

**UJI AKTIVITAS ANTIDIABETES EKSTRAK ETANOL 96% DAUN
BILAJANG BULU (*Merremia vitifolia*) SECARA *IN-VITRO*
DENGAN UJI PENGHAMBATAN
ENZIM ALFA-AMILASE**

(Skripsi)

**Oleh:
Nova Antika Sintia
2118031012**



**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2025**

**UJI AKTIVITAS ANTIDIABETES EKSTRAK ETANOL 96% DAUN
BILAJANG BULU (*Merremia vitifolia*) SECARA IN-VITRO
DENGAN UJI PENGHAMBATAN
ENZIM ALFA-AMILASE**

Oleh

Nova Antika Sintia

2118031012

Skripsi

**Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Memperoleh Gelar
SARJANA FARMASI**

Pada

**Program Studi Farmasi
Fakultas Kedokteran Universitas Lampung**



**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2025**

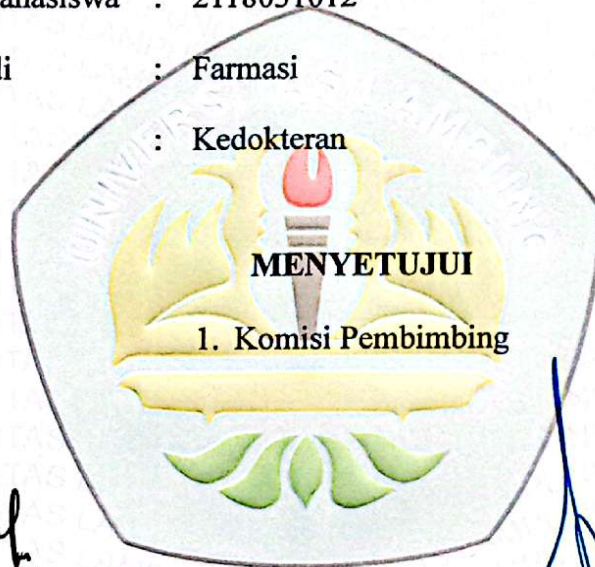
Judul Skripsi : **UJI AKTIVITAS ANTIDIABETES EKSTRAK
ETANOL 96% DAUN BILAJANG BULU
(*Merremia vitifolia*) SECARA *IN-VITRO*
DENGAN UJI PENGHAMBATAN ENZIM
ALFA-AMILASE**

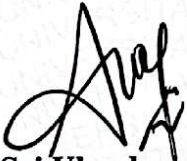
Nama Mahasiswa : **Nova Antika Sintia**

No. Pokok Mahasiswa : 2118031012

Program Studi : Farmasi

Fakultas : Kedokteran




Atri Sri Ulandari, M.Farm.
NIP. 199407022023212053


apt. Ramadhan Triyandi, S.Farm.,M.Si.
NIP. 198705202020121015

2. Dekan Fakultas Kedokteran



Dr. dr. Evi Kurnawaty, S.Ked., M.Sc.
NIP. 197601202003122001

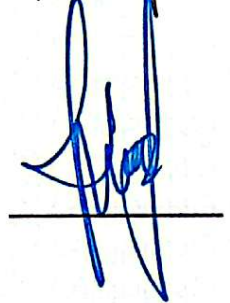
MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

Ketua : Atri Sri Ulandari, M.Farm.



Sekretaris : apt. Ramadhan Triyandi, S.Farm., M.Si.



Penguji

Bukan Pembimbing : Afriyani, S.Farm., M.Farm.



2. Dekan Fakultas Kedokteran



Dr. dr. Evi Kurniawaty, S.Ked., M.Sc.
NIP. 197601202003122001

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 30 April 2025

LEMBAR PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan dengan sebenarnya, bahwa:

1. Skripsi dengan judul **“UJI AKTIVITAS ANTIDIABETES EKSTRAK ETANOL 96% DAUN BILAJANG BULU (*Merremia vitifolia*) SECARA *IN-VITRO* DENGAN UJI PENGHAMBATAN ENZIM ALFA-AMILASE”** adalah hasil karya sendiri dan tidak melakukan penjiplakan atau pengutipan atas karya penulis lain dengan cara tidak sesuai tata etika ilmiah yang berlaku dalam masyarakat akademik atau disebut plagiarisme.
2. Hak intelektual atas karya ilmiah diserahkan sepenuhnya kepada Universitas Lampung

Atas pernyataan ini, apabila di kemungkinan hari ternyata ditemukan adanya ketidakbenaran, saya bersedia menanggung akibat dan sanksi yang diberikan kepada saya.

Bandar Lampung, 30 April 2025



Nova Antika Sintia
NPM. 2118031012

“Allah tidak mengatakan hidup itu mudah. Tetapi Allah berjanji bahwa
sesungguhnya bersama kesulitan ada kemudahan”
(QS. Al Insyirah:5-6)

“Orang lain tidak akan bisa paham *struggle* dan masa sulitnya kita yang mereka
ingin tau hanya bagian *succes stories*nya. Berjuanglah untuk diri sendiri
walaupun tidak ada yang tepuk tangan, kelak kita yang ada dimasa depan yang
akan sangat bangga dengan apa yang telah kita perjuangkan hari ini”

"Katakanlah (Muhammad): "Hai hamba-hamba-Ku yang telah melampaui batas
terhadap diri mereka sendiri, janganlah kamu berputus asa dari rahmat
Allah. Sungguh, Allah mengampuni segala dosa semuanya. Sesungguhnya, Dialah
yang Maha Pengampun lagi Maha Penyayang."
(QS. Az-Zumar:53)

“큰 꿈을 꾸고, 열심히 일하고, 집중력을 유지하고, 좋은 사람들과
함께하세요
(Bermimpilah besar, bekerja keras, tetap fokus, dan kelilingi diri anda dengan
orang-orang baik)”
(Park Chanyeol - EXO)

RIWAYAT HIDUP

Nova Antika Sintia lahir di Kuripan, 10 November 2002. Penulis lahir dari pasangan Bapak Zainudin dan Ibu Megawati, merupakan anak ketiga dari empat bersaudara yaitu Meza Yupitasari, Adi Irawan dan Ratna Eliza. Penulis memulai pendidikan formalnya di TK 1 Kuripan Aji pada tahun 2007. Lalu pada tahun 2009 penulis melanjutkan sekolah dasar di SDN 1 Kuripan Aji. Kemudian penulis melanjutkan pendidikan menengah pertama pada tahun 2015 di SMP Negeri 7 Bandar Lampung. Setelah itu, pada tahun 2018 penulis melanjutkan pendidikan menengah atas di SMA Yayasan Pembina Unila. Pada tahun 2021, penulis diterima sebagai mahasiswa Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.

Selama menjadi mahasiswi, penulis menjalani perkuliahan dengan aktif dan ikut serta dalam beberapa organisasi kemahasiswaan dari tahun 2022-2024. Penulis diberikan kesempatan untuk bergabung dalam organisasi Himpunan Mahasiswa Farmasi (Himafarsi) Universitas Lampung sebagai Sekretaris Departemen Bisnis dan Kerjasama (Bisma). Selain itu, penulis juga mendapatkan kesempatan bergabung dalam organisasi PMPATD PAKIS Rescue Team sebagai Sekertaris Divisi Pencinta Alam

Penulis mengucapkan rasa syukur yang sebesar-besarnya atas terselesaikannya skripsi yang berjudul “Uji Aktivitas Antidiabetes Ekstrak Etanol 96% Daun Bilajang Bulu (*Merremia vitifolia*) Secara *In-Vitro* Dengan Uji Penghambatan Enzim Alfa-Amilase”.

SANWACANA

Puji syukur penulis haturkan kepada Allah SWT karena atas berkat, rahmat dan hidayahnya serta shalawat dan salam tercurahkan kepada Nabi Muhammad SAW sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul **“Uji Aktivitas Antidiabetes Ekstrak Etanol 96% Daun Bilajang Bulu (*Merremia vitifolia*) Secara *In-Vitro* Dengan Uji Penghambatan Enzim Alfa-Amilase”**. Dalam menyelesaikan skripsi ini, penulis mendapatkan banyak bimbingan, masukan, saran, kritik, dukungan dan dorongan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, dengan segala kerendahan hati dari lubuk hati yang paling dalam, penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada:

1. Allah SWT, Yang Maha membolak-balikkan hati, Yang Maha mengetahui, Yang Maha adil dan Yang Maha pengasih dan penyayang.
2. Prof. Dr. Ir. Lusmeilia Afriani, D.E.A.IPM, ASEAN Eng. selaku Rektor Universitas Lampung.
3. Dr. dr. Evi Kurniawaty, S. Ked., M. Sc. selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.
4. dr. Rani Himayani, S. Ked., Sp.M. selaku Kepala Jurusan Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.
5. Atri Sri Ulandari, S. Si., M.Farm. selaku Pembimbing I yang penuh dengan dedikasi telah membimbing penulis dalam proses penyusunan skripsi ini. Terima kasih telah memberikan arahan, masukan, kritik, dukungan, ilmu yang baru, dan bersedia meluangkan waktunya sehingga skripsi ini dapat diselesaikan. Semoga ibu senantiasa diberikan kesehatan, kelancaran dalam berkarir dan kesuksesan dalam setiap langkah.
6. apt. Ramadhan Triyandi, S.Farm., M.Si. selaku Pembimbing II yang penuh dengan dedikasi telah membimbing penulis dalam proses penyusunan skripsi

ini. Terima kasih telah memberikan arahan, masukan, kritik, dukungan, ilmu yang baru, dan bersedia meluangkan waktunya sehingga skripsi ini dapat diselesaikan. Semoga bapak senantiasa diberikan kesehatan, kelancaran dalam berkarir dan kesuksesan dalam setiap langkah.

