samsu U. Nurdin, M.Si.
NIP 19670615 199403 1 003

Dr. Ir. Sussi Astuti, M.Si.
NIP 19670824 199303 2 002

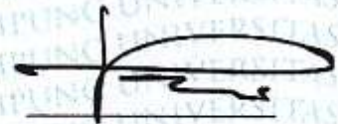
2. Ketua Jurusan Teknologi Hasil Pertanian

Ir. Susilawati, M.Si.
NIP 19610806 198702 2 001

MENGESAHKAN

I. Tim Penguji

Ketua : Dr. Ir. Samsu U. Nurdin, M.Si.



Sekretaris : Dr. Ir. Sussi Astuti, M.Si.



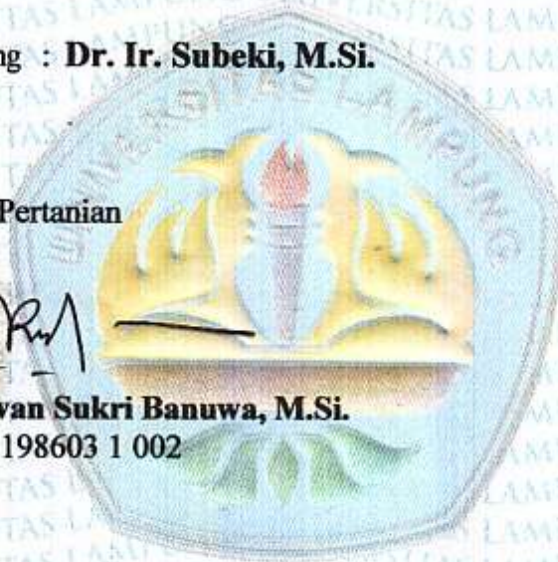
**Penguji
Bukan Pembimbing : Dr. Ir. Subeki, M.Si.**



Dekan Fakultas Pertanian

Prof. Dr. Ir. Irwan Sukri Banuwa, M.Si.

NIP 19611020 198603 1 002



Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 16 Desember 2016

PERNYATAAN KEASLIAN HASIL KARYA

Saya adalah Devi Sabarina NPM 1214051023

Dengan ini menyatakan bahwa apa yang tertulis dalam karya ilmiah ini adalah hasil kerja saya sendiri yang berdasarkan pada pengetahuan dan informasi yang telah saya dapatkan. Karya ilmiah ini tidak berisi material yang telah dipublikasikan sebelumnya atau dengan kata lain bukanlah hasil plagiat karya orang lain.

Demikianlah pernyataan ini saya buat dan dapat dipertanggungjawabkan. Apabila di kemudian hari terdapat kecurangan dalam karya ini, maka saya siap mempertanggungjawabkannya.

Bandar Lampung, 16 Desember 2016
Yang Membuat Pernyataan



Devi Sabarina
NPM. 1214051023

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Tambak Jaya, Kecamatan Way Tenong, Kabupaten Lampung Barat pada 03 Mei 1995 sebagai anak pertama dari tiga bersaudara dari pasangan Bapak Dedi dan Ibu Purwati.

Penulis mengawali pendidikan sekolah dasar di SDN Tambak Jaya yang selesai pada tahun 2006. Kemudian melanjutkan pendidikan ke SMP N 01 Way Tenong dan lulus pada tahun 2009. Selanjutnya, Penulis diterima di SMA Negeri 1 Way Tenong dan lulus pada tahun 2012. Pada tahun 2012 Penulis diterima sebagai mahasiswi Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Lampung melalui jalur Seleksi Nasional Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SNMPTN) Tertulis.

Selama kuliah Penulis merupakan mahasiswa penerima beasiswa Bidik Misi. Penulis pernah menjadi asisten praktikum mata kuliah Mikrobiologi Hasil Pertanian pada tahun 2013, Matematika Dasar pada tahun 2013, Kewirausahaan pada Tahun 2014, Fisiologi Pasca Panen pada tahun 2015, tutor BBQ sejak 2013 sampai sekarang dan tutor Filma (Forum Ilmiah Mahasiswa) untuk mata kuliah Fisika Dasar pada tahun 2013.

Tahun 2015, penulis melaksanakan KKN Tematik dengan tema POSDAYA di Kampung Purwanegara, Kecamatan Negara Batin, Kabupaten Way Kanan dan Praktik Umum di IRT Asa-Cipto Roso , Kota Bandar Lampung dengan judul “Pemanfaatan Media Sosial Sebagai Upaya Peningkatan Pemasaran Keripik Buah Pisang Dan Nangka IRT Asa-Cipto Roso” yang Didanai Hibah Hi-Link DIKTI.

Selama menjadi mahasiswa, Penulis pernah aktif di UKMF FOSI FP sebagai anggota Bidang Akademik pada periode 2013-2014 dan Wakil Ketua BBQ pada periode 2014-2015. Penulis juga aktif di UKMU Birohmah sebagai anggota Bidang Pemberdayaan Muslimah pada periode 2013-2014 dan Sekretaris Departemen Akademik dan Profesi pada periode 2015-2016. Penulis juga menjadi Sekretaris Departemen Kajian Isu dan Strategis di IMMPERTI (Ikatan Mahasiswa Muslim Pertanian Indonesia) Sumbagsel periode 2014-2016. Diawal tahun 2016 Penulis menjadi Bendahara Umum UKMU Sains dan Teknologi (SAINTEK). Selain organisasi internal, Penulis juga aktif di berbagai organisasi eksternal sebagai Sekretaris Umum KAMMI Komisariat Unila 2015-2016, dan Wakil Ketua Umum Ikatan Keluarga Mahasiswa Lampung Barat (Ikam Lambar) periode 2016.

SANWACANA

Bismillaahirrahmaanirrahiim,

Alhamdulillahirobbil'alamiin. Puji Syukur kehadiran Allah SWT, Rabb semesta alam yang telah memberikan rahmat karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Uji Aktivitas Penghambatan Enzim - Glukosidase dan - Amilase dari Ekstrak Daun Salam, Daun Pandan, Daun Jeruk Purut dan Kombinasinya” sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Teknologi Pertanian pada Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Lampung.

Dalam kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Bapak Dr. Ir. Samsu Udayana Nurdin, M.Si. selaku pembimbing utama skripsi atas bimbingan, kesabaran, arahan, motivasi, penyediaan fasilitas dan bahan-bahan keperluan penelitian yang telah diberikan hingga skripsi ini selesai.
2. Ibu Dr. Ir. Sussi Astuti, M.Si selaku Pembimbing Kedua sekaligus Pembimbing Akademik yang telah memberikan bimbingan, masukan, saran, motivasi, doa dan nasehat selama ini.
3. Bapak Dr. Ir. Subeki, M.Si. selaku penguji yang telah memberikan saran-saran untuk kemajuan skripsi.

4. Bapak Prof. Dr. Ir. Irwan Sukri Banuwa, M.S. selaku Dekan Fakultas Pertanian Universitas Lampung.
5. Ibu Ir. Susilawati, M. Si. selaku Ketua Jurusan Teknologi Hasil Pertanian yang telah memberikan arahan.
6. Orang tuaku (Papa Dedi & Ummi Purwati) dan adik-adikku tersayang (Ari Oktananda & Dea Wulan Rahmawati) terima kasih atas doa, dukungan, nasehat serta kasih sayang yang selalu mengalir selama ini.
7. Bapak Ibu Dosen THP atas ilmu dan wawasan yang telah diberikan serta seluruh staf administrasi dan laboratorium atas segala bantuannya.
8. Sahabat-sahabatku, Dian, Meilan, Hasna, Bimbi, Cila, Citra, Laila, Widia dan Riska yang selalu memberikan semangat.
9. Para Murabbi atas ilmu, motivasi, doa dan nasehat.
10. Teman-teman PALUSA dan kakak-adik THP, Keluarga KAMMILA, FOSI FP 1415, BIROHMAH 1516, Keluarga Cinta, Isnain, DJ dormitory, SAINTEK 2016, Ikam Lambar 2016, Akhwat Sholihah dan FOCUS Team terimakasih atas kebersamaan selama ini.

Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi pembaca. Aamiin.

Bandar Lampung, 16 Desember 2016

Penulis

Devi Sabarina

DAFTAR ISI

	Halaman
I. PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang dan Masalah.....	1
B. Tujuan	4
C. Kerangka Pemikiran.....	5
D. Hipotesis	6
II. TINJAUAN PUSTAKA	8
A. Diabetes Mellitus	8
B. Inhibitor Enzim α -Amilase dan α -Glukosidase	9
C. Daun Salam.....	12
D. Daun Pandan	13
E. Daun Jeruk Purut.....	15
F. Kunyit	16
G. Pencernaan Pati.....	17
H. Pengaruh Campuran Ekstrak Daun Salam, Jeruk dan Pandan terhadap Sifat Organoleptik, Respon Glikemik, dan Aktivitas Antioksidan.....	19
III. BAHAN DAN METODE.....	22
A. Tempat dan Waktu Penelitian.....	22
B. Bahan dan Alat.....	22
C. Metode Penelitian	23
D. Pelaksanaan Penelitian.....	24
E. Pengamatan	26
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	
A. Penghambatan Aktivitas Enzim α -Glukosidase.....	35
B. PenghambatanAktivitas Enzim α -Amilase	39
C. Total Fenol.....	42

V. KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan	46
B. Saran	46

DAFTAR PUSTAKA	47
-----------------------------	-----------

LAMPIRAN.....	54
----------------------	-----------

DAFTAR TABEL

Tabel	halaman
1. Absorbansi penghambatan -glukosidase.....	54
2. Penghambatan -glukosidase (%).....	54
3. Uji kehomogenan (kesamaan) ragam (<i>bartlett's test</i>) penghambatan -glukosidase	55
4. Analisis ragam penghambatan -glukosidase.....	56
5. Uji BNT penghambatan -glukosidase.....	56
6. Kurva standar glukosa.....	57
7. Absorbansi jumlah glukosa.....	57
8. Jumlah glukosa.....	58
9. Penghambatan -amilase (%)	58
10. Uji kehomogenan (kesamaan) ragam (<i>bartlett's test</i>) penghambatan -amilase	59
11. Analisis ragam penghambatan -amilase.....	59
12. Uji BNT penghambatan -amilase.....	60
13. Kurva standar asam galat(mg/dL).....	61
14. Pengukuran absorbansi total fenol	61
15. Jumlah total fenol 1 g daun salam, daun pandan dan daun jeruk purut (mg/dl)	62
16. Jumlah total fenol semua perlakuan (mg/dl).....	62
17. Uji kehomogenan (kesamaan) ragam (<i>bartlett's test</i>) total fenol	63
18. Analisis ragam total fenol	63
19. Uji BNT total fenol	63

DAFTAR GAMBAR

Gambar	halaman
1. Daun salam.....	12
2. Daun pandan	14
3. Daun jeruk purut	15
4. Kunyit	16
5. Pengaruh penambahan berat kombinasi daun salam, daun pandan dan daun jeruk terhadap rasa, aroma, kepulenan, penampakan dan penerimaan secara keseluruhan	19
6. Respon glikemik responden setelah mengonsumsi nasi biasa dan nasi wangi perlakuan terbaik.....	21
7. Proses pengeringan daun dan pembuatan ekstrak.....	25
8. Diagram alir proses pengujian penghambatan enzim α -glukosidase .	28
9. Diagram alir pembuatan pereaksi dinitro salisilat (DNS).....	29
10. Diagram alir proses pembuatan kurva standar glukosa	31
11. Diagram alir proses penentuan daya cerna pati	32
12. Diagram alir proses pengukuran total fenol	34
13. Penghambatan aktivitas enzim α -glukosidase oleh ekstrak daun salam, daun pandan, daun jeruk purut dan kombinasinya	35
14. Persamaan reaksi enzimatik α -glukosidase dan p-nitrofenil- β -D-glukopiranosida.....	36
15. Struktur umum flavonoid.....	38
16. Penghambatan aktivitas enzim α -amilase oleh ekstrak daun salam, daun pandan, daun jeruk purut dan kombinasinya.....	39
17. Struktur tanin	41
18. Total fenol ekstrak 1 g daun salam, daun pandan dan daun jeruk	42

19. Total fenol ekstrak daun salam, daun pandan, daun jeruk dan kombinasinya	43
20. Kurva standar glukosa.....	57
21. Kurva standar total fenol.....	61
22. Serbuk daun salam	64
23. Serbuk daun pandan	64
24. Serbuk daun jeruk purut.....	64
25 Serbuk kunyit	64
26. Kantong celup	65
27. Penyeduhan sampel.....	65
28. Sampel ekstrak daun dan kombinasinya	65
29. Pengujian penghambatan aktivitas enzim -glukosidase.....	66
30. Pengujian penghambatan aktivitas enzim -amilase	66

I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang dan Masalah

Di era modern jumlah penderita penyakit degeneratif cenderung meningkat secara signifikan. Salah satu penyakit degeneratif yang mengalami peningkatan drastis adalah Diabetes Melitus (DM). *The International Diabetes Federation (IDF)* (2015) melaporkan bahwa penderita diabetes mencapai 415 juta dan pada tahun 2040, penderita diabetes diperkirakan akan meningkat 55% menjadi 642 juta. *Data International Diabetes Federation (IDF)* (2015) menyatakan bahwa penyandang diabetes di Indonesia diperkirakan mencapai 10 juta dengan menempati urutan ke-7 tertinggi di dunia. Berdasarkan data Riskesdas (2013), penduduk Indonesia yang berusia 15 tahun sebagai penderita DM sebanyak 6,9%. Prevalensi diabetes tertinggi yang terdiagnosis dokter terdapat di DI Yogyakarta (2,6%), DKI Jakarta (2,5%), Sulawesi Utara (2,4%), dan Kalimantan Timur (2,3%). Prevalensi diabetes berdasarkan gejala tertinggi terdapat di Sulawesi Tengah (3,7%), Sulawesi Utara (3,6%), Sulawesi Selatan (3,4%), dan NTT(3,3%).