7. Afriyani, S.Farm., M.Farm. selaku Dosen Penguji. Terima kasih telah bersedia meluangkan waktunya, memberikan arahan, masukan, dan kritik untuk menyempurnakan penulisan skripsi ini. Semoga ibu senantiasa diberikan kesehatan, kelancaran dalam berkarir dan kesuksesan dalam setiap langkah.
8. apt. Dwi Aulia Ramdini, M. Farm. selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah memberikan arahan, motivasi dan bimbingan selama proses studi dari semester satu hingga delapan. Semoga ibu senantiasa diberikan kesehatan, kelancaran dalam berkarir dan kesuksesan dalam setiap langkah.
9. apt. Muhammad Iqbal., S. Farm., M.Sc. Terimakasih karena telah memberikan penulis kesempatan untuk belajar lebih banyak ilmu baru di laboratorium analisis farmasi serta memberikan arahan dan dukungan. Semoga bapak senantiasa diberikan kesehatan, kelancaran dalam berkarir dan kesuksesan dalam setiap langkah.
10. Seluruh dosen Fakultas Kedokteran Universitas Lampung atas bimbingan dan ilmu yang telah disampaikan selama proses perkuliahan.
11. Seluruh staf dan civitas akademik Fakultas Kedokteran Universitas Lampung yang telah membantu proses penyiapan penyusunan skripsi ini.
12. Seluruh staff Laboratorium Kimia Farmasi Analisis Fakultas Kedokteran Universitas Lampung yang telah membantu selama proses penelitian.
13. Kedua Orang Tua tercinta, terkasih dan tersayang Umak Megawati dan Bapak Zainudin yang dengan segala pengorbanan, kerja keras, kasih sayang dan cinta yang tulus serta mengusahakan segalanya untuk anakmu ini. Terimakasih karena telah menjadi salah tempat penulis berbagi keluh kesah serta selalu memberikan dukungan, motivasi, nasihat, dan semangat yang tidak ternilai. Terimakasih juga atas doa hebat yang selalu kalian panjatkan untuk penulis dan semoga umak dan bapak selalu ada dalam setiap episode

kehidupan penulis. Terimakasih karena selalu bangga atas pencapaian kecil anakmu ini.

14. Saudara Kandung saya tersayang Meza Yupitasari, Adi Irawan dan Ratna Eliza yang turut memberikan doa, motivasi dan dukungan yang tidak ternilai serta selalu menjadi tempat untuk berkeluh kesah bagi penulis. Terimakasih karena selalu bersedia untuk direpotkan tanpa mengeluh dalam proses penulisan ini baik tenaga ataupun waktu dan selalu menghibur dengan segala tingkah jahil kalian. Semoga kita tetap saling mendukung selamanya dan saling memotivasi agar dapat melangkah lebih jauh untuk membahagikan serta membanggakan umak dan bapak di setiap episode kehidupan ini.
15. Keluarga pertama di masa perkuliahan “DPA 17 Neuron“. Terimakasih karena telah saling membantu dan kebersamai disaat masa orientasi serta saling memberikan dukungan.
16. Teman-teman “Babu Laprak” yaitu Lani dan Yasmin. Terimakasih telah menjadi teman pertama di bangku perkuliahan yang saling menguatkan, kebersamai serta saling membantu memahami segala jenis laporan praktikum dan atas canda dan tawa yang sangat menyenangkan dan berkesan bagi penulis. Semoga kita sama-sama dilancarkan sampai akhir.
17. Teman-teman “Misi Kelulusan” yaitu Pipit, Bella, Nata, Agaphe, Agnes, Anna, Alifia, Chintia, Ratih dan Dea yang telah menemani penulis dalam menyelesaikan pendidikan di jurusan ini. Terimakasih karena saling menguatkan, kebersamai dalam segala kegiatan dan atas canda dan tawa yang sangat menyenangkan dan berkesan bagi penulis. Semoga kita sama-sama dilancarkan sampai akhir.
18. Teman-teman KKN Masir Dwi Jaya yang telah menjadi keluarga penulis selama 40 hari di tempat yang baru. Terimakasih karena saling menguatkan, kebersamai dalam segala kegiatan, atas canda dan tawa yang sangat menyenangkan seta berkesan bagi penulis dan terimakasih atas segala bentuk pengalaman baru yang luar biasa selama 40 hari tersebut.
19. Teman-teman Divisi Pencinta Alam yang telah menjadi teman petualangan yang luar biasa, mengunjungi berbagai tempat wisata, memberikan pengalaman naik gunung, selain itu menjadi tempat berbagi keluh kesah dan

canda tawa. Terimakasih karena saling menguatkan dan memberikan dukungan. Semoga *next trip* semakin seru dan berkesan.

20. Teman-teman “Anak Lab *Go To* Ketapang”.yaitu Pipit, Nata, Aga, Michelle Jo, Umniyah, Tsania, Ilyas, Oktiva, Ranessa, Mesya, Oktiva. Terimakasih karena telah kebersamai setiap proses penelitian ini serta saling memberikan dukungan dan semangat sampai dimana setiap proses penelitian kita sampai garis *finish* masing-masing.
21. Keluarga besar PMPATD PAKIS *Rescue Team* yang telah kebersamai dalam segala perjuangan dan memberikan semangat dalam menyelesaikan penulisan skripsi ini.
22. Teman-teman angkatan 2021 yang telah kebersamai dalam segala perjuangan dan memberikan semangat dalam menyelesaikan penulisan skripsi ini.
23. Teman-teman yang tidak bisa penulis sebutkan satu persatu. Terimakasih kasih karena selalu ada disaat penulis membutuhkan tempat untuk berbagi keluh kesah, memberikan dukungan, menemani setiap proses dan canda dan tawa yang sangat menyenangkan dan berkesan bagi penulis. Terimakasih karena sudah selalu ada di setiap perjalanan penulis.

Bandar Lampung, 30 April 2025
Penulis



Nova Antika Sintia
NPM. 2118031012

ABSTRACT

ANTIDIABETIC ACTIVITY TEST OF 96% ETHANOL EXTRACT OF BILAJANG BULU LEAVES (*Merremia vitifolia*) IN-VITRO WITH ALPHA-AMYLASE ENZYME INHIBITION TEST

By

Nova Antika Sintia

Background: Indonesia is the only country in Southeast Asia with the highest number of diabetes mellitus sufferers in 2021, ranking fifth with 19.47 million people. People in Luwu Regency, South Sulawesi Province often drink boiled water from bilajang leaves to help heal wounds in diabetes sufferers faster. *Merremia vitifolia* leaves have strong α -glucosidase inhibitory activity, so they have the potential to be antidiabetic.

Methods: This study began with sample preparation and continued with the extraction of bilajang bulu leaves using the Ultrasound-Assisted Extraction method. The resulting extract was tested for secondary metabolite compounds contained, GC-MS, total phenolic content, total flavonoid content, antioxidant activity with the DPPH method and in-vitro antidiabetic activity test of the α -amylase enzyme with the DNSA method (3, 5-dinitrosalicylic acid assay) and Starch-Iodine color assay.

Results: Secondary metabolite compounds contained in the feather hyacinth (*Merremia vitifolia*) are alkaloids, phenolics, flavonoids, saponins, tannins and steroids. The characteristics of the compounds with the GC-MS method contain 21 volatile compounds and based on the highest area percentage are patchouli alcohol, ergosta-14,22-dien-3-ol, (3.beta.,5.alpha.,22E), seychellene, phytol and Azulene,1,2,3,5,6,7,8,8a-octahydro-1,4-dimethyl7(1methylethenyl),[1S(1.alpha., 7.alpha.,8a.beta). The total phenolic content is 66.62 mg GAE/g and the total flavonoid content is 55.85 mg QE/g. Antioxidant activity has an IC_{50} value of 89.552 μ L/mL and ascorbic acid of 0.816 μ L/mL. The antidiabetic activity of the DNSA method (3, 5-dinitrosalicylic acid assay) has an IC_{50} value of 46.18 μ L/mL and an IC_{50} value of acarbose of 19.96 μ L/mL, while the Starch-Iodine color assay method has an IC_{50} value of 28.886 μ L/mL and an IC_{50} value of acarbose of 8,316 μ L/mL. Antioxidant activity with antidiabetic activity of DNSA (3, 5-dinitrosalicylic acid assay) and Starch-Iodine color assay methods have a perfect correlation. There was significant difference between the two methods of testing antidiabetic activity.

Conclusion: Ethanol extract of 96% bilajang bulu leaves (*Merremia vitifolia*) has very strong antidiabetic activity against the inhibition of the α -amylase enzyme using the Starch-Iodine color test method.

Keywords: Total phenolic and flavonoid content, antioxidants, antidiabetic, bilajang bulu leaves, *Merremia vitifolia*

ABSTRAK

UJI AKTIVITAS ANTIDIABETES EKSTRAK ETANOL 96% DAUN BILAJANG BULU (*Merremia vitifolia*) SECARA IN-VITRO DENGAN UJI PENGHAMBATAN ENZIM ALFA-AMILASE

Oleh

Nova Antika Sintia

Latar Belakang: Indonesia merupakan satu-satunya negara di Asia Tenggara dengan jumlah penderita diabetes melitus tertinggi tahun 2021 menjadi posisi kelima dengan 19,47 juta penduduk. Masyarakat di Kabupaten Luwu, Provinsi Sulawesi Selatan air rebusan daun bilajang untuk membantu penyembuhan luka pada penderita diabetes agar lebih cepat. Daun *Merremia vitifolia* memiliki aktivitas penghambatan α -glukosidase yang kuat, sehingga dapat berpotensi sebagai antidiabetes

Metode: Penelitian ini diawali dengan preparasi sampel lalu dilanjutkan dengan ekstraksi daun bilajang bulu menggunakan metode *Ultrasound-Assisted Extraction*. Ekstrak yang dihasilkan diuji senyawa metabolit sekunder yang terkandung, GC-MS, kadar total fenolik, kadar total flavonoid, aktivitas antioksidan dengan metode DPPH dan uji aktivitas antidiabetes secara in-vitro enzim α -amilase dengan metode DNSA (3, 5-dinitrosalicylic acid assay) dan *Starch-Iodine colour assay*.

Hasil: Senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam bilajang bulu (*Merremia vitifolia*) adalah alkaloid, fenolik, flavonoid, saponin, tanin dan steroid. Karakteristik senyawa dengan metode GC-MS mengandung 21 senyawa dan berdasarkan persentase areanya yang tertinggi adalah patchouli alcohol, ergosta-14,22-dien-3-ol, (3.beta.,5.alpha.,22E), seychellene, phytol dan Azulene, 1,2,3,5,6,7,8,8a-octahydro-1,4-dimethyl-7-(1methylethenyl),[1S(1.alpha.,7.alpha., 8a.beta)]. Kadar total fenolik 66,62 mg GAE/g dan kadar total flavonoid 55,85 mg QE/g. Aktivitas antioksidan memiliki nilai IC_{50} sebesar 89,552 μ L/mL dan asam askorbat sebesar 0,816 μ L/mL. Aktivitas antidiabetes metode DNSA (3, 5-dinitrosalicylic acid assay) memiliki nilai IC_{50} 46,18 μ L/mL dan nilai IC_{50} acarbose sebesar 19,96 μ L/mL, sedangkan pada metode *Starch-Iodine colour assay* memiliki nilai IC_{50} 28,886 μ L/mL dan nilai IC_{50} acarbose sebesar 8,315 μ L/mL. Aktivitas antioksidan dengan aktivitas antidiabetes metode DNSA (3, 5-dinitrosalicylic acid assay) dan *Starch-Iodine colour assay* memiliki korelasi yang sempurna. Kedua metode pengujian aktivitas antidiabetes terdapat perbedaan yang signifikan.

Simpulan: Ekstrak etanol 96% daun bilajang bulu (*Merremia vitifolia*) memiliki aktivitas antidiabetes yang sangat kuat terhadap penghambatan enzim α -amilase dengan metode *Starch-Iodine colour assay*.

Kata Kunci: Kadar total Fenolik dan flavonoid, antioksidan, antidiabetes, daun bilajang bulu, *Merremia vitifolia*

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR ISI	i
DAFTAR TABEL	iv
DAFTAR GAMBAR	vi
DAFTAR LAMPIRAN	viii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.3.1 Tujuan Umum	4
1.3.2 Tujuan Khusus	4
1.4 Manfaat Penelitian	5
1.4.1 Bagi Peneliti	5
1.4.2 Bagi Peneliti Lain	5
1.4.3 Bagi Institut Terkait	5
1.4.4 Bagi Masyarakat	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1 Bilajang Bulu	7
2.2 Senyawa Metabolit Sekunder	9
2.2.1 Definisi	9
2.2.2 Senyawa Fenol	10
2.2.3 Senyawa Flavonoid	12
2.3 <i>Gas Chromatography Mass Spectrometry</i> (GC-MS)	14
2.4 Spektrofotometer Uv-Vis	16
2.5 Ekstraksi	18
2.5.1 Definisi	18
2.5.2 <i>Ultrasound-Assisted Extraction</i>	19
2.6 Antioksidan	21
2.6.1 Definisi	21
2.6.2 DPPH (2,2 <i>diphenyl-1-picrylhydrazyl</i> atau α,α - <i>diphenyl-β-picrylhydrazyl</i>)	22

2.7	Diabetes Mellitus	24
2.7.1	Definisi Diabetes Mellitus.....	24
2.7.2	Klasifikasi Diabetes Mellitus	25
2.8	Penghambatan Aktivitas Antidiabetes Secara <i>In-Vitro</i>	27
2.8.1	Enzim α -glukosidase	27
2.8.2	RIN-5F <i>Cell Lines</i>	29
2.8.3	Enzim α -amilase.....	29
2.9	Acarbose	32
2.10	Kerangka Teori.....	33
2.11	Kerangka Konsep	34
BAB III METODE PENELITIAN		35
3.1.	Desain Penelitian	35
3.2.	Tempat dan Waktu Penelitian.....	35
3.2.1.	Tempat Penelitian	35
3.2.2.	Waktu Penelitian	36
3.3.	Identitas Variabel Penelitian.....	36
3.3.1.	Variabel Bebas	36
3.3.2.	Variabel Terikat	36
3.4.	Definisi Operasional	37
3.5.	Alat dan Bahan Penelitian.....	38
3.5.1.	Alat Penelitian	38
3.5.2.	Bahan Penelitian.....	38
3.6.	Prosedur Penelitian	39
3.6.1.	Determinasi Tanaman Bilajang Bulu	39
3.6.2.	Preparasi Sampel Daun Bilajang Bulu	39
3.6.3.	Pembuatan Ekstrak.....	40
3.6.4.	Perhitungan Rendemen Ekstrak	40
3.6.5.	Uji Fitokimia Ekstrak Daun Bilajang Bulu	41
3.6.6.	GC-MS Ekstrak Etanol 96% Bilajang Bulu	42
3.6.7.	Pengukuran Fenolik Total Ekstrak Etanol 96% Bilajang Bulu	43
3.6.8.	Pengukuran Flavonoid Total Ekstrak Etanol 96% Bilajang Bulu	44
3.6.9.	Uji Antioksidan Ekstrak Etanol 96% Bilajang Bulu	45
3.6.10.	Uji Aktivitas Antidiabetes Ekstrak Etanol 96% Bilajang Bulu	47
3.7	Alur Penelitian	57
3.8	Analisis Data	58