Diabetes mellitus adalah kelompok penyakit metabolisme yang ditandai dengan hiperglikemia akibat berkurangnya efektifitas insulin, sekresi insulin atau kombinasi keduanya serta terjadi perubahan progresif terhadap struktur sel

pankreas (Prameswari dan Widjanarko, 2014). Diabetes mellitus memiliki hubungan yang sangat erat dengan karbohidrat yang dikonsumsi karena karbohidrat merupakan sumber energi dan pada proses pencernaannya meningkatkan glukosa. Hal ini memunculkan hipotesis bahwa karbohidrat menjadi penyebab utama penyakit diabetes mellitus, terutama pati yang akan terurai menjadi glukosa dalam sistem pencernaan. Konsumsi glukosa yang berlebih dapat meningkatkan kadar gula darah (Munadi dan Ardinata, 2008).

Pati yang telah dicerna dalam lambung masuk ke dalam usus dan mengalami penyerapan. Penyerapan ini dipermudah dengan adanya enzim pemecah ikatan glikosida yaitu enzim α -glukosidase dan α -amilase (Katzung, 2002). Salah satu cara menurunkan tingkat hidrolisis pati oleh enzim pencernaan adalah dengan menghambat kinerja enzim yang bertugas untuk menguraikan pati.

Penghambatan pada enzim α -amilase akan menurunkan kemampuan mencerna pati yang merupakan sarana penyedia energi. Penghambatan enzim juga dapat dilakukan pada enzim pencernaan lain seperti α -glukosidase. *Inhibitory* α -glukosidase menghambat enzim α -glukosidase yang menguraikan pati dalam usus halus sehingga menunda penyerapan glukosa hasil pemecahan karbohidrat di dalam usus halus sehingga dapat menurunkan kadar gula darah postprandial (Rais *et al.*, 2013).

Penghambatan aktivitas enzim dapat dilakukan dengan menggunakan senyawa fitokimia pada tanaman. Tadera *et al.* (2006) telah membuktikan secara *in vitro* bahwa flavonoid merupakan senyawa yang berpotensi menghambat α -amilase dan α -glukosidase. Penelitian yang dilakukan oleh Mcdougall *et al.* (2003) juga

menunjukkan bahwa senyawa fenolik dari beberapa tanaman mampu menghambat aktivitas enzim α -amilase akan tetapi tidak besar potensinya dalam menghambat enzim α -glukosidase.

Sumber senyawa fitokimia mudah didapatkan di pasaran antara lain daun salam (Dewi, 2012), daun pandan (Margaretha, 2011), dan daun jeruk (Azizah, 2015). Daun ini juga digunakan sebagai bumbu. Situmorang (2013) memaparkan bahwa daun salam (*Eugenia polyantha*) mengandung saponin, triterpenoid, flavonoid, polifenol, alkaloid, tanin dan minyak atsiri yang terdiri dari sesquiterpen, lakton dan fenol. Dalimartha (2000) melaporkan bahwa daun pandan (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) banyak mengandung senyawa alkaloid, saponin, flavonoida, polifenol dan tanin. Wulandari *et al.* (2013) menunjukkan bahwa bahwa daun buah jeruk (*Citrus sp.*) mengandung banyak senyawa fitokimia yaitu flavonoid, polifenol dan alkaloid. Oleh karena itu, daun salam, daun pandan dan daun jeruk diduga dapat menurunkan tingkat hidrolisis pati oleh enzim α -amilase dan α -glukosidase melalui penghambatan aktivitas enzim (*enzym inhibitory*).

Berdasar penelitian pendahuluan yang telah dilakukan Sabarina *et al.*(2015), penambahan kombinasi daun pandan, daun jeruk dan daun salam sebanyak 1 g pada saat pemasakan nasi mampu menurunkan respon glikemik responden sebesar 35,6%. Respon glikemik adalah ukuran seberapa cepat dan seberapa tinggi kadar glukosa darah naik sebagai respon terhadap konsumsi pati dalam jumlah dan waktu tertentu. Respon glikemik diperoleh dari data pengukuran kadar glukosa darah responden setelah makan dengan interval 1 jam. Nasi yang dimasak dengan kombinasi tersebut memiliki tingkat kesukaan terhadap rasa sebesar 32%, aroma

29,3%, kepulenan 33,3%, penampakan 37,3% dan penerimaan secara keseluruhan 30,7%. Nasi tersebut memiliki aroma wangi yang berasal dari ketiga kombinasi yaitu daun jeruk, pandan dan salam. Warna yang dihasilkan agak sedikit kuning tidak jauh berbeda dengan nasi biasa dan rasanya pun tidak jauh berbeda dengan nasi biasa.

Hasil penelitian Rahmadhani (2016) menunjukkan kunyit memiliki aktivitas penghambatan enzim α -glukosidase tertinggi sebesar 68,27% dibandingkan dengan jahe 25,22%, kayu manis 19,34%, kombinasi jahe dan kayu manis 24,27%, kombinasi jahe dan kunyit 42,51%, kombinasi kayu manis dan kunyit 62,61%. Oleh karena itu, ditambahkan kunyit pada salah satu perlakuan dalam penelitian ini sebagai pembanding. Pada penelitian ini dilakukan uji apakah daun salam, daun pandan, daun jeruk dan kombinasinya menurunkan respon glikemik melalui penghambatan terhadap aktivitas enzim α -glukosidase dan α -amilase.

B. Tujuan

Tujuan penelitian adalah:

1. Mempelajari pengaruh daun salam, daun pandan, daun jeruk dan kombinasinya terhadap penghambatan aktivitas enzim α -glukosidase dan α -amilase.
2. Memperoleh perlakuan terbaik dari ekstrak daun salam, daun pandan, daun jeruk dan kombinasinya dalam menghambat aktivitas enzim α -glukosidase dan α -amilase.
3. Mengetahui apakah penghambatan aktivitas enzim α -glukosidase dan α -amilase tergantung pada total fenol ekstrak daun salam, daun pandan, daun jeruk dan kombinasinya.

C. Kerangka Pemikiran

Kebanyakan tumbuhan yang mengandung senyawa bioaktif seperti glikosida, alkaloid, terpenoid, flavonoid, dan karotenoid mempunyai aktivitas antidiabetes (Kim *et al.*, 2006 diacu dalam Suarsana *et al.*, 2008). Thompson *et al.* (1984) menyatakan beberapa hasil penelitian menunjukkan bahwa adanya polifenol atau tanin dapat menghambat aktivitas enzim-enzim pencernaan, terutama tripsin dan amilase. Selain itu, adanya adsorpsi substansi polifenol secara selektif oleh pati akan menurunkan tingkat hidrolisis pati oleh enzim amilase *in vitro* (Himmah dan Handayani, 2012).

Beberapa sumber senyawa fenolik mudah didapatkan dipasaran adalah daun salam (Dewi, 2012), daun pandan (Margaretha, 2011), dan daun jeruk (Azizah, 2015). Senyawa fenol yang terkandung dalam daun salam, daun pandan dan daun jeruk diantaranya tanin dan flavonoid. Tanin merupakan senyawa makro molekul yang dihasilkan oleh tanaman dan berperan sebagai anti nutrisi (*antinutrient*) dan penghambat enzim (*enzyme inhibitor*) sehingga mengakibatkan rendahnya hidrolisis pati dan menurunkan respons terhadap gula darah pada hewan (Matsushita *et al.*, 2002).

Senyawa polifenol diyakini dapat mempengaruhi metabolisme karbohidrat melalui penghambatan pencernaan dan penyerapan di usus halus. Hal ini karena tanin membentuk ikatan silang yang stabil dengan protein, selulosa dan pektin (Fitri, 2007). Dengan berbagai kandungan zat yang terdapat pada daun salam (*Eugenia polyantha*), daun pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) dan

daun jeruk (*Citrus sp.*), diharapkan mampu menurunkan tingkat hidrolisis pati oleh enzim α -amilase dengan menghambat kerja enzim α -amilase.

Pada proses pencernaan, karbohidrat kompleks akan dicerna oleh berbagai enzim pencernaan yang terdapat pada usus halus, termasuk enzim α -glukosidase yang merupakan enzim karbohidrolase yang bekerja mengkatalis pelepasan α -glukosa (Zhang *et al.*, 2007). Penghambatan enzim α -glukosidase merupakan salah satu pendekatan untuk menurunkan kadar glukosa darah sesudah makan (postprandial) (Manaharan *et al.*, 2011) karena dengan dihambatnya kerja enzim glukosidase maka dapat menunda penguraian oligosakarida dan disakarida menjadi monosakarida (Shinde *et al.*, 2008). Berdasarkan penelitian Yuliastuti (2011) alkaloid, flavonoid, terpenoid, tanin, glikosida, saponin dan antrakuinon memiliki aktivitas penghambatan kerja enzim α -glukosidase. Pinto *et al.* (2010) menyatakan bahwa tanin memiliki aktivitas penghambatan enzim α -glukosidase walaupun potensinya tidak sebesar penghambatan enzim α -amilase. Ani dan Naidu (2008) memaparkan bahwa komponen polifenolik atau flavonoid menunjukkan penghambatan yang signifikan terhadap aktivitas amilase saliva manusia dan glukosidase usus serta menurunkan postprandial hiperglikemia pada tikus.

D. Hipotesis

Hipotesis yang diajukan pada penelitian ini adalah sebagai berikut.

1. Ekstrak daun salam, daun pandan, daun jeruk dan kombinasinya berpengaruh terhadap aktivitas enzim α -glukosidase dan α -amilase.

2. Terdapat perlakuan terbaik dari ekstrak daun salam, daun pandan, daun jeruk dan kombinasinya dalam menghambat aktivitas enzim α -glukosidase dan α -amilase.
3. Semakin tinggi kandungan total fenol maka semakin besar penghambatan aktivitas enzim α -glukosidase dan α -amilase.

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Diabetes Mellitus

Diabetes mellitus (DM) adalah suatu keadaan gangguan metabolik yang ditandai dengan kenaikan kadar gula darah dan penggunaan karbohidrat yang tidak efektif. Gangguan metabolik ini disebabkan oleh adanya disfungsi sel pankreas atau kurangnya insulin secara relatif maupun absolut (Tjokroprawiro, 2007). Diabetes mellitus (DM) dibagi menjadi dua tipe yaitu diabetes tipe I dan diabetes tipe II. DM tipe I didefinisikan sebagai tipe diabetes yang bergantung pada insulin atau Insulin Dependent Diabetes Mellitus (IDDM), sedangkan DM tipe II didefinisikan sebagai diabetes yang tidak bergantung pada insulin atau Non Insulin Dependent Diabetes Mellitus (NIDDM) (Purwatresna, 2012).