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	59
4.1. Hasil	59
4.1.1 Determinasi Tanaman.....	59
4.1.2 Ekstraksi Daun Bilajang Bulu	59
4.1.3 Uji Fitokimia Ekstrak Etanol 96% Daun Bilajang Bulu	60
4.1.4 GC-MS Ekstrak Etanol 96% Daun Bilajang Bulu	61
4.1.5 Kadar Fenolik Total Daun Bilajang Bulu.....	63
4.1.6 Kadar Flavonoid Total Daun Bilajang Bulu.....	64
4.1.7 Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol 96% Daun Bilajang Bulu ..	65
4.1.8 Uji Aktivitas Antidiabetes Ekstrak Etanol 96% Daun Bilajang Bulu ..	67
4.1.9 Hubungan Aktivitas Antioksidan dan Aktivitas Antidiabetes Ekstrak Etanol 96% Daun Bilajang Bulu	72
4.1.10 Perbandingan Metode Pengujian Aktivitas Antidiabetes Ekstrak Etanol 96% Daun Bilajang Bulu.....	72
4.2. Pembahasan.....	73
4.2.1 Ekstraksi Daun Bilajang Bulu	73
4.2.2 Uji Fitokimia Ekstrak Etanol 96% Daun Bilajang Bulu	74
4.2.3 GC-MS Ekstrak Etanol 96% Daun Bilajang Bulu	79
4.2.4 Kadar Fenolik Total Daun Bilajang Bulu.....	81
4.2.5 Kadar Flavonoid Total Daun Bilajang Bulu.....	83
4.2.6 Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol 96% Daun Bilajang Bulu ..	85
4.2.7 Uji Aktivitas Antidiabetes Ekstrak Etanol 96% Daun Bilajang Bulu ..	87
4.2.8 Hubungan Aktivitas Antioksidan dan Aktivitas Antidiabetes Ekstrak Etanol 96% Daun Bilajang Bulu	89
4.2.9 Perbandingan Metode Pengujian Aktivitas Antidiabetes Ekstrak Etanol 96% Daun Bilajang Bulu.....	93
BAB V SIMPULAN DAN SARAN	96
5.1 Simpulan	96
5.2 Saran	97
DAFTAR PUSTAKA.....	98
LAMPIRAN.....	116

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
Tabel 1. Klasifikasi nilai IC ₅₀ Antioksidan.....	22
Tabel 2. Klasifikasi nilai IC ₅₀ terhadap enzim α -amilase	30
Tabel 3. Definisi Operasional	37
Tabel 4. Hasil Ekstraksi Etanol 96% Daun Bilajang Bulu	60
Tabel 5. Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Etanol 96% Daun Bilajang Bulu	60
Tabel 6. Hasil Analisis Senyawa Pada Ekstrak Etanol 96% Daun Bilajang Bulu dengan Instrumen GC-MS	62
Tabel 7. Hasil Pengukuran Kadar Total Fenolik Ekstrak Etanol 96% Daun Bilajang Bulu	64
Tabel 8. Hasil Pengukuran Kadar Total Flavonoid Ekstrak Etanol 96% Daun Bilajang	65
Tabel 9. Nilai IC ₅₀ asam askorbat.....	66
Tabel 10. Nilai IC ₅₀ Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol 96% Daun Bilajang Bulu (<i>Merremia vitifolia</i>)	66
Tabel 11. Hubungan Kadar Fenolik Total, Kadar Flavonoid Total dan Aktivitas Antioksidan.....	67
Tabel 12. Nilai IC ₅₀ <i>Acarbose</i> metode DNSA (3,5 <i>dinitrosalicylic acid assay</i>)....	68
Tabel 13. Nilai IC ₅₀ Ekstrak Etanol 96% Daun Bilajang Bulu metode DNSA (3, 5- <i>dinitrosalicylic acid assay</i>)	69
Tabel 14. Nilai IC ₅₀ <i>acarbose</i> metode <i>Starch-Iodine colour assay</i>	70
Tabel 15. Nilai IC ₅₀ ekstrak etanol 96% daun bilajang bulu (<i>Merremia vitifolia</i>) metode <i>Starch-Iodine colour assay</i>	70
Tabel 16. Hasil uji normalitas penghambatan aktivitas antidiabetes ekstrak etanol 96% daun bilajang bulu (<i>Merremia vitifolia</i>) terhadap enzim α -amilase	71
Tabel 17. Hasil uji homogenitas penghambatan aktivitas antidiabetes ekstrak etanol 96% daun bilajang bulu (<i>Merremia vitifolia</i>) terhadap enzim α - amilase	71
Tabel 18. Hasil uji <i>mann whitney</i> penghambatan aktivitas antidiabetes ekstrak etanol 96% daun bilajang bulu (<i>Merremia vitifolia</i>) terhadap enzim α - amilase	71
Tabel 19. Hubungan Aktivitas Antioksidan dan Aktivitas Antidiabetes.....	72
Tabel 20. Perbandingan Metode Pengujian Aktivitas Antidiabetes.....	72

Tabel 21. Pedoman kategori hubungan uji korelasi berdasarkan nilai <i>Pearson</i> <i>Correlations</i>	89
---	----

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
Gambar 1. Bilajang bulu atau akar bulu (<i>Merremia vitifolia</i>)	8
Gambar 2. Reaksi senyawa fenolik dengan reagen <i>Folin-Ciocalteu</i>	11
Gambar 3. Reaksi pembentukan kompleks $AlCl_3$ dan flavonoid	13
Gambar 4. Representasi skema instrumen GC-MS	15
Gambar 5. Skema spektrofotometer uv-vis (<i>double-beam</i>).....	17
Gambar 6. Representasi teknik <i>Ultrasound-Assisted Extraction</i>	19
Gambar 7. Struktur molekul etanol	21
Gambar 8. Reaksi radikal bebas DPPH dan antioksidan.....	23
Gambar 9. Mekanisme α -glucosidase memecah disakarida.....	28
Gambar 10. Reaksi enzimatis pNPG (<i>p</i> -nitrofenil- α -D-glukopiranoside) dengan α -glucosidase.	28
Gambar 11. Mekanisme pemecahan ikatan gula oleh enzim α -amilase	30
Gambar 12. Reaksi DNS dan Gula pereduksi	32
Gambar 13. Struktur kimia acarbose.	32
Gambar 14. Kerangka Teori.....	33
Gambar 15. Kerangka Konsep.....	34
Gambar 16. Alur Penelitian.	57
Gambar 17. Hasil Spektrum Ekstrak Etanol 96% Daun Bilajang Bulu (<i>Merremia vitifolia</i>).....	61
Gambar 18. Kurva Persamaan Regresi Linier Asam Galat	63
Gambar 19. Kurva Persamaan Regresi Linier Kuersetin	64
Gambar 20. Kurva Aktivitas Antioksidan asam askorbat.....	65
Gambar 21. Kurva Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol 96% Daun Bilajang Bulu (<i>Merremia vitifolia</i>).....	66
Gambar 22. Kurva Aktivitas Antidiabetes Acarbose metode DNSA (3, 5- <i>dinitrosalicylic acid assay</i>).	68
Gambar 23. Kurva Aktivitas Antidiabetes Ekstrak Etanol 96% Daun Bilajang Bulu metode DNSA (3, 5- <i>dinitrosalicylic acid assay</i>)	68
Gambar 24. Kurva Aktivitas Antidiabetes <i>Acarbose</i> metode <i>Starch-Iodine colour assay</i>	69
Gambar 25. Kurva Aktivitas Antidiabetes Ekstrak Etanol 96% Daun Bilajang Bulu metode <i>Starch-Iodine colour assay</i>	70
Gambar 26. Reaksi Uji Wagner	75
Gambar 27. Reaksi Fenol dengan $FeCl_3$	76

Gambar 28. Reaksi hidrolisis saponin dalam air	77
Gambar 29. Reaksi tanin dan ferri klorida	78
Gambar 30. Reaksi steroid dengan <i>Liebermann-Burchard</i>	79
Gambar 31. Pembentukan ROS di dalam sel	91
Gambar 32. ROS, stres oksidatif dan hubungannya dengan diabetes serta komplikasinya	93

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
Lampiran 1. Surat Persetujuan Etik (<i>Ethical Approval</i>).....	117
Lampiran 2. Surat Hasil Determinasi Tanaman Bilajang Bulu (<i>Merremia vitifolia</i>)	118
Lampiran 3. Proses Ekstraksi Daun Bilajang Bulu (<i>Merremia vitifolia</i>)	120
Lampiran 4. Perhitungan Rendemen Ekstrak.....	121
Lampiran 5. Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol 96% Daun Bilajang Bulu (<i>Merremia vitifolia</i>)	122
Lampiran 6. Hasil Pengujian <i>Gas Chromatography Mass Spectrometry</i> (GC-MS) Ekstrak Etanol 96% Daun Bilajang Bulu (<i>Merremia vitifolia</i>)	123
Lampiran 7. Hasil Pengujian <i>Gas Chromatography Mass Spectrometry</i> (GC-MS) Ekstrak Etanol 96% Daun Bilajang Bulu (<i>Merremia vitifolia</i>) persentase area tertinggi	124
Lampiran 8. Pengujian Kadar Total Fenolik	125
Lampiran 9. <i>Certificate of Analysis</i> Asam Galat.....	126
Lampiran 10. <i>Certificate of Analysis</i> Follin Ciocalteu	127
Lampiran 11. Hasil Pengukuran Panjang Gelombang Asam Galat.....	128
Lampiran 12. Hasil Pengukuran Kurva Standar Asam Galat.....	129
Lampiran 13. Hasil Pembacaan Absorbansi Larutan Sampel Ekstrak Etanol 96% Daun Bilajang Bulu (<i>Merremia vitifolia</i>)	130
Lampiran 14. Hasil Perhitungan Kadar Total Fenolik Ekstrak Etanol 96% Daun Bilajang Bulu (<i>Merremia vitifolia</i>).....	131
Lampiran 15. Pengujian Kadar Total Flavonoid	132
Lampiran 16. <i>Certificate of Analysis</i> Quercetine	133
Lampiran 17. Hasil Pengukuran Panjang Gelombang Kuersetin.....	134
Lampiran 18. Hasil Pengukuran Kurva Standar Kuersetin	135
Lampiran 19. Hasil Pembacaan Absorbansi Larutan Sampel Ekstrak Etanol 96% Daun Bilajang Bulu (<i>Merremia vitifolia</i>)	136
Lampiran 20. Hasil Perhitungan Kadar Total Flavonoid Ekstrak Etanol 96% Daun Bilajang Bulu (<i>Merremia vitifolia</i>)	137
Lampiran 21. Pengujian Aktivitas Antioksidan.....	138
Lampiran 22. <i>Certificate of Analysis</i> DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) ..	139
Lampiran 23. <i>Certificate of Analysis</i> Asam Askorbat	140