Penderita DM tipe I mengalami kerusakan sel pankreas yang menghasilkan insulin, akibatnya sel-sel pankreas tidak dapat mensekresikan insulin atau hanya dapat mensekresikan insulin dalam jumlah sedikit. Kerusakan pada sel-sel pankreas disebabkan oleh peradangan pada pankreas. Akibat sel-sel pankreas tidak dapat membentuk insulin atau insulin hanya ada dalam jumlah sedikit maka penderita diabetes tipe I ini selalu bergantung pada insulin. Pengobatan DM tipe I dilakukan dengan pemberian insulin kepada penderita. Penderita DM tipe II tidak

mengalami kerusakan sel-sel pankreas tetapi insulin yang disekresikan jumlahnya menurun. Penurunan tersebut disertai defisiensi insulin hingga resistensi insulin. DM tipe II umumnya disebabkan oleh obesitas atau kelebihan berat badan. Pengobatan DM tipe II dilakukan dengan pengaturan pola makan dan olah raga, namun dapat pula diobati dengan obat-obat antidiabetes. DM tipe 2 inilah yang banyak diderita oleh masyarakat (Purwatresna, 2012).

Menurut Waspadji (2009), pengelolaan DM dapat dilakukan dalam jangka pendek ataupun jangka panjang. Pengelolaan jangka pendek bertujuan untuk menghilangkan keluhan atau gejala DM dan mempertahankan rasa nyaman dan sehat. Sedangkan pengelolaan jangka panjang bertujuan untuk mencegah penyakit baik makroangiopati, mikroangiopati maupun neuropati dengan tujuan akhir menurunkan morbiditas dan mortalitas DM.

B. Inhibitor Enzim -Amilase dan -Glukosidase

Enzim adalah biomolekul berupa protein berbentuk bulat (globular), yang terdiri atas satu rantai polipeptida atau lebih dari satu rantai polipeptida (Wirahadikusumah, 1989). Enzim berfungsi sebagai katalis atau senyawa yang dapat mempercepat proses reaksi tanpa habis bereaksi. Dengan adanya enzim, molekul awal yang disebut substrat akan dipercepat perubahannya menjadi molekul lain yang disebut produk. Akan tetapi, kinerja dari enzim sendiri dapat dihambat oleh inhibitor. Pada umumnya cara kerja inhibitor adalah dengan menyerang sisi aktif enzim sehingga enzim tidak dapat berikatan dengan substrat sehingga fungsi katalitiknya terganggu (Winarno, 1989).

Semua jenis karbohidrat, termasuk pati mulai mengalami reaksi kimiawi sejak ada di dalam mulut, yaitu oleh enzim α -amilase (ptialin) dalam saliva. Enzim α -amilase merupakan enzim yang membantu dalam proses hidrolisis pati yaitu dengan memutus ikatan α -1,4 glikosidik. Enzim α -amilase termasuk dalam kelas endoamilase yaitu enzim yang memutus ikatan α -1,4 glikosidik bagian dalam amilosa dan amilopektin dengan produk oligosakarida berbagai ukuran dengan konfigurasi α . Dalam hal ini, karbohidrat berantai panjang, termasuk pati mengalami proses pencernaan sebagian. Setelah melewati lambung, karbohidrat ini akan dicerna lebih lanjut dalam duodenum oleh enzim amilase yang dihasilkan oleh pankreas menjadi rantai yang lebih pendek. Pencernaan karbohidrat diakhiri oleh enzim-enzim disakaridase yang dihasilkan oleh mukosa usus halus menjadi monosakarida yang dapat diserap ke dalam aliran darah (Bender, 2003).

Dengan adanya penghambat enzim α -amilase maka akan berpengaruh terhadap metabolisme di dalam saluran pencernaan antara lain mengganggu atau memperlambat pemecahan karbohidrat sehingga akan mengurangi ketersediaan kalori atau mempengaruhi sistem glukosa-insulin. Pengaruh penghambatan enzim α -amilase terhadap absorpsi karbohidrat dan glukosa setelah makan (postprandial) telah diuji pada manusia dan menunjukkan bahwa penghambat jenis protein memperlambat penyerapan dan mengurangi konsentrasi glukosa plasma, sehingga penghambatan α -amilase dapat dimanfaatkan bagi penderita diabetes mellitus II (Judge dan Svensson, 2006).

Enzim α -glukosidase akan menguraikan pati dalam usus halus. Enzim α -glukosidase merupakan karbohidrase yang mengkatalisis pelepasan glukosa dari

ujung nonpereduksi karbohidrat makanan. Pada penderita Diabetes Mellitus (DM), inhibisi terhadap enzim ini menyebabkan penghambatan absorpsi glukosa sehingga menurunkan keadaan hiperglikemia setelah makan. Inhibitor

-glukosidase merupakan salah satu agen antidiabetik yang bekerja dengan cara menghambat kerja enzim -glukosidase, sehingga terjadi pengurangan penyerapan karbohidrat dari makanan oleh usus. Hal ini merupakan sebuah pendekatan terapeutik bagi hiperglikemia postprandial. Inhibitor -glukosidase merupakan obat antidiabetes oral yang digunakan untuk mengobati DM tipe II (Sarjono, 2010).

Contoh inhibitor -glukosidase adalah akarbosa. Akarbosa merupakan oligosakarida yang diperoleh dari fermentasi mikroorganisme *Actinoplanes utahensis*. Akarbosa memiliki rumus empiris $C_{25}H_{43}NO_{18}$ dengan berat molekul 645.6, pKa 5.1. Karena kehadiran intramolekul nitrogen, akarbosa melekat pada tempat pengikatan karbohidrat oleh enzim -glukosidase (misalnya sukrase) dengan afinitas melebihi dari substrat normal (misalnya sukrosa). Reaksi enzimatik berhenti karena ikatan C-N di unit acarviosine dari akarbosa tidak dapat dipecah. Selama akarbosa tetap terikat pada enzim -glukosidase, karbohidrat yang masuk tidak dapat dicerna dan glukosa tidak bisa dilepaskan untuk penyerapan (Bischoff, 1994).

Salah satu penghambat enzim pencernaan (*enzyme inhibitor*) adalah senyawa fenolik yang banyak terdapat pada tumbuhan (Wahyuntari, 2011). Senyawa fenolik ini mampu membentuk senyawa kompleks dengan pati. Hal ini menyebabkan pati tidak dapat dihidrolisis oleh enzim pencernaan karena sisi aktif

enzim tidak dapat mengenali substratnya yaitu senyawa kompleks yang terbentuk dari pati dan senyawa fenolik.

C. Daun Salam

Salam diklasifikasi sebagai berikut (Nurcahyati, 2014) :

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Ordo	: Myrtales
Famili	: Myrtaceae
Genus	: Syzygium
Spesies	: <i>Syzygium polyanthum</i> (Wight.) Walp.



Gambar 1. Daun Salam

Salam atau *Syzygium polyanthum* dikenal masyarakat Indonesia sebagai bumbu masak karena memiliki keharuman khas yang bisa menambah lezat masakan. Daun salam mempunyai rasa yang kelat dan bersifat astringent. Daun salam (*Syzygium polyanthum*) juga dikenal dapat menjadi media pengobatan tradisional yakni sebagai penurun kolesterol, pengobatan hipertensi, diare, dan terapi diabetes

mellitus (Dalimartha, 2000). Infus daun salam dengan kadar 35% dilaporkan mempunyai efek penurunan kadar gula darah setelah pembebanan dengan glukosa pada kelinci setara dengan glibenklamid dosis 5 mg (Ariyanti, 2005).

Daun salam (*Eugenia polyantha*) mengandung tanin, minyak atsiri, seskuiterpen, triterpenoid, fenol, steroid, sitral, lakton, saponin, karbohidrat (Pidrayanti, 2008), alkaloid dan flavonoida (*quercetin, quercitrin, myrcetin dan myrcitrin*) (Situmorang, 2013). Selain itu daun salam juga mengandung beberapa vitamin, di antaranya vitamin C, vitamin A, thiamin, riboflavin, niacin, vitamin B6, vitamin B12, dan folat. Bahkan mineral seperti selenium terdapat di dalam kandungan daun salam. Dengan berbagai kandungan zat yang terdapat pada daun salam (*Eugenia polyantha*), pemanfaatan daun salam dalam bentuk rebusan ataupun ekstrak, diharapkan dapat menurunkan tingkat hidrolisis pati oleh enzim amilase dan glukosidase memberikan aktivitas antioksidan yang tinggi karena adanya kandungan senyawa aktif di dalamnya, terutama senyawa fenol (Pidrayanti, 2008).

D. Daun Pandan Wangi

Daun Pandan diklasifikasi sebagai berikut:

Kingdom : Plantae
Divisi : Magnoliophyta
Kelas : Liliopsida
Ordo : Pandanales
Famili : Pandanaceae
Genus : Pandanus

Spesies : *Pandanus amaryllifolius* Roxb.



Gambar 2. Daun Pandan

Pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) sering digunakan sebagai bahan penyedap, pewangi, dan pemberi warna hijau pada masakan. Selain itu juga berkhasiat untuk menghitamkan rambut, menghilangkan ketombe, rambut rontok, lemah saraf, tidak nafsu makan, rematik, sakit disertai gelisah, serta pegal linu (Dalimartha, 2002).

Daun pandan wangi mengandung alkaloid, saponin, flavonoida, tanin, polifenol, dan zat warna (Sukandar *et al.*, 2009). Selain itu, daun pandan wangi sedikit mengandung minyak atsiri, terdiri dari 6-42% hidrokarbon seskuiterpen dan 6% merupakan linalool hanya sebagai monoterpen. Sukandar *et al.* (2007) melaporkan tumbuhan pandan wangi menghasilkan minyak atsiri yang memiliki komponen kimia 3-alil 6- metoksi fenol, 3-metil 2 (5H) furanon, dietil ester 1,2-benzenadikarboksilat, dan 1,2,3-propanetril ester asam dodekanoat.

Pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) juga memiliki aroma yang sangat khas. Aroma khas dari pandan wangi diduga karena adanya senyawa turunan asam amino fenil alanin yaitu 2-acetyl-1-pyrroline (Faras *et al.*, 2014). Selain

kegunaan tersebut, pandan wangi juga dilaporkan memiliki aktivitas antidiabetik pada ekstrak air, antioksidan pada ekstrak air dan metanol, antikanker pada ekstrak etanol dan metanol, dan antibakteri pada ekstrak etanol dan etil asetat (Prameswari dan Widjanarko, 2014).

E. Daun Jeruk Purut

Daun jeruk purut diklasifikasi sebagai berikut :

Kingdom : Plantae
Divisi : Magnoliophyta
Kelas : Magnoliopsida
Ordo : Sapindanales
Famili : Rutaceae
Genus : Citrus
Spesies : *Citrus hystrix D.C.*



Gambar 3. Daun Jeruk Purut

Daun jeruk purut juga sering digunakan sebagai bahan utama dalam obat-obatan tradisional. Daun jeruk purut mengandung alkaloid, polifenol, minyak atsiri, tanin, flavonoid (Rahmi *et al.*, 2013). Berdasarkan hasil penelitian Yuliani *et al.*

(2011) minyak atsiri daun jeruk purut mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Daun jeruk purut mengandung sabinena dan limonene yang berguna untuk kosmetik, aromaterapi pencuci rambut, antelmintik, obat sakit kepala, nyeri lambung, dan biopestisida. Daunnya juga sering digunakan sebagai rempah yang berfungsi untuk memberi aroma yang khas pada masakan (Munawaroh, 2010).

F. Kunyit

Kunyit diklasifikasi sebagai berikut (Purba,2013) :

- Kingdom : Plantae
- Divisi : Spermaphyta
- Sub-Divisi : Angiospermae
- Kelas : Monocotyledonae
- Ordo : Zingiberales
- Famili : Zingiberaceae
- Genus : Curcuma
- Spesies : *Curcuma longa L.*



Gambar 4. Kunyit

Kunyit (*Curcuma longa L.*) merupakan salah satu tanaman obat yang banyak dijumpai di Indonesia. Komponen utama yang terdapat pada rimpang kunyit adalah minyak atsiri dan kurkuminoid. Kandungan kurkumin pada rimpang kunyit berkisar 10,92%. Kurkuminoid termasuk senyawa polifenol dan memberikan warna kuning yang khas pada kunyit. Menurut Rukmana (1994), kurkuminoid mulai digunakan sebagai antidiabetes. Zhang *et al.* (2013) melaporkan bahwa kurkuminoid dapat bersifat antidiabetes. Kurkuminoid mampu menurunkan kadar glukosa dalam darah tikus yang telah diinduksikan aloksan.

G. Proses Pencernaan Pati

Pati adalah karbohidrat yang merupakan polimer glukosa yang terdiri atas amilosa dan amilopektin yang memiliki karakteristik yang berbeda. Keduanya tersusun dari monomer yang sama yaitu glukosa. Amilosa terbentuk dari rantai glukosa yang terikat dengan ikatan 1,4-glikosidik. Pada amilopektin tidak hanya terikat dengan ikatan 1,4-glikosidik akan tetapi terikat dengan ikatan 1,6-glikosidik yang menyebabkan rantainya bercabang (Herawati, 2011). Berdasarkan mekanisme hidrolisis enzimatis, hanya amilosa yang dapat dihidrolisis oleh enzim α -amilase dengan memotong ikatan 1,4-glikosidik, sedangkan amilopektin dapat dihidrolisis oleh enzim α -glukosidase untuk memutus rantai cabangnya yaitu ikatan 1,6- glikosidik (Wijaya *et al.*,2012).

Pati atau karbohidrat akan dicerna oleh enzim di dalam mulut dan usus menjadi gula yang lebih sederhana yang kemudian akan diserap ke dalam tubuh dan meningkatkan kadar gula darah. Karbohidrat atau pati akan diserap oleh tubuh

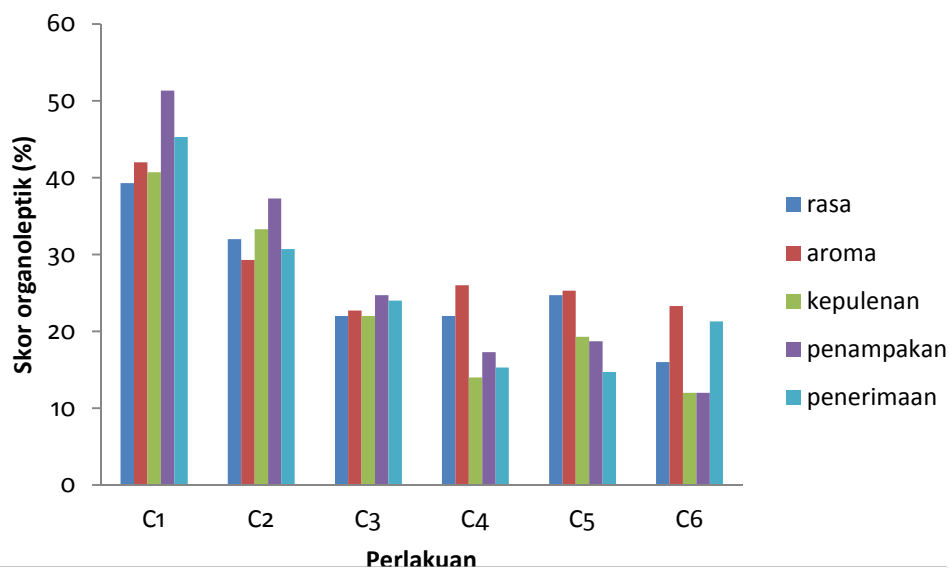
setelah mengalami perubahan terlebih dahulu menjadi komponen-komponen penyusunnya yaitu glukosa. Enzim yang dibutuhkan untuk melakukan tugas tersebut adalah α -amilase yang dihasilkan oleh kelenjar saliva dan pankreas. Namun, enzim α -amilase yang berasal dari saliva diinaktivasi oleh pH rendah di dalam lambung sehingga kurang berperan dalam proses pencernaan pati. Enzim α -amilase yang berasal dari pankreas akan berperan memecah pati di dalam usus halus. Proses tersebut akan dituntaskan pada bagian *brush border* usus halus dengan bantuan dari enzim glukamilase dan α -dextrinase. Pada bagian ini juga akan terjadi pemecahan disakarida menjadi monosakarida (Indrasari *et al.*, 2008).

Enzim α -amilase hanya dapat menghidrolisis amilosa dengan memotong ikatan α -1,4 glikosidiknya. Amilopektin yang memiliki rantai bercabang dengan ikatan α -1,6 glikosidik tidak dapat dihidrolisis oleh enzim α -amilase sehingga membutuhkan enzim α -glukosidase untuk memutus rantai cabangnya.

Menurut Bosenberg (2008), proses pencernaan karbohidrat menyebabkan pankreas melepaskan enzim α -glukosidase ke dalam usus. Enzim α -glukosidase akan mengkonversi karbohidrat menjadi oligosakarida, kemudian menjadi glukosa yang dikeluarkan oleh sel-sel usus halus yang kemudian akan diserap ke dalam tubuh. Enzim α -glukosidase akan menghidrolisis amilopektin yang memiliki rantai bercabang dengan memutus ikatan α -1,6 glikosidik pada rantai cabangnya. Amilosa dan amilopektin dapat terhidrolisis menjadi glukosa dan diserap oleh tubuh dengan bantuan enzim α -amilase dan α -glukosidase.

H. Pengaruh Kombinasi Daun Salam, Jeruk dan Pandan Terhadap Sifat Organoleptik dan Respon Glikemik Nasi Wangi.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan Sabarina *et al.* (2015) daun salam, daun pandan dan daun jeruk yang mengandung senyawa fenolik pada pemasakan nasi menghasilkan nasi wangi yang disukai konsumen dan memiliki respon glikemik yang lebih rendah dari nasi biasa. Nasi dengan penambahan kombinasi daun jeruk, pandan dan salam dengan berat total 1 g (C2) merupakan nasi dengan sifat organoleptik terbaik yang paling banyak disukai panelis di samping kontrol (C1) (Gambar 5).



Gambar 5. Pengaruh penambahan berat kombinasi daun salam, daun pandan dan daun jeruk terhadap rasa, aroma, kepulenan, penampakan dan penerimaan secara keseluruhan.

Keterangan: C1 : tanpa penambahan kombinasi daun salam, daun pandan, daun jeruk
 C2 : kombinasi 0.33 g daun salam, 0.33 daun pandan, dan 0.33 daun jeruk
 C3 : kombinasi 0.66 g daun salam, 0.66 daun pandan, dan 0.66 daun jeruk,

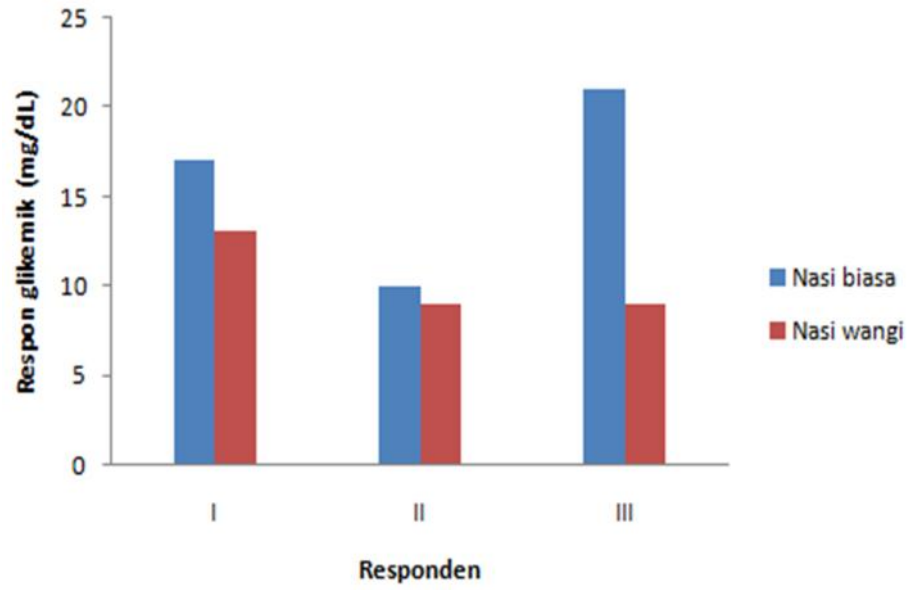
C4 : kombinasi 1.00 g daun salam, 1.00 daun pandan, dan 1.00 daun jeruk

C5: kombinasi 1.33 g daun salam, 1.33 daun pandan, dan 1.33 daun jeruk

C6: kombinasi 1.66 g daun salam, 1.66 daun pandan, dan 1.66 daun jeruk

Tingkat kesukaan panelis pada nasi dengan tambahan kombinasi 1 g (C2) yaitu rasa sebesar 32%, aroma 29.3%, kepulenan 33.3%, penampakan 37.3% dan penerimaan secara keseluruhan 30.7%. Nasi yang diberi tambahan kombinasi dengan berat 1 g memiliki aroma wangi yang berasal dari ketiga kombinasi yaitu daun jeruk, pandan dan salam. Warna yang dihasilkan agak sedikit kuning tidak jauh berbeda dengan nasi biasa dan rasanya tidak jauh berbeda dengan nasi biasa. Penambahan berat kombinasi daun salam, daun pandan dan daun jeruk yang semakin besar menghasilkan nasi yang agak pahit. Semakin berat kombinasi yang ditambahkan warna yang dihasilkan semakin kuning sampai coklat. Rasa yang dihasilkan semakin pahit karena kandungan tanin yang ada pada kombinasi (Situmorang, 2013).

Penambahan kombinasi 0,33 g daun salam, 0,33 g daun jeruk dan 0,33 g daun pandan menghasilkan nasi wangi dengan respon glikemik 35,6% lebih rendah dari nasi biasa, di mana diperoleh rata-rata untuk respon glikemik kontrol (nasi biasa) sebesar 16 mg/dL sedangkan nasi wangi sebesar 10,3 mg/dL (Gambar 6). Hal ini disebabkan karena kandungan senyawa polifenol pada bahan mampu menghambat aktivitas enzim α -amilase. Penghambatan pada enzim α -amilase akan menurunkan kemampuan untuk mencerna pati sehingga respon glikemiknya turun (Mcdougall, 2003).



Gambar 6. Respon glikemik responden setelah mengonsumsi nasi biasa dan nasi wangi perlakuan terbaik.

III. BAHAN DAN METODE

A. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Pengolahan Hasil Pertanian dan Laboratorium Analisis Hasil Pertanian, Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Universitas Lampung. Penelitian ini dilaksanakan pada Bulan April sampai dengan Agustus 2016.

B. Bahan dan Alat

Bahan utama yang digunakan yaitu daun salam, daun pandan wangi, daun jeruk purut dan kunyit yang segar dan tua yang diperoleh dari Pringsewu. Bahan yang digunakan untuk analisis antara lain enzim α -amilase, α -glukosidase (dari *Saccharomyces cerevisiae*), buffer fosfat, *starch*, glukosa, akarbosa, aquades, Na_2CO_3 , substrat PNPG (*p-nitrophenyl- α -D-glucopyranosyde*), buffer sodium fosfat, HCl, DNS, NaOH, reagen folin ciocalteu, asam galat, indikator PP, kalium natrium tartat tetrahidrat (PST (Potassium Sodium Tartrat)), fenol, Na metabisulfit.

Alat yang digunakan adalah seperangkat alat ekstraksi, water bath, vorteks, erlenmeyer, sentrifuge, mikropipet, pipet tip, tabung reaksi, dan *microplate reader spectrophotometer* untuk pengamatan penghambatan aktivitas enzim.

C. Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Kelompok Lengkap (RAKL) non faktorial dengan empat kali ulangan. Penelitian dilakukan dengan delapan perlakuan sebagai berikut:

- C1 : ekstrak kombinasi 0,33 g daun salam, 0,33 daun pandan, dan 0,33 daun jeruk
- C2 : ekstrak kombinasi 0,5 g daun salam dan 0,5 g daun jeruk
- C3 : ekstrak kombinasi 0,5 g daun jeruk dan 0,5 g daun pandan
- C4 : ekstrak kombinasi 0,5 g daun salam dan 0,5 g daun pandan
- C5 : ekstrak 1 g daun salam
- C6 : ekstrak 1 g daun pandan wangi
- C7 : ekstrak 1 g daun jeruk purut
- C8 : ekstrak kombinasi 0,25 g daun salam, 0,25 g daun pandan wangi, 0,25 g daun jeruk, 0,25 g kunyit.