Lampiran 24. Hasil Pengukuran Panjang Gelombang DPPH	141
Lampiran 25. Hasil Pembacaan Absorbansi Asam Askorbat	142
Lampiran 26. Hasil Perhitungan % inhibisi dan Nilai IC ₅₀ Asam Askorbat.....	145
Lampiran 27. Hasil Pembacaan Absorbansi Ekstrak Etanol 96% Daun Bilajang Bulu (<i>Merremia vitifolia</i>)	146
Lampiran 28. Hasil Perhitungan % inhibisi dan Nilai IC ₅₀ Ekstrak Etanol 96% Daun Bilajang Bulu (<i>Merremia vitifolia</i>)	149
Lampiran 29. Pengujian Aktivitas Antidiabetes	150
Lampiran 30. <i>Certificate of Analysis</i> Enzim α -amilase.....	151
Lampiran 31. <i>Certificate of Analysis</i> DMSO	152
Lampiran 32. <i>Certificate of Analysis</i> Buffer Fosfat pH 7	153
Lampiran 33. <i>Certificate of Analysis</i> DNS (3,5-Dinitrosalicylic acid).....	155
Lampiran 34. Pengujian Aktivitas Antidiabetes Metode DNSA (3, 5- <i>dinitrosalicylic acid assay</i>).....	156
Lampiran 35. Pengujian Efek Penghambatan Larutan Blanko Metode DNSA (3, 5- <i>dinitrosalicylic acid assay</i>).....	157
Lampiran 36. Pengujian Efek Penghambatan Larutan Blanko Kontrol Metode DNSA (3, 5- <i>dinitrosalicylic acid assay</i>).....	158
Lampiran 37. Pengukuran Efek Penghambatan <i>Acarbose</i> Metode DNSA (3, 5- <i>dinitrosalicylic acid assay</i>).....	159
Lampiran 38. Pengujian Efek Penghambatan <i>Acarbose</i> Kontrol Metode DNSA (3, 5- <i>dinitrosalicylic acid assay</i>)	162
Lampiran 39. Hasil Perhitungan % inhibisi dan Nilai IC ₅₀ <i>Acarbose</i> metode DNSA (3, 5- <i>dinitrosalicylic acid assay</i>).....	165
Lampiran 40. Pengukuran Efek Penghambatan Ekstrak Etanol 96% Daun Bilajang Bulu (<i>Merremia vitifolia</i>) Metode DNSA (3, 5- <i>dinitrosalicylic acid assay</i>).....	167
Lampiran 41. Pengukuran Efek Penghambatan Ekstrak Etanol 96% Daun Bilajang Bulu (<i>Merremia vitifolia</i>) Kontrol Metode DNSA (3, 5- <i>dinitrosalicylic acid assay</i>).....	170
Lampiran 42. Hasil Perhitungan % inhibisi dan Nilai IC ₅₀ Ekstrak Etanol 96% Daun Bilajang Bulu (<i>Merremia vitifolia</i>) metode DNSA (3, 5- <i>dinitrosalicylic acid assay</i>).....	173
Lampiran 43. Pengujian Aktivitas Antidiabetes Metode <i>Starch-Iodine colour</i> <i>assay</i>	175
Lampiran 44. Pengujian Panjang Gelombang Enzim α -amilase Metode <i>Starch-</i> <i>Iodine colour assay</i>	176
Lampiran 45. Pengujian Efek Penghambatan Larutan Blanko Metode <i>Starch-</i> <i>Iodine colour assay</i>	177
Lampiran 46. Pengujian Efek Penghambatan Larutan Blanko Kontrol Metode <i>Starch-Iodine colour assay</i>	178
Lampiran 47. Pengukuran Efek Penghambatan <i>Acarbose</i> Kontrol Metode <i>Starch-</i> <i>Iodine colour assay</i>	179
Lampiran 48. Pengukuran Efek Penghambatan <i>Acarbose</i> Metode <i>Starch-Iodine</i> <i>colour assay</i> Pengulangan 1	182

Lampiran 49. Hasil Perhitungan % inhibisi dan Nilai IC ₅₀ <i>Acarbose</i> metode <i>Starch-Iodine colour assay</i>	185
Lampiran 50. Pengukuran Efek Penghambatan Ekstrak Etanol 96% Daun Bilajang Bulu (<i>Merremia vitifolia</i>) Metode <i>Starch-Iodine colour assay</i>	187
Lampiran 51. Pengukuran Efek Penghambatan Ekstrak Etanol 96% Daun Bilajang Bulu (<i>Merremia vitifolia</i>) Kontrol <i>Starch-Iodine colour assay</i>	190
Lampiran 52. Hasil Perhitungan % inhibisis dan Nilai IC ₅₀ Ekstrak Etanol 96% Daun Bilajang Bulu (<i>Merremia vitifolia</i>) metode <i>Starch-Iodine colour assay</i>	193
Lampiran 53. Hasil Analisis Korelasi Kadar Fenolik Total, Kadar Flavonoid Total dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol 96% Daun Bilajang Bulu (<i>Merremia vitifolia</i>)	195
Lampiran 54. Hasil Analisis Korelasi Aktivitas Antioksidan dan Aktivitas Antidiabetes Ekstrak Etanol 96% Daun Bilajang Bulu (<i>Merremia vitifolia</i>)	196
Lampiran 55. Hasil Analisis Data Aktivitas Antidiabetes Ekstrak Etanol 96% Daun Bilajang Bulu (<i>Merremia vitifolia</i>)	197
Lampiran 56. Hasil Analisis <i>Paired Samples T-Test</i> Aktivitas Antidiabetes Ekstrak Etanol 96% Daun Bilajang Bulu (<i>Merremia vitifolia</i>) ...	201

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Salah satu masalah kesehatan terbesar pada era *modern* dan ancaman serius bagi kesehatan dunia adalah diabetes melitus. Meskipun bukan termasuk penyakit menular, diabetes melitus merupakan salah satu penyebab kematian tertinggi di dunia (Yarnita *et al.*, 2023). Menurut *International Diabetes Federation* (IDF) diperkirakan 463 orang berusia antara 20-79 tahun menderita diabetes secara global pada tahun 2019 dan terjadi peningkatan menjadi 536,6 atau (10,5%) juta penduduk pada tahun 2021. Namun yang mengkhawatirkan saat ini adalah penderita diabetes yang tidak terdeteksi diperkirakan 50,1%, yang sering disebut dengan situasi *silent killer* (*International Diabetes Federation*, 2021).

Indonesia merupakan satu-satunya negara di Asia Tenggara dengan jumlah penderita diabetes melitus tertinggi pada tahun 2019 dan dalam daftar 10 negara teratas di dunia dengan 10,7 juta penderita diabetes (Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 2020). Selanjutnya, Indonesia mengalami kenaikan pada tahun 2021 menjadi posisi kelima dengan 19,47 juta penduduk menderita diabetes atau 10,6% penduduk Indonesia menderita diabetes (*International Diabetes Federation*, 2021). Bandar Lampung menempati urutan pertama penderita diabetes melitus di Provinsi Lampung dengan jumlah penderita sebanyak 18,643 juta penduduk (Dinas Kesehatan, 2024).