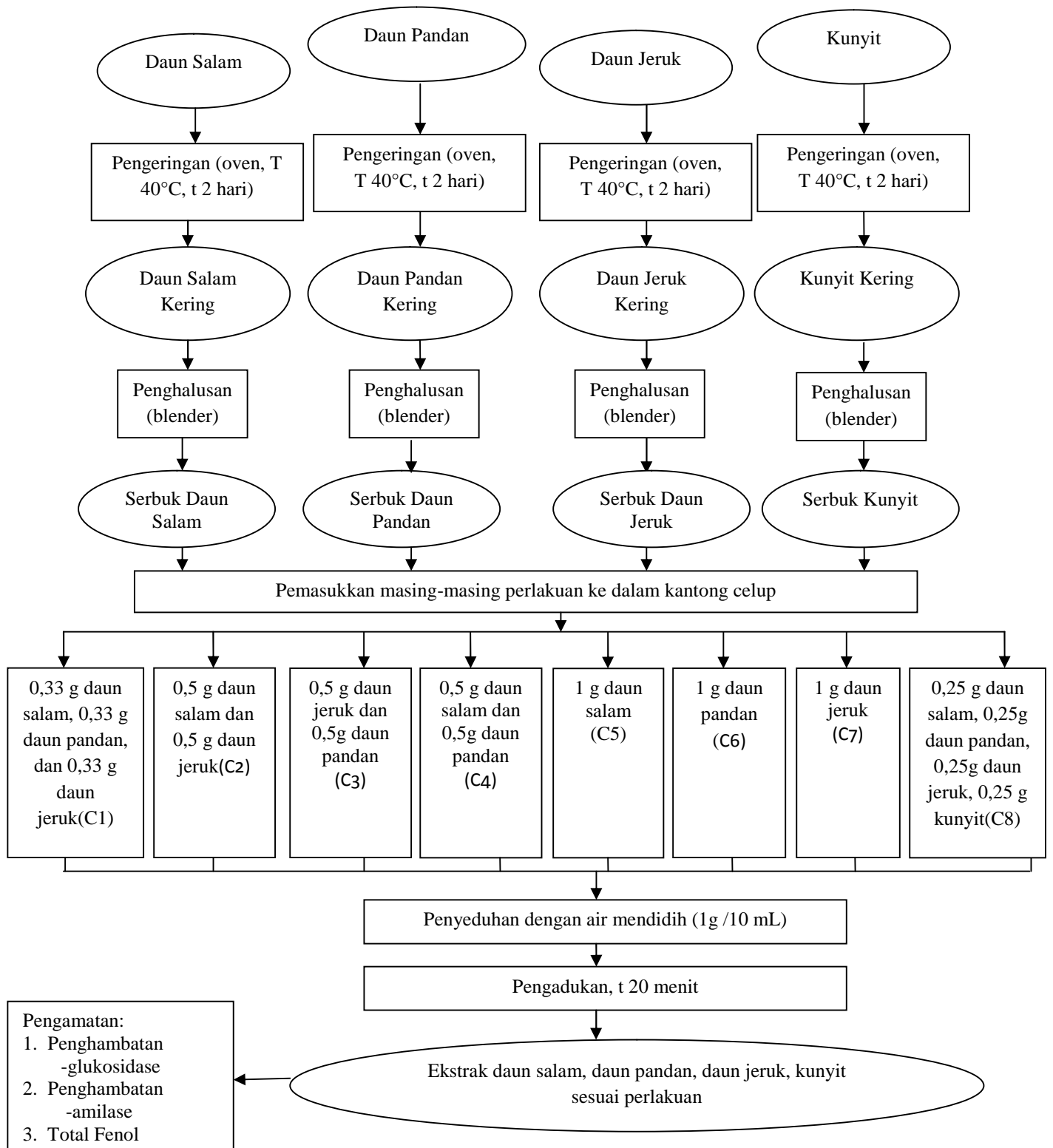
Pada perlakuan C8, kombinasi ketiga daun ditambah kunyit sebagai pembanding. Hal ini didasarkan pada hasil penelitian Rahmadhani (2016) yang menyatakan bahwa ekstrak kunyit memiliki penghambatan terhadap aktivitas enzim glukosidase yang tinggi sebesar 68,27%.

Data yang diperoleh dianalisis ragam untuk mendapatkan penduga ragam galat dan uji signifikan untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh antar perlakuan. Kehomogenan data diuji dengan uji Bartlett dan kemenambahan data diuji dengan uji Tuckey. Untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan data diuji lebih lanjut dengan uji beda nyata terkecil (BNT) pada taraf nyata 5%.

D. Pelaksanaan Penelitian

1. Pengeringan Daun dan Pembuatan Ekstrak

Pengeringan daun salam, daun pandan, daun jeruk dan kunyit dilakukan berdasarkan metode Murhadi *et al.* (2007), diawali dengan memilih daun salam, daun pandan daun jeruk, dan kunyit yang segar dan tua. Daun salam, daun pandan, daun jeruk dan kunyit dikeringkan dengan menggunakan oven pada suhu 40 °C selama dua hari. Daun salam, daun pandan, daun jeruk dan kunyit kering selanjutnya dihaluskan menggunakan blender sehingga diperoleh serbuk kering daun salam, daun pandan, daun jeruk dan kunyit. Serbuk tersebut dimasukkan ke dalam kantong celup yang telah dibuat sebelumnya sesuai dengan perlakuan masing-masing hingga diperoleh kombinasi daun pandan, daun salam, daun jeruk, kunyit atau daun tunggal dalam bentuk kantong celup. Proses ekstraksi menggunakan metode Dewi (2012) yang dimodifikasi. Serbuk kering yang telah diperoleh diseduh dengan air mendidih dengan perbandingan 1g/10 mL dan diaduk selama 20 menit. Diagram proses pengeringan dan pembuatan ekstrak daun salam, daun pandan, daun jeruk dan kunyit dapat dilihat pada Gambar 7.



Gambar 7. Proses pengeringan daun (Murhadi *et al.*, 2007) dan pembuatan ekstrak (Dewi, 2012).

E. Pengamatan

Parameter yang diamati terhadap ekstrak daun salam, daun pandan, daun jeruk dan kunyit pada ke delapan perlakuan adalah pengujian penghambatan aktivitas α -glukosidase (Rahmadhani, 2016), penghambatan aktivitas α -amilase (Muchtadi *et al.*, 1994), dan total fenol (Ismail, *et al.*, 2012).

1. Pengujian Penghambatan Enzim α -Glukosidase

Pengujian penghambatan aktivitas enzim α -glukosidase menggunakan metode Rahmadhani (2016). Disiapkan enzim α -glukosidase lalu dilakukan pengenceran 50 kali dengan cara 1 mL enzim α -glukosidase ditambahkan aquades sampai dengan 50 mL. Disiapkan substrat PNPG (*p-nitrophenyl- α -D-glucopyranoside*) dengan melarutkan 0,03012 g substrat PNPG dalam 100 mL aquades. Masing-masing sampel diambil 0,2 mL dan dimasukkan ke dalam 2 tabung reaksi, salah satunya sebagai koreksi warna. Selain itu disiapkan satu tabung reaksi yang akan digunakan sebagai kontrol yang berisi aquades dan satu tabung reaksi sebagai pembanding yang berisi akarbosa. Masing-masing tabung ditambahkan 2 mL enzim α -glukosidase yang telah diencerkan dan diinkubasi selama 10 menit pada suhu 37°C. Larutan kontrol dan tabung pertama ditambahkan 1 mL substrat PNPG sedangkan tabung kedua tidak ditambahkan substrat PNPG melainkan diganti dengan 1 mL aquades sebagai faktor koreksi warna lalu diinkubasi kembali pada suhu 37°C selama 30 menit. Larutan ditambahkan 2 mL Na₂CO₃ 2% lalu divorteks. Sampel dimasukkan ke dalam kuvet, diukur absorbansinya pada panjang gelombang 405 nm. Diagram alir pengujian penghambatan aktivitas enzim α -glukosidase dapat dilihat pada Gambar 8.

Absorbansi larutan sampel (A_s) adalah hasil pengurangan absorbansi sampel dengan substrat (A_{s1}) dengan absorbansi sampel tanpa substrat (A_{s2}).

$$A_s = A_{s1} - A_{s2}$$

Persentase penghambatan aktivitas enzim α -glukosidase dapat dihitung melalui rumus :

$$\% \text{ penghambatan} = [(A_0 - A_s) / A_0] \times 100\%$$

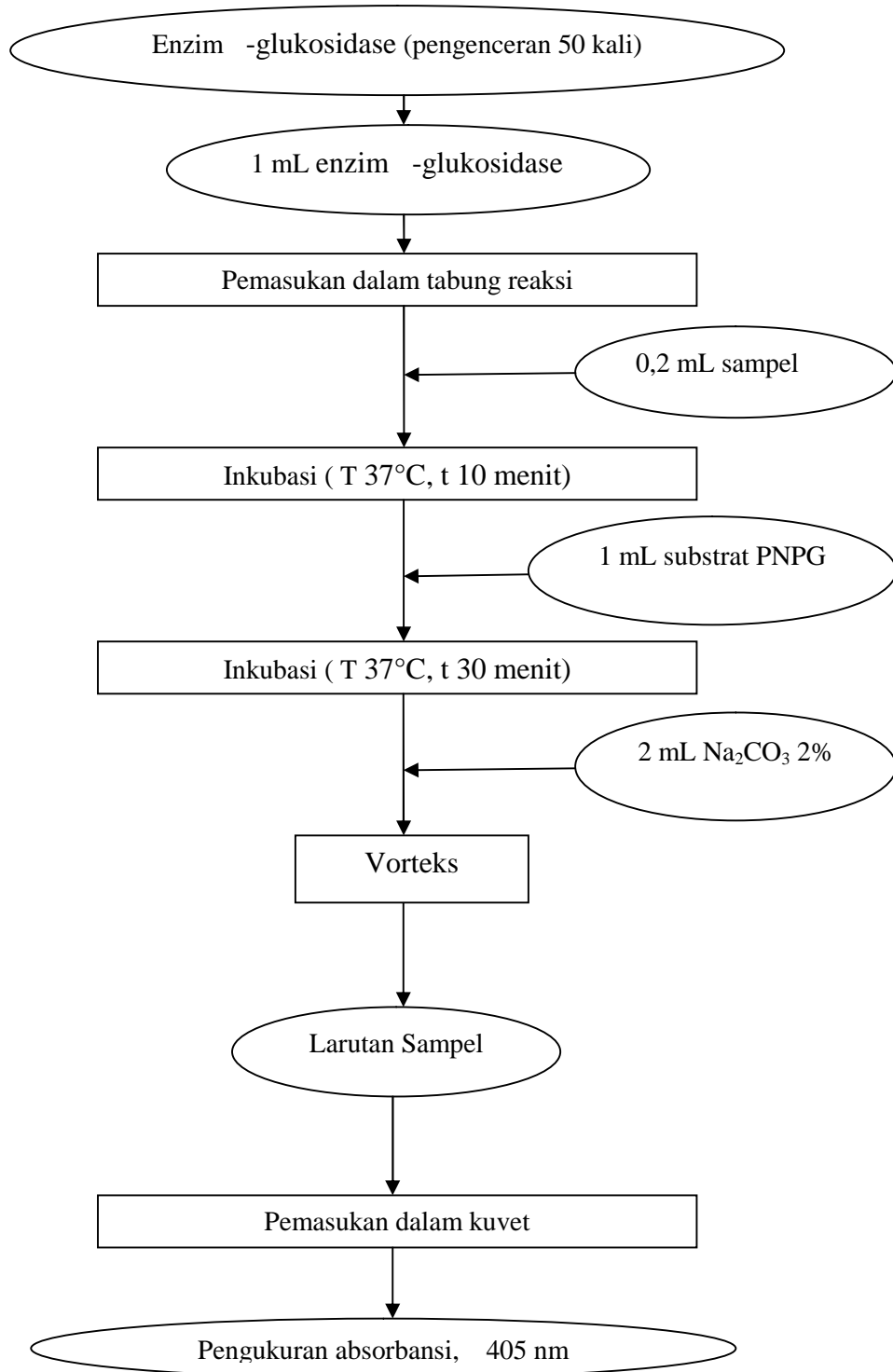
Keterangan:

A_s = Absorbansi larutan sampel

A_{s1} = Absorbansi sampel dengan substrat

A_{s2} = Absorbansi sampel tanpa substrat (koreksi warna)

A_0 = Absorbansi kontrol



Gambar 8. Diagram alir proses pengujian penghambatan aktivitas enzim - glukosidase (Rahmadhani, 2016)