Penyebab utama diabetes mellitus yaitu pankreas yang tidak berfungsi dengan baik atau tidak efektif yang bermanifestasi sebagai tinggi kadar glukosa darah (*hiperglikemia*) yang menyebabkan berkurangnya reseptor insulin (Purwati, 2022). Peningkatan konsentrasi glukosa darah dapat disebabkan oleh gangguan aktivitas atau sintesis insulin, sehingga dapat mempengaruhi metabolisme gula (Nurul *et al.*, 2017). Konsumsi karbohidrat berkaitan erat dengan diabetes melitus karena karbohidrat meningkatkan kadar glukosa darah selama proses pencernaan. Karbohidrat terutama pati merupakan penyebab utama diabetes melitus karena tubuh menggunakannya untuk menghasilkan glukosa dalam saluran pencernaan (Purwati, 2022). Menghambat enzim α -amilase yang berfungsi menghidrolisis karbohidrat merupakan salah satu metode untuk menurunkan kadar gula darah yang tinggi dengan cara memecah molekul polisakarida besar seperti glukosa, maltosa dan dekstrin menjadi molekul yang lebih kecil yang dapat diserap oleh tubuh dengan memperpanjang waktu yang dibutuhkan dalam mencerna karbohidrat untuk mencegah kenaikan kadar glukosa plasma setelah makan, apabila suatu penghambat mencegah kerja enzim α -amilase, maka polisakarida tidak dapat dipecah menjadi molekul disakarida dan monosakarida (Mames *et al.*, 2022).

Pada penderita diabetes melitus dapat dilakukan juga penambahan terapi antioksidan dan pengendalian glukosa yang optimal karena proses oksidasi glukosa menghasilkan lebih banyak radikal bebas daripada yang dapat dinetralkan oleh antioksidan intraseluler yang dapat merusak sel, sehingga pemberian antioksidan bertujuan untuk mencegah stres oksidatif, masalah pembuluh darah yang terkait dengan diabetes dengan meningkatkan kapasitas enzim pertahanan terhadap radikal bebas atau menghambat pembentukan radikal bebas intraseluler dan mencegah terjadinya komplikasi makrovaskular dan mikrovaskular (Prawitasari, 2019).

Tumbuhan liar yang biasa tumbuh di tepi jalan, semak belukar, atau bahkan gulma perkebunan telah banyak dimanfaatkan masyarakat sebagai obat tradisional untuk mengobati berbagai jenis penyakit. Salah satunya yaitu

bilajang bulu atau biasa dikenal masyarakat dengan akar bulu. Pada masyarakat China bilajang bulu dimanfaatkan sebagai obat untuk infeksi kandung kemih dan sakit perut (Huang, 1999). Selain itu, tumbuhan bilajang bulu tersebar juga di Indonesia yang terdapat di beberapa provinsi seperti Sumatera, Sulawesi, Kalimantan, Jawa dan Nusa Tenggara kemudian telah dimanfaatkan juga oleh masyarakat sebagai obat herbal atau obat tradisional. Masyarakat di Kabupaten Luwu, Provinsi Sulawesi Selatan sering sekali meminum ramuan herbal seperti air rebusan daun bilajang yang dipercaya mampu menurunkan kadar gula dalam darah. Selain itu, daun bilajang juga bermanfaat untuk membantu penyembuhan luka pada penderita diabetes agar lebih cepat (Hasanah *et al.*, 2019). Selain itu masyarakat Mamuju, Sulawesi Barat juga memiliki kepercayaan bahwa bilajang bulu memiliki kemampuan untuk mengobati penyakit malaria (Sukarti, 2016). Berdasarkan penelitian sebelumnya aktivitas antidiabetes dapat ditemukan pada tumbuhan tradisional yang mengandung senyawa metabolit sekunder golongan fenolik, flavonoid, alkaloid dan steroid (Ebrahimi *et al.*, 2017). Pada tumbuhan bilajang bulu terdapat kandungan senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, fenolik dan steroid (Sukarti, 2016) dan menurut Fatmawati *et al* (2021), terdapat juga senyawa metabolit sekunder seperti tanin dan saponin. Berdasarkan penelitian Tahya dan Karnelasatri (2021), pada ekstrak n-heksan daun *Merremia vitifolia* memiliki aktivitas penghambatan α -glukosidase yang kuat, sehingga dapat berpotensi sebagai antidiabetes.

Berdasarkan uraian latar belakang di atas, peneliti tertarik untuk melakukan penelitian terkait aktivitas antidiabetes yang lebih berfokus pada inhibitor enzim α -amilase ekstrak etanol 96% daun bilajang bulu (*Merremia vitifolia*).

1.2 Rumusan Masalah

- a. Apa saja kandungan metabolit sekunder dan karakterisasi senyawa dari ekstrak etanol 96% daun bilajang bulu (*Merremia vitifolia*)?

- b. Berapa kadar total fenolik dan kadar total flavonoid pada ekstrak etanol 96% daun bilajang bulu (*Merremia vitifolia*) menggunakan metode spektrofotometer Uv-Vis?
- c. Berapa aktivitas penghambatan (IC_{50}) ekstrak etanol 96% daun bilajang bulu (*Merremia vitifolia*) terhadap DPPH?
- d. Berapa aktivitas penghambatan (IC_{50}) ekstrak etanol 96% daun bilajang bulu (*Merremia vitifolia*) terhadap enzim α -amilase?
- e. Bagaimana hubungan aktivitas antioksidan dan aktivitas antidiabetes ekstrak etanol 96% daun bilajang bulu (*Merremia vitifolia*)?
- f. Apakah ada perbedaan signifikan pada uji antidiabetes antara metode DNSA (3, 5-dinitrosalicylic acid assay) dan *Starch-Iodine colour assay*?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Adapun tujuan umum penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antidiabetes ekstrak etanol 96% daun bilajang bulu (*Merremia vitifolia*) secara *in-vitro* dengan uji penghambatan enzim α -amilase.

1.3.2 Tujuan Khusus

- a. Mengetahui kandungan metabolit sekunder dan karakterisasi senyawa dari ekstrak etanol 96% daun bilajang bulu (*Merremia vitifolia*).
- b. Mengetahui kadar total fenolik dan kadar total flavonoid pada ekstrak etanol 96% daun bilajang bulu (*Merremia vitifolia*) menggunakan metode spektrofotometer Uv-Vis.
- c. Mengetahui aktivitas penghambatan (IC_{50}) ekstrak etanol 96% daun bilajang bulu (*Merremia vitifolia*) terhadap DPPH dengan ekstraksi menggunakan metode *Ultrasound-Assisted Extraction*.
- d. Mengetahui aktivitas penghambatan (IC_{50}) ekstrak etanol 96% daun bilajang bulu (*Merremia vitifolia*) terhadap enzim α -amilase dengan ekstraksi menggunakan metode *Ultrasound-Assisted Extraction*.

- e. Mengetahui hubungan aktivitas antioksidan dan aktivitas antidiabetes ekstrak etanol 96% daun bilajang bulu (*Merremia vitifolia*).
- f. Mengetahui perbedaan signifikan pada uji antidiabetes antara metode DNSA (3, 5-dinitrosalicylic acid assay) dan *Starch-Iodine colour assay*.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Bagi Peneliti

Diharapkan hasil penelitian ini dapat meningkatkan pengetahuan, wawasan, serta pengembangan kemampuan ilmiah khususnya yang berkaitan dengan aktivitas penghambatan enzim α -amilase ekstrak etanol 96% daun bilajang bulu (*Merremia vitifolia*).

1.4.2 Bagi Peneliti Lain

Diharapkan hasil penelitian ini dapat memberikan informasi dan menjadi referensi atau pedoman dasar untuk penelitian lanjutan mengenai aktivitas antidiabetes ekstrak etanol 96% daun bilajang bulu (*Merremia vitifolia*).

1.4.3 Bagi Institut Terkait

Diharapkan hasil penelitian mampu menjadi perwujudan visi dan misi FK Unila dibidang penelitian dengan kekhususan *agromedicine*. Selain itu digunakan sebagai referensi dan inovasi yang lebih dalam pemanfaatan bahan alam sebagai tindakan farmakologi sehingga menambah pengetahuan serta pemahaman untuk mahasiswa kedepannya.

1.4.4 Bagi Masyarakat

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi bagi masyarakat untuk dapat memanfaatkan bahan alam, sebagai salah

satu obat yang dapat digunakan untuk peningkatan kesehatan masyarakat terutama tanaman bilajang bulu (*Merremia vitifolia*).

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Bilajang Bulu

2.1.1 Taksonomi

Berdasarkan taksonomi yang dimilikinya, bilajang bulu atau akar bulu (*Merremia vitifolia*) diklasifikasikan sebagai berikut (Yuliana & Mucharommah, 2020):

Kingdom : Plantae
Divisi : Magnoliophyta
Kelas : Magnoliopsida
Ordo : Solanales
Famili : Convolvulaceae
Genus : *Merremia*
Spesies : *Merremia vitifolia* (Burm f.) Hallier f.