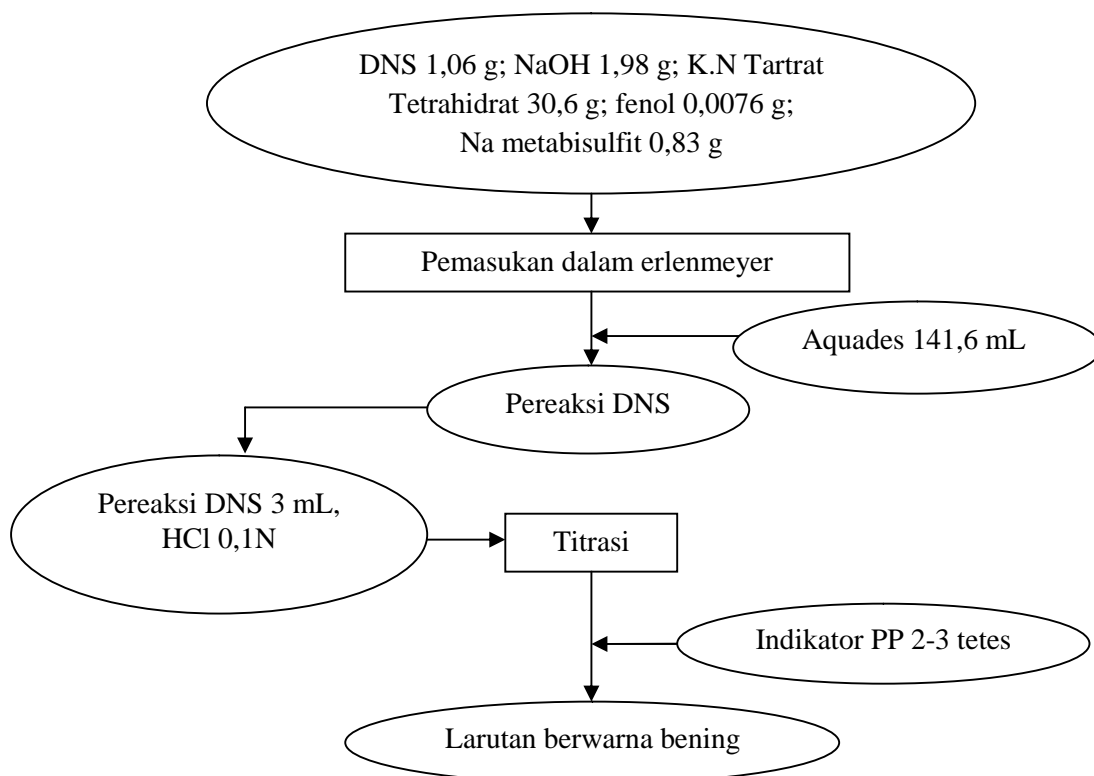
2. Pengujian Penghambatan Enzim -Amilase

Pengujian penghambatan aktivitas enzim -amilase menggunakan metode DNS dengan menentukan tingkat hidrolisis pati.

a. Pembuatan pereaksi dinitro salisilat (DNS)

Pembuatan pereaksi DNS menggunakan metode Apriyanto *et al.* (1989).

Sebanyak 1,96 g asam dinitro salisilat dan 1,98 g NaOH, 3,06 g K.N. Tartrat Tetrahidrat, 0,0076g fenol dan 0,83 g Na-metabisulfit ditimbang lalu dimasukkan ke dalam 141,6 mL aquades dan dicampurkan. Selanjutnya dilakukan titrasi 3 mL pereaksi DNS dengan HCl 0,1N dan ditambahkan 2-3 tetes indikator fenolftalein sampai berubah warna menjadi bening. Diagram alir pembuatan pereaksi dinitro salisilat (DNS) dapat dilihat pada Gambar 9.



Gambar 9. Diagram alir pembuatan pereaksi dinitro salisilat (DNS) (Apriyanto *et al.*, 1989)

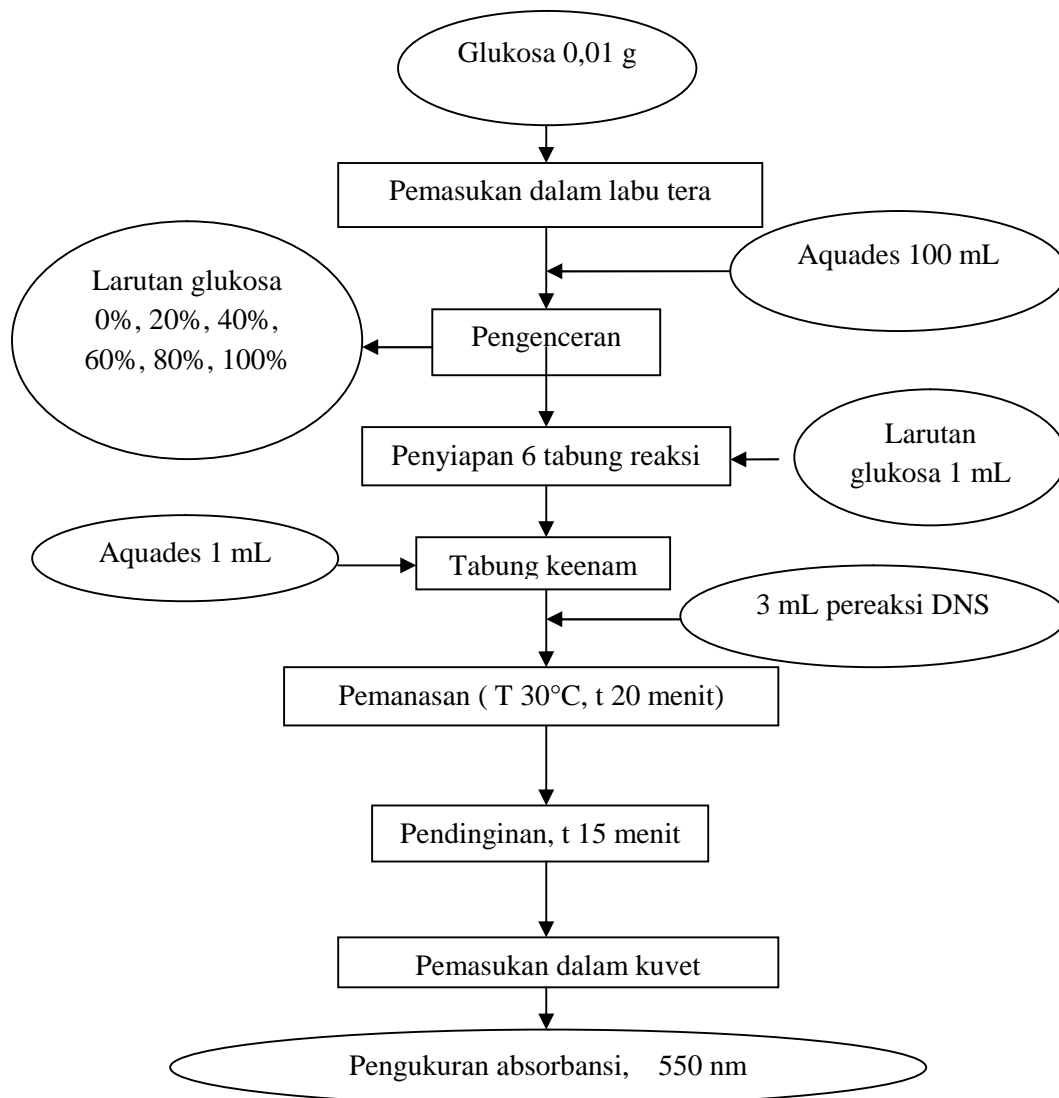
b. Pembuatan kurva standar glukosa

Jumlah glukosa hasil hidrolisis enzim amilase diukur secara spektrofotometri. Larutan hasil hidrolisis direaksikan dengan pereaksi dinitro salisilat (DNS) sehingga terbentuk warna jingga kemerahan yang kepekatannya berbanding lurus dengan kadar glukosa dalam larutan. Kandungan glukosa sampel ditentukan berdasarkan kurva standar glukosa metode Muchtadi *et al.*, (1992) yang telah dimodifikasi.

Konsentrasi glukosa yang digunakan sebagai kurva standar adalah 0,01%, yang dibuat dengan cara melarutkan 0,01 g glukosa ke dalam labu tera dan ditambahkan sampai volume 100 mL aquades. Kemudian dibuat seri pengenceran 0%, 20%, 40%, 60%, 80%, 100% dari konsentrasi larutan standar glukosa.

Selanjutnya disiapkan 6 tabung reaksi, masing-masing tabung reaksi dimasukkan 1 mL dari larutan glukosa tersebut. Tabung keenam diisi aquades sebagai penghambatan larutan glukosa (blanko). Larutan ditambahkan 3 mL pereaksi DNS. Tabung reaksi dipanaskan dalam penangas air pada suhu 30°C selama 20 menit dan didinginkan selama 15 menit. Larutan dimasukkan ke dalam kuvet sebanyak 5 mL untuk diukur absorbansinya pada panjang gelombang 550 nm.

Diagram alir proses pembuatan kurva standar glukosa dapat dilihat pada Gambar 10.

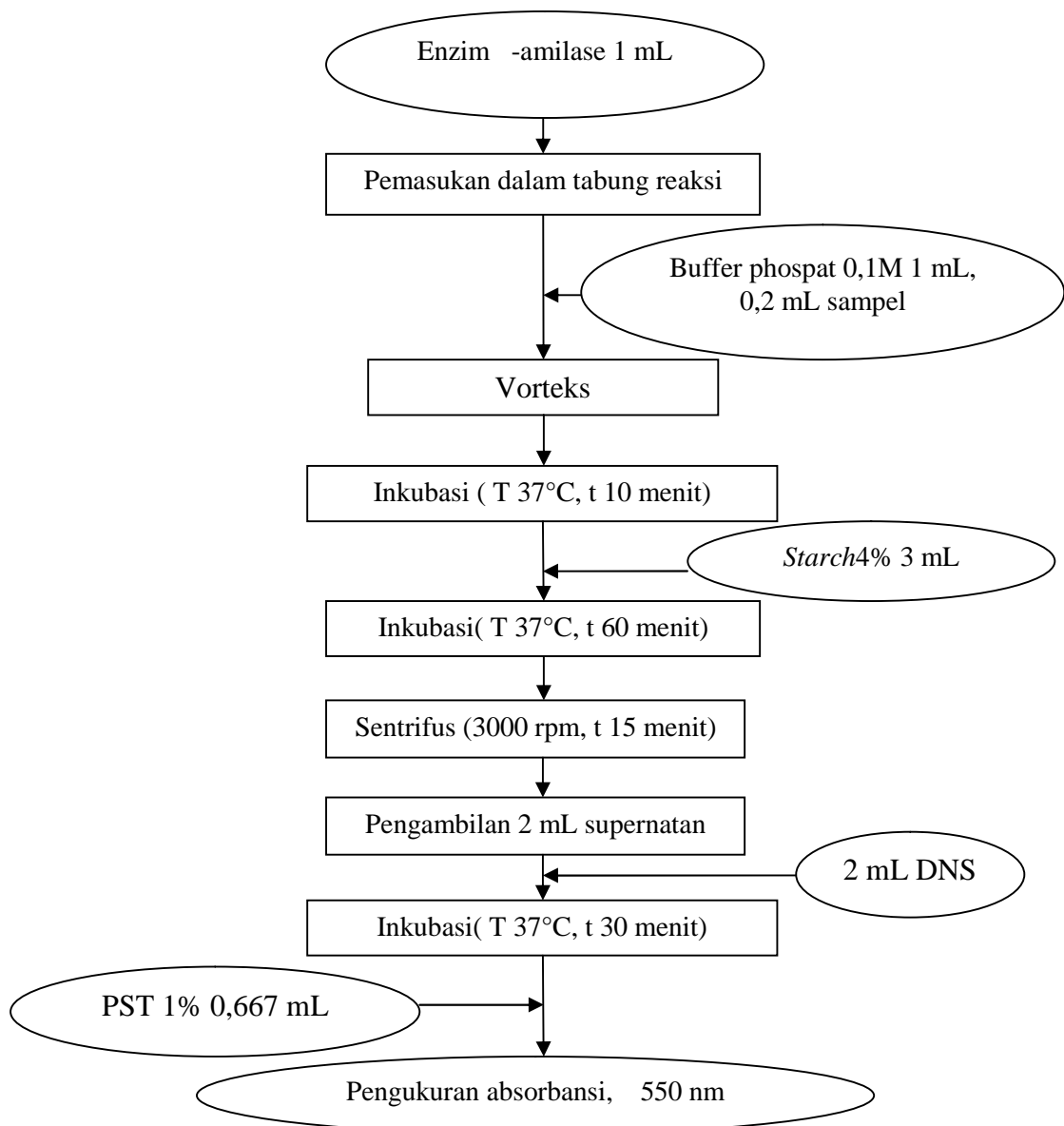


Gambar 10. Diagram alir proses pembuatan kurva standar glukosa (Muchtadi *et al.*, 1992) yang telah dimodifikasi.

c. Penentuan tingkat hidrolisis pati

Penentuan tingkat hidrolisis pati menggunakan metode Muchtadi *et al.*, (1992) yang telah dimodifikasi. Enzim α -amilase dimasukkan ke dalam tabung reaksi sebanyak 1 mL lalu ditambahkan 0.1 mL buffer fosfat 0,1 M. Kemudian dimasukkan sampel sebanyak 0,2 mL, divorteks dan diinkubasi selama 10 menit pada suhu 37°C. Setelah itu, ditambahkan pati 4% sebanyak 3 mL, diinkubasi

selama 60 menit pada suhu 37°C. Larutan disentrifus dengan kecepatan 3000 rpm selama 15 menit. Diambil 2 mL supernatan dan ditambahkan 2 mL pereaksi DNS, diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C. Sampel ditambahkan PST (Potassium Sodium Tartrat) 1% sebanyak 0,667 mL, lalu diukur absorbansinya pada panjang gelombang 550 nm. Diagram alir proses penentuan daya cerna pati dapat dilihat pada Gambar 11.