2.1.2 Morfologi

Tanaman bilajang bulu atau akar bulu (*Merremia vitifolia*) mempunyai daun bagian ujung yang runcing, tangkai daun, pangkal daun membulat dengan lebar 5-15 cm, daun bagian tepi bergerigi, tulang daun yang menyirip, daun berwarna hijau, permukaan daun kasar dan daun muda memiliki warna coklat kemerahan. Daun mempunyai lima lobus atau bentuknya menjari dan memiliki bulu halus, batangnya bulat kecil dan memiliki bulu halus, akar serabut, tidak memiliki pelindung di bagian kuncup, bunga berwarna kuning dan bentuknya seperti terompet (Fatmawati *et al*, 2021). Tanaman bilajang bulu atau akar bulu

(*Merremia vitifolia*) biasanya tumbuh di belukar, sawah yang kurang produktif, dan pinggir sungai termasuk tanaman semusim dan tumbuh merambat dan melilit sepanjang 2-5 meter, memiliki mahkota bunga berbentuk lonceng dengan diameter 10-15 cm dan biji berwarna coklat tua dengan diameter 5 milimeter (Yuliana & Mucharommah, 2020).



Gambar 1. Bilajang bulu atau akar bulu (*Merremia vitifolia*) (Yuliana & Mucharommah, 2020)

2.1.3 Kandungan Senyawa Kimia dan Bioaktivitas Daun Bilajang Bulu (*Merremia vitifolia*)

Tanaman daun bilajang bulu atau akar bulu (*Merremia vitifolia*) mengandung beberapa metabolit sekunder seperti flavonoid, fenolik, tanin dan saponin (Fatmawati *et al*, 2021).

Berdasarkan penelitian sebelumnya daun bilajang bulu atau akar bulu (*Merremia vitifolia*) mempunyai beberapa sifat farmakologis sebagai berikut: aktivitas penghambatan α -glukosidase yang kuat dan dapat menjadi target potensial yang baik untuk pengembangan obat antidiabetik (Tahya & Karnelasatri, 2021). Daun bilajang bulu memiliki sifat antibakteri yang dapat memberikan daya hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* konsentrasi 20% yaitu dengan rata-rata zona bening 9,5 mm yang termasuk kategori sedang pada ekstrak etanol 96% (Hasanah *et al*, 2020). Tumbuhan bilajang bulu memiliki kemampuan reduktif yang lebih tinggi $1,113 \pm 0,010$ dibandingkan dengan kontrol positif asam askorbat yang menunjukkan $2,189 \pm 0,020$ pada konsentrasi 500 $\mu\text{g/mL}$ yang mana uji daya reduksi merupakan

indikator potensi suatu senyawa antioksidan. Tumbuhan bilajang bulu juga memiliki aktivitas trombolitik yang menunjukkan $42,48 \pm 1,44\%$ lisis bekuan darah, sedangkan kontrol positif (streptokinase) menunjukkan $72,16 \pm 1,85\%$ lisis bekuan darah (Akter *et al.*, 2021). Tumbuhan bilajang bulu dapat memberikan aktivitas antidiare pada mencit dengan metode pemberian minyak jarak peroral yang menunjukkan penghambatan spesifik yang signifikan pada feses diare sebesar $73,47\%$ dibandingkan obat standar loperamide yang menghasilkan $82,17\%$ penghambatan pada feses diare dengan dosis yang diuji sebesar 400 mg/kg , selain itu juga memiliki aktivitas antinospesitif yang dilakukan dengan 2 metode pengujian yaitu metode menggeliat yang diinduksi asam asetat pada tikus albino swiss menunjukkan dosis uji (200 dan 400 mg/kg , po) diikuti oleh natrium diklofenak (10 mg/kg , ip) secara signifikan ($P < 0,001$) mengurangi kejadian puntiran dan pembalikan perut ($21,67 \pm 1,23$ dan $14,83 \pm 1,25$) dan ($11,83 \pm 1,08$) dibandingkan dengan kelompok kontrol dan metode uji menjilati kaki bifasik yang diinduksi formalin pada tikus albino swiss pada fase uji awal maupun fase akhir pada dosis 400 (mg/kg, po) menunjukkan efek antinospesitif yang signifikan ($P < 0,001$) dan tergantung dosis ($26,5 \pm 1,20$ dan $20,33 \pm 1,20$) dibandingkan dengan kontrol (Azad *et al.*, 2024).

2.2 Senyawa Metabolit Sekunder

2.2.1 Definisi

Senyawa metabolit merupakan senyawa yang dihasilkan tumbuhan yang digunakan sebagai pertahanan di lingkungan sekitar dan organisme lainnya melalui penginduksian bunga, buah dan daun rontok, sehingga tumbuhan dapat mempertahankan pertumbuhan tanaman. Beberapa manfaat metabolit sekunder yang terdapat pada tumbuhan yaitu sebagai pertahanan dari hewan pemakanan tumbuhan dan hewan-hewan penyebar biji, melindungi dari tumbuhnya jamur dan bakteri,

tempat penyimpanan nutrisi, dan melindungi dari sinar ultraviolet (Divekar *et al.*, 2022).

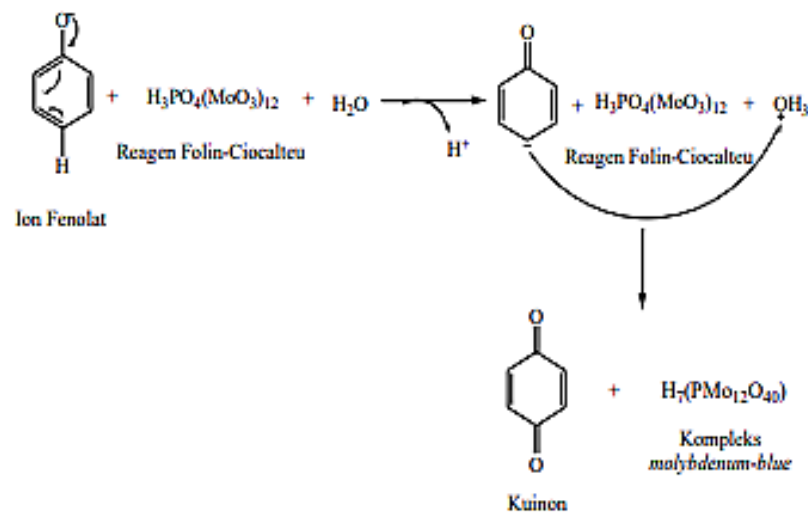
Metabolit sekunder adalah senyawa yang terdapat dalam tumbuhan namun keberadaannya jarang diketahui masyarakat, tetapi sangat bermanfaat sebagai sumber obat. Senyawa metabolit pada tumbuhan berbentuk molekul-molekul kecil spesifik dan mempunyai struktur bervariasi, serta setiap jenisnya mempunyai fungsi dan peran yang berbeda (Khafid *et al.*, 2023). Kandungan senyawa metabolit pada setiap tumbuhan memiliki aktivitas farmakologi sebagai tumbuhan obat herbal, yang mana dapat diklasifikasikan menjadi alkaloid, tanin, polifenolat, monoterpenoid dan sesquiterpenoid, senyawa kuinon, glikosida, flavonoid, triterpenoid dan steroid, serta saponin (Fikayuniar *et al.*, 2024).

2.2.2 Senyawa Fenol

Senyawa fenolik adalah golongan senyawa yang terdapat pada tumbuhan mulai dari yang masih kecil sampai tinggi, lebih dari 8000 senyawa fenolik dalam setiap tumbuhan yang sudah ditemukan dengan struktur yang khas (Alara *et al.*, 2021). Senyawa fenolik adalah golongan senyawa yang berperan besar sebagai antioksidan alami pada tumbuhan, terikat pada cincin aromatik yang memiliki satu (fenol) atau lebih (polifenol) gugus hidroksil maka akan mudah teroksidasi melalui pemberian atom hidrogen terhadap radikal bebas. Senyawa fenol sangat potensial menjadi antioksidan karena keahlian membentuk radikal fenoksi yang stabil terhadap radikal bebas (Dhurhanian & Agil, 2019).

Senyawa fenolik dibagi menjadi 2 yaitu fenolik sederhana dan fenolik kompleks. Fenolik sederhana memiliki satu atau lebih gugus hidroksil (-OH) yang terikat pada cincin aromatik, misalnya asam benzoat (asam galat) dan asam sinamat (asam kromat dan asam ferulate). Selain itu, yang tergolong dalam fenolik kompleks adalah flavonoid, tanin, dan

sliben (Nollet & Gutierrez, 2018). Beberapa keuntungan dari senyawa fenolik yaitu agen anti *aging*, anti inflamasi, dan antiproliferative. Polifenol yang terdapat pada tanaman yang dapat dikonsumsi atau produk makanan dapat memberikan sinyal untuk metabolisme karbohidrat dan lipid, mengurangi hiperglikemia, kolesterol dan resistensi insulin, peningkatan fungsi sel β -pankreas, meningkatkan sekresi insulin dan menurunkan stres oksidatif. Senyawa polifenol juga mampu mencegah pertumbuhan komplikasi diabetes untuk jangka panjang, seperti penyakit kardiovaskular, neuropati, nefropati dan retinopati (Lin *et al.*, 2016).