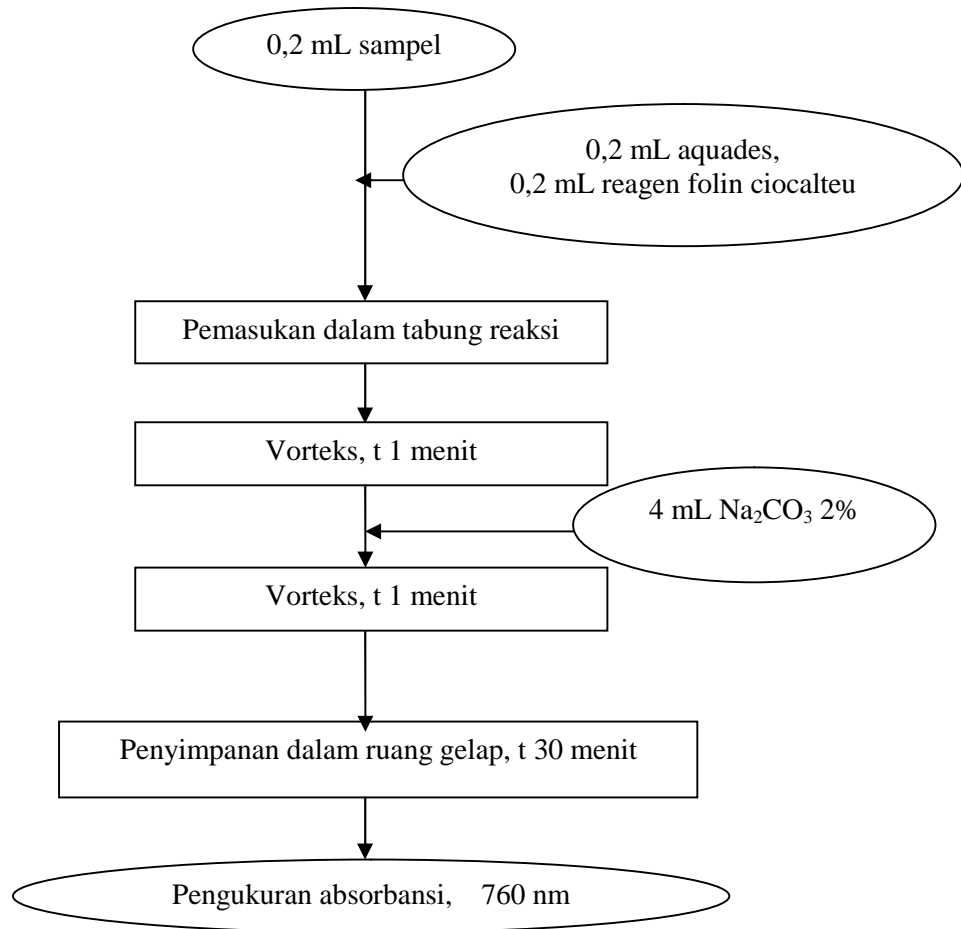
Gambar 11. Diagram alir proses penentuan daya cerna pati (Muchtadi *et al.*, 1992)

3. Total Fenol

Pengujian total fenol dilakukan dengan metode Ismail *et al.* (2012) untuk mengetahui seberapa besar kandungan senyawa fenol di dalam ekstrak sampel. Pengujian ini dilakukan dengan menggunakan reagen Folin Ciocalteu yang dapat mereduksi. Adanya senyawa fenol ditandai dengan perubahan warna larutan dari hijau (warna reagen Folin Ciocalteu) menjadi warna biru akibat telah teroksidasi dan mereduksi senyawa antioksidan. Tahapan analisis total fenol diawali dengan menyiapkan sampel sebanyak 0,2 mL ditambah dengan 0,2 mL akuades dan 0,2 mL reagen folin ciocalteu, dan kemudian divortex selama 1 menit. Setelah itu, ditambah dengan 4 mL larutan natrium karbonat (Na_2CO_3)₂ % dan divortex kembali selama satu menit lalu didiamkan dalam ruang gelap pada suhu kamar selama 30 menit. Setelah itu diukur absorbansi pada panjang gelombang 760 nm. Diagram alir proses pengukuran total fenol dapat dilihat pada Gambar 12.

Hasilnya diplotkan terhadap kurva standar asam galat dengan menggunakan persamaan regresi linier. Hubungan antara konsentrasi asam galat dinyatakan sebagai sumbu x dan besarnya absorbansi hasil reaksi asam galat dengan pereaksi Folin-Ciocalteu dinyatakan sebagai sumbu y. Pembuatan kurva standar fenol dibuat dengan cara menimbang 1 mg bubuk asam galat kemudian dilarutkan ke dalam 100 mL aquades. Lalu dibuat seri pengenceran larutan induk asam galat 0%, 20%, 40%, 60%, 80%, 100%. Hasil yang diperoleh diplotkan pada kurva standar yaitu : $y = ax + c$

Keterangan: y = Absorbansi sampel; x = Konsentrasi ekuivalen asam galat;
 a = Gradien; c = Intersef



Gambar 12. Diagram alir proses pengukuran total fenol (Ismail *et al.*, 2012)

V. KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian, diperoleh kesimpulan sebagai berikut:

1. Ekstrak daun salam, daun pandan, daun jeruk dan kombinasinya memiliki aktivitas penghambatan enzim α -glukosidase dan α -amilase yang tidak berbeda nyata antar ekstrak.
2. Penghambatan terhadap enzim α -glukosidase oleh ekstrak daun salam, daun pandan, daun jeruk dan kombinasinya berkisar 20,14%-35,30% dan α -amilase berkisar 17,63%-26,04%.
3. Penghambatan aktivitas enzim α -glukosidase dan α -amilase tidak tergantung pada total fenol ekstrak daun salam, daun pandan, daun jeruk dan kombinasinya.

B. Saran

Pelu dilakukan uji *in vivo* untuk mengevaluasi manfaat daun salam, daun pandan dan daun jeruk sebagai antidiabetes.

DAFTAR PUSTAKA

- Ani, V. and K. A. Naidu. 2008. Antihyperglycemic Activity of Polyphenolic Components of Black/Bitter Cumin *Centrathemanthelminticum* (L.) Kuntze Seeds. *Europe Food Research Technology*. 226(4):897-903.
- Apriyanto, A., D. Fardias, N.L. Puspitasari dan S. Budiyanto. 1989. *Analisis Pangan*. IPB. Bogor. Hal:51.
- Ariyanti. 2005. Uji Antidiabetika Infusa Daun Salam (*Syzygium polyanthum* (Wight) Walp.) pada Kelinci Jantan yang Dibebani Glukosa serta Kromatografi Lapis Tipisnya. (Skripsi). Fakultas Farmasi UMP. Purwokerto.
- Azizah, N, A. Jayuska dan Harlia. 2015. Aktivitas Anti Rayap Ekstrak Daun Jeruk Bali (*Citrus maxima* (Burm.) Merr.) terhadap Rayap Tanah *Coptotermes sp.* *Jurnal Kimia Khatulistiwa*. 4(3):33-39.
- Bender, D.A. 2003. *Introduction to Nutrition and Metabolism*. 3rd ed. Taylor and Francis. London.
- Bischoff, K.J. 1994. Increasing Prevalence of Gestational Diabetes Mellitus (GDM) Over Time and by Birth Cohort : Kaiser Permanente of Colorado GDM Screening Program. *Diabetes Care*. 28(3):579-584
- Bosenberg, L.H. 2008. The Mechanism of Action of Oral Antidiabetic Drugs : a Review of Recent Literature. *The Journal of Endocrinology, Metabolism and Diabetes of South Africa*. 13(3):80-88.
- Dalimarta, S. 2000. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia*. Trubus. Bogor.
- Dalimartha, S. 2002. *Obat Tradisional, Pandan Wangi (Pandanus amaryllifolius Roxb.)*. Trubus. Bogor.
- Dewi, R. 2012. Aktivitas Antioksidan dan Sitoksitas Metabolit Sekunder Daun Salam (*Syzygium polyanthum* Wight.) dan Daun Jati Belanda (*Guazuma ulmifolia* Lamk.) (Skripsi). Institut Pertanian Bogor. Bogor.

- Faras, A.F., S.S. Wadkar and J.S. Ghos. 2014. Effect of Leaf Extract of *Pandanus amorphifolius* Roxb. on Growth of *Escheria coli* and *Micrococcus (Staphylococcus) aureus*. *Internasional Food Research Jurnal*. 21(1):421-423.
- Febrianti, A., G. Dwiyantri dan W. Siswaningsih. 2014. Pengaruh Suhu dan Lama Pemanasan terhadap Aktivitas Antioksidan dan Total Antosianin Minuman Sari Ubi Jalar Ungu (*Ipomoea batatas* L.). *Jurnal Sains dan Teknologi Kimia*. 5(2):85-95.
- Febrinda, A.E., M. Astawan, T. Wresdiyati dan N. D. Yuliana. 2013. Kapasitas Antioksidan dan Inhibitor Alfa-Glukosidase Ekstrak Umbi Bawang Dayak. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*. Bogor. 24(2):161-167.
- Fitri, A. 2007. Pengaruh Penambahan Daun Salam (*Eugenia polyantha* Wight) terhadap Kualitas Mikrobiologis, Kualitas Organoleptis dan Daya Simpan Telur Asin pada Suhu Kamar. (Skripsi). Universitas Sebelas Maret. Surakarta.
- Gopal, M. 2009. Alpha-Amylase : Structure and Function Relationship. *Trends in Carbohydrate Research*. 1(4):1-11
- Hartika, R. 2009. Aktivitas Inhibisi -Glukosidase Ekstrak Senyawa Flavonoid Buah Mahkota Dewa. (Skripsi). Departemen Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Herawati, H. 2011. Potensi Pengembangan Produk Pati Tahan Cerna sebagai Pangan Fungsional. *Jurnal Penelitian dan Pengembangan Pertanian*. 30(1):31-39.
- Himmah, L. F. dan W. Handayani. 2012. Pengaruh Ekstrak Teh Hijau dalam Pembuatan Beras dengan IG Rendah. *UNEJ Jurnal XXXXXXXXX*. 1(1):1-3.
- IDF (The International Diabetes Federation). 2015. Diabetes Data. www.idf.org [17 Oktober 2016].
- Indrasari, S. D., E.Y. Purwani, P. Wibowo dan Jumali. 2008. Nilai Indeks Glikemik Beras Beberapa Varietas Padi. *Penelitian Pertanian Tanaman Pangan*. 27(3):127-134.
- Ismail, J., M.R.J. Runtuwene dan F. Fatimah. 2012. Penentuan Total Fenolik dan Uji Aktivitas Antioksidan pada Biji dan Kulit Buah Pinang Yaki (*Areca vestiaria* Giseke). *Jurnal Ilmiah Sains*. 12(2):84-88
- Judge, N. and B. Svensson. 2006. Review Proteinaceous Inhibitor of Carbohydrate Active Enzymes in Cereals : Implication in Agriculture, Cereal Processing and Nutrition. *Journal Science Food Agriculture*. 86(11):1573-1586

- Kandra, L., G. Gyemant, A. Zajacz and G. Battab. 2004. Inhibitory Effects of Tannin on Human Salivary α -Amylase. *Biochemistry Biophysics Resource Community*. 319:1265-1271.
- Katzung, B.G. 2002. *Farmakologi Dasar dan Klinik*. Diterjemahan oleh Sjabana, D., E. Isbandiati, A. Basori, M. Soejdak, Uno, Indriyani, R.B. Ramadhani, S Zakaria. Salemba Medika. Surabaya
- Kim, J.S, J.B. Ju, C.W. Choi and S.C. Kim. 2006. Hypoglycemic and Antihyperlipidemic Effect of Four Korean Medicinal Plants in Alloxan Induced Diabetic Rats. *American Journal Biochemistry and Biotechnology*. 2(4):154-160.
- Lai, Y.C., C.K. Chen, S.F. Tsai and S. Lee. 2012. Triterpenes as α -Glucosydase Inhibitors From *Fagus hayatae*. *Phytochemistry*. 74:206-211.
- Lo Piparo E, H. Scheib, N. Frei, G. Williamson, M. Grigorov and C.J. Chou. 2008. Flavonoids for Controlling Starch Digestion: Structural Requirements for Inhibiting Human α -Amylase. *Journal Medical Chemistry*. 51:3555-3561.
- Lazarus, S.A. dan H.S. Harold. 2000. Dietary Flavonoids May Promote Health, Prevent Heart Disease. *California Agriculture*. 54(5) : 33-39.
- Manaharan, T., D. Appleton, H. Cheng and U. Palanisamy. 2011. Flavonoids Isolated from *Syzygium aqueum* Leaf Extract as Potential Antihyperglycaemic Agents. *Food Chemistry*. 127(1):21-27.
- Margaretha, S., S.D Handayani, N. Indraswati dan H. Hindarso. 2011. Ekstraksi Senyawa Phenolic *Pandanus Amaryllifolius Roxb.* sebagai Antioksidan Alami. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. 10(1):21-30.
- Matsushita, H., T. Mio and O. Haruko. 2002. Porcine Pancreatic α -Amylase Shows Binding Activity Toward N-Linked Oligosaccharides of Glycoproteins. *The Journal of Biological Chemistry*. 277(7):4680-4686.
- Mcdougall, G., S. Faina, D. Patricia, S. Pauline, B. Alison and S. Derek. 2003. *Differ Polyphenolic Components of Soft Fruit Inhibit α -Amylase and α -Glucosidase*. Scottish Crop Research Institute. United Kingdom.
- Muchtadi, T.R. dan Sugiono. 1992. *Ilmu Pengetahuan Bahan Pangan*. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan. Direktorat Jenderal Tinggi Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi. IPB. Bogor.
- Munadi dan D. Ardinata. 2008. Perubahan Kadar Glukosa Darah Penderita Diabetes Melitus Tipe-2 yang Terkontrol Setelah Mengonsumsi Kurma. *Majalah Kedokteran Nusantara*. 41(1):29-35.

- Munawaroh, S. dan A.H. Prima. 2010. Ekstraksi Minyak Daun Jeruk Purut (*Citrus Hystrix D.C.*) dengan Pelarut Etanol dan N-Heksana. *Jurnal Kompetensi Teknik*. 2(1):73-80.
- Murhadi, Suharyono dan Susilawati. 2007. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Salam (*Syzygium polyanta*) dan Daun Pandan (*Pandanus amaryllifolius*). *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*. 18(1):17-24.
- Nurchayati, E. 2014. *Khasiat Dahsyat Daun Salam*. Jendela Sehat. Jakarta.
- Patel, M.B. and S.M. Mishra. 2012. Magnoflorine from *Tinospora cordifolia* Stem Inhibits α -glucosydase and is Antiglycemic in Rats. *Journal Functional Foods*. 4:79-86.
- Pidrayanti, L.T.M.U. 2008. Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Salam (*Eugenia polyantha*) terhadap Kadar LDL Kolesterol Serum Tikus Jantan Galur Wistar Hiperlipidemia. (Artikel Penelitian). Universitas Diponegoro. Semarang.
- Pinto, M S., J.E. de Carvalho, F.M. Lajolo, M.I. Genovese and K. Shetty. 2010. Evaluation of Antiproliferative, Anti-Tipe 2 Diabetes, and Antihypertension Potentials of Ellagitannins from Strawberries (*Fragaria ananassa* Duch.) Using in Vitro Models. *Journal of Medicinal Food*. 13(5): 1027-1035.
- Prameswari, O.M. dan S.B. Widjanarko. 2014. Uji Efek Ekstrak Air Daun Pandan Wangi terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah dan Histopatologi Tikus Diabetes Mellitus. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. 2(2):16-27.
- Purba, E.R. 2013. Perbandingan Kadar dan Komponen Minyak Atsiri Rimpang Cabang dan Rimpang Induk Kunyit (*Curcuma longa L.*) Segar dan Kering secara GC-MS. (Skripsi). USU. Medan
- Purwatresna, E. 2012. Aktivitas Antidiabetes Ekstrak Air dan Etanol Daun Sirsak Secara In Vitro Melalui Inhibisi Enzim α -Glukosidase. (Skripsi). Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Rahmadhani, O.S. 2016. Uji Penghambatan Aktivitas Enzim Alfa-Glukosidase dan Aktivitas Antioksidan Jahe, Kayu Manis, Kunyit, dan Beserta Kombinasinya. (Skripsi). Universitas Lampung. Bandar Lampung
- Rahmi U, M. Yunazar dan S. Adlis. 2013. Profil Fitokimia Metabolik Sekunder dan Uji Aktivitas Antioksidan Tanaman Jeruk Purut (*Citrus Histris DC*) dan Jeruk Bali (*Citrus maxima* (Burm.f.) Merr). *Jurnal Unand*. 2(2):2303-2311.

- Rais, I.R., A.G. Samudra, S. Widyarini dan A.E. Nugroho. 2013. Penentuan Aktivitas Isolat Andrografolid Terhadap α -Amilase dan α -Glukosidase Menggunakan Metode Apostolid dan Mayur. *Jurnal Tradisional Medis*. 18(3):162-166.
- Riskesdas. 2013. Laporan Hasil Riset Kesehatan Dasar Nasional 2013. Badan Penelitian Dan Pengembangan Kesehatan Kementerian Kesehatan RI. Jakarta.
- Rukmana, R. 1994. *Kunyit*. Kanisius. Jakarta
- Sabarina, D., R. Cholik dan D. Silviana. 2015. Nasi Wangi sebagai Pencegahan Diabetes Mellitus. (Laporan PKM). Universitas Lampung. Bandar Lampung.
- Sales, P.M., P.M. Souze, L.A. Simeoni, P.O. Magalhaes and D. Silveira. 2012. α -Amylase Inhibitors: a Review of Raw Material and Isolated Compounds from Plant Source. *Journal Pharmaceutical*. 15(1):141-183
- Sarjono, P, Ngadiwiana, Ismiyarta dan Prasetya. 2010. Aktivitas Bubuk Kayu Manis (*Cinnamomum cassia*) Sebagai Inhibitor α -Glukosidase. *Jurnal Sains dan Matematika*. 18(2):59-62.
- Shinde, J., T. Taldone, M. Barletta, N. Kunaparaju, H. Bo and S. Kumar. 2008. α -Glukosidase Inhibitory Activity of *Syzygium Cumini* (Linn.) Skeels Seed Kernel in Vitro and in Goto-Kazizaki (GK) Rats. *Carbohydrate Research*. 343(7):1278-1281.
- Situmorang, R. 2013. Perbedaan Perubahan Kadar Trigliserida Setelah Pemberian Ekstrak dan Rebusan Daun Salam (*Eugenia polyantha*) pada Tikus *Sprague dawley* yang Diberi Pakan Tinggi Lemak. (Artikel Penelitian). Universitas Diponegoro. Semarang.
- Sudha, P., S.S. Zinjarde, S.Y. Bhargava dan A.R. Kumar. 2011. Potent Alpha-Amylase Inhibitory Activity of Indian Ayurvedic Medical Plants. *Journal BMC Complementary and Alternative Medicine*. 11(5):5-11.
- Sugiwati, S. 2005. Aktivitas Antihiperqlikemik dari Ekstrak Buah Mahkota Dewa [*Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl.] sebagai Inhibitor Alfa Glukosidase *In Vitro* dan *In Vivo* pada Tikus Putih. (Tesis). Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor.
- Sukandar, D., Z. Dinu dan Septyani. 2007. Eksplorasi Potensi Kimia Minyak Atsiri Pada Daun Tumbuhan Pandan Wangi. (Prosiding Seminar BKS MIPA). UIN Syahid Hidayatullah. Jakarta.

- Sukandar, D., S. Hermanto dan I.A.Mabrur. 2009. Aktivitas Senyawa Antidiabetes Ekstrak Etil Asetat Daun Pandan Wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.). (Skripsi). UIN Syahid Hidayatullah. Jakarta.
- Tadera, K., Y. Minami, K. Takamatsu and Matsuoka, T. 2006. Inhibition of α -Glukosidase and α -Amylase of Flavonoids. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*. 52:149-153.
- Thompson, L.U., Yoojh, D.J.A. Jenkins, T.M.S. Wolever and A.Z. Jenkins. 1984. Relationship between Polyphenol Intake and Blood Glucose Response of Normal and Diabetic Individuals. *American Journal Clinical of Nutrition*. 39(5):745-751.
- Tjokroprawiro, A. 2007. *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam*. Universitas Airlangga Press. Surabaya.
- Wahyuntari, B. 2011. Penghambat α -Amilase : Jenis, Sumber, dan Potensi Pemanfaatannya dalam Kesehatan. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*. 12(2):197-201
- Waspadji, S. 2009. Diabetes Mellitus : Mekanisme Dasar dan Pengelolaannya yang Rasional. Dalam S.Soegonde, P.Soewondo, & I. Subekti (Editor), *Penatalaksanaan Diabetes Mellitus Terpadu : Panduan Penatalaksanaan Diabetes Mellitus bagi Dokter dan Edukator*. FKUI. Jakarta.
- Wijaya, W.A., N.S.W. Yahya, Meutia, I. Hermawan dan R.N. Begum. 2012. Beras Analog Fungsional dengan Penambahan Ekstrak Teh untuk Menurunkan Indeks Glikemik dan Fortifikasi dengan Folat, Seng, dan Iodin. (Laporan Perkembangan Penelitian). IPB. Bogor.
- Winarno, F.G. 1989. *Kimia Pangan dan Gizi*. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- Wirahadikusumah, M. 1989. *Protein, Enzim dan Asam Nukleat*. ITB. Bandung.
- Wulandari, M., N. Idawati dan Gusrizal. 2013. Aktivitas Antioksidan Ekstrak *N*-Heksana, Etil Asetat dan Metanol Kulit Buah Jeruk Sambal (*Citrus Microcarpa* Bunge). *Jurnal Kimia Khatulistiwa*. 2(2):90-94.
- Xu, H. 2010. Inhibition Kinetics of Flavonoids on Yeast α -glucosydase Merged with Docking Simulation. *Protein and Peptin Letters*. 17(10):1270-1279.
- Yao, L.H., Y.M. Shi, B.F.A. Thomas, N. Datta, R.Singanusong dan S.S Chen. 2004. Flavonoids in Food and Their Health Benefit. *Plant Food for Human Nutrition*. 59: 113-122.

- You, Q., F. Chen, X. Wang, Y. Jiang and S.Lin. 2013. Anti-Diabetic Activities of Phenolic Compounds in Muscadine Against Alpha-Glucosidase and Pancreatic Lipase, LWT. *Food Science and Technology*. 46:164-168.
- Yuliani, R., I. Peni dan S.R. Septi. 2011. Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix Z*) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Journal Pharmacon*. 12(2):50-54.
- Yuliasuti, W. 2011. Uji Aktivitas Penghambatan Alfa-Glukosidase dan Penapisan Fitokimia dari Beberapa Tanaman Famili *Apocynaceae* dan *Rubiaceae*. (Skripsi). UI. Depok.
- Zhang, D., M. Fu, S.H. Gao dan J.L. Liu. 2013. Curcumin and Diabetes : a Systematic Review. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3857752/>. Diakses pada tanggal 10 Oktober 2016.
- Zhang, J.F., Y.G. Zheng and Y.C. Shen. 2007. Inhibitory Effect of Valienamine on The Enzymatic Activity of Honey Bee (*Apis cerana* Fabr.) Alpha-Glucosidase. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 87(1):73-77.