Gambar 2. Reaksi senyawa fenolik dengan reagen *Folin-Ciocalteu* (Baturante *et al.*, 2023).

Kadar total fenolik dapat didapatkan dengan spektrofotometri melalui penggunaan reagen *Follin-Ciocalteu*. Prinsip metode *Follin-Ciocalteu* yaitu gugus hidroksil bereaksi pada senyawa fenolik. Tumbuhan yang mengandung senyawa fenolik akan bereaksi dengan fosfomolibdat dan fosfotungstat dalam reagen *Folin-Ciocalteu* menghasilkan kompleks *molybdenum-tungsten* yang berwarna kuning akan berubah menjadi warna biru karena memperoleh penyusutan anion fenolat (Baturante *et al.*, 2023).

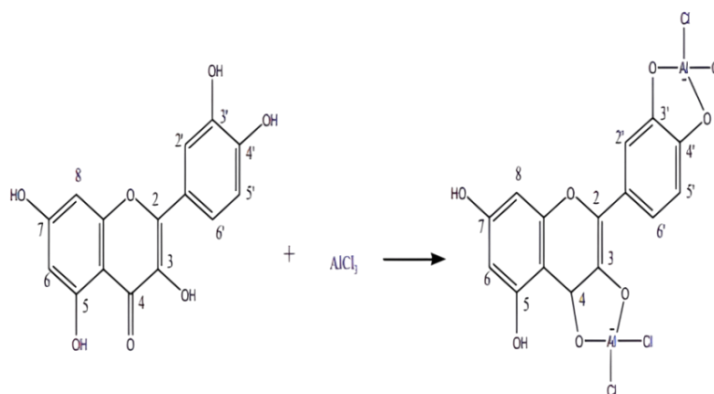
Mekanisme senyawa fenolik sebagai antioksidan dengan memutuskan rantai radikal bebas karena banyaknya gugus hidroksil (-OH) atau polifenol yang terkandung dalam senyawa fenolik sehingga dapat menurunkan ROS (*Reactive Oxygen Species*). Gugus hidroksil (-OH) dalam senyawa fenolik dapat bertindak sebagai penyumbang atom H untuk radikal bebas, sehingga senyawa fenolik dapat memberikan sifat antioksidan dan antidiabetes. Senyawa fenolik yang dikenal sebagai penangkap radikal bebas adalah antioksidan primer yang bekerja untuk mencegah pembentukan radikal bebas dengan melepaskan hidrogen, namun dilain sisi beberapa senyawa juga berfungsi sebagai antioksidan sekunder dengan menangkap radikal bebas dan memodifikasinya agar lebih stabil dengan cara mengikat ion atau membantu pembentukan oksigen tunggal (Mahardani & Leny, 2021). Dalam mencegah terbentuknya radikal bebas yang baru, senyawa fenolik berfungsi untuk menangkap radikal bebas, menghambat reaksi berantai dan mengubah radikal bebas yang sudah ada menjadi molekul tanpa efek merugikan (Suhaera *et al.*, 2022). Senyawa fenolik juga dapat digunakan sebagai antidiabetes karena memiliki aktivitas antioksidan yang dapat melindungi sel beta pankreas dari efek merusak radikal bebas yang dihasilkan selama hiperglikemia jangka panjang, sehingga kadar insulin tetap dipertahankan dan kadar glukosa darah tetap dalam kisaran normal (Wulandari *et al.*, 2020).

2.2.3 Senyawa Flavonoid

Senyawa flavonoid merupakan salah satu senyawa metabolit yang termasuk golongan senyawa fenolik. Flavonoid adalah polifenol utama pada makanan manusia, tersusun dari inti flavan dengan 15 atom karbon yang tersusun dalam 3 cincin seperti C6–C3–C6 yang diberi label A, B dan C. Terdapat enam bagian flavonoid, yaitu flavon, flavanon, flavonol, flavanol, antosianin dan isoflavon. Pengelompokan ini bekerja berdasarkan letak oksidasi cincin C pusat dalam struktur flavonoid. Perbedaan pada setiap struktur bagian flavonoid disebabkan

oleh pola dan tingkatan hidroksilasi, prenilasi, glikosilasi atau metoksilasi (Alara *et al.*, 2021).

Senyawa flavonoid mempunyai aktivitas antioksidan yang dapat meningkatkan pertahanan diri dari penyakit yang diinduksi oleh radikal bebas. Aktivitas antioksidan pada senyawa flavonoid mempunyai potensi mencegah penumpukan lemak sehingga dapat mengatasi permasalahan obesitas yang menjadi salah satu penyebab penyakit diabetes melitus, selain itu senyawa flavonoid juga dapat menurunkan risiko terjadinya penyakit jantung dan kanker (Hanin & Rarastoeti, 2017). Senyawa flavonoid yang mempunyai potensi terapeutik untuk antidiabetes melalui penghambatan mekanisme enzim α -amilase yang menjadi kunci dan bertanggung jawab dalam mencerna karbohidrat makanan menjadi glukosa sebagai senyawa bioaktif dan antioksidan (Al-Ishaq *et al.*, 2019).



Gambar 3. Reaksi pembentukan kompleks AlCl_3 dan flavonoid (Baturante *et al.*, 2023).

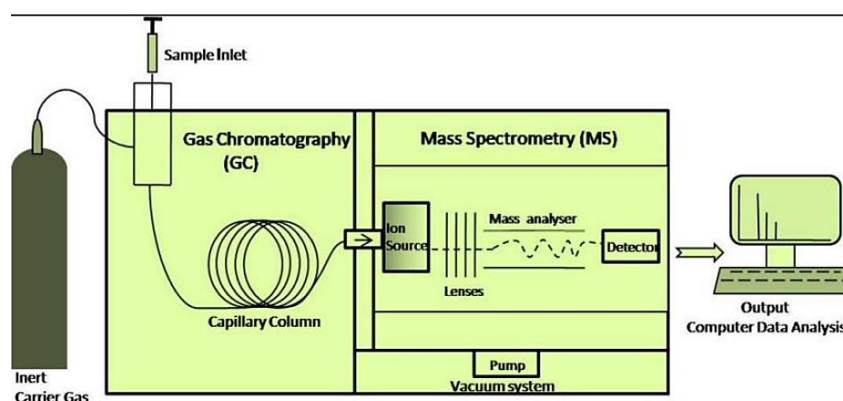
Kadar total flavonoid didapatkan dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis melalui metode kolorimetri dimana terjadinya pembentukan kompleks antara aluminium klorida (AlCl_3) bersama gugus keton pada atom C-4, gugus hidroksil atom C-3 dan C-5 pada senyawa flavon dan flavonol (Baturante *et al.*, 2023). Mekanisme flavonoid sebagai antioksidan karena molekul flavonoid memiliki susunan hidroksil yang terikat pada karbon cincin aromatik, sehingga

memiliki kemampuan untuk mengikat radikal bebas yang dihasilkan oleh reaksi peroksidasi lipid (lemak) dan senyawa flavonoid akan menetralkan peroksida lipid (lemak) karena menyumbangkan satu molekul hidrogen. Dengan demikian, senyawa flavonoid yang memiliki sifat antioksidan mampu mentransfer molekul H dari agregasi hidroksil dalam molekul radikal bebas (Oktaria & Mauritz, 2023). Senyawa flavonoid juga dapat melindungi dari kerusakan sel- β menjadi pembuat insulin dan meningkatkan sensitivitas insulin serta menurunkan kadar glukosa darah. Mekanisme senyawa flavonoid untuk antidiabetes dengan memblokir GLUT2 (*Glucose Transporter type 2*) sebagai pengangkut glukosa yang signifikan dalam usus, sehingga dapat menurunkan kadar glukosa darah. Selain itu, senyawa flavonoid memiliki kemampuan dalam menghambat fosfodiesterase yang meningkatkan cAMP (*Cyclic Adenosine Monophosphate*) dalam sel beta pankreas. Kadar glukosa darah akan menurun dan meningkatkan produksi insulin adalah akibat dari meningkatnya cAMP (*Cyclic Adenosine Monophosphate*) yang merangsang pelepasan protein kinase, sehingga menstimulasi sekresi insulin (Wulandari *et al.*, 2020).

2.3 *Gas Chromatography Mass Spectrometry (GC-MS)*

Teknik kromatografi gas yang dilakukan bersamaan dengan spektrometri massa disebut dengan *Gas Chromatography Mass Spectrometry (GC-MS)*. Kromatografi Gas (GC) digunakan untuk memisahkan senyawa yang pada saat vakum tinggi dan tekanan rendah mudah menguap jika dipanaskan (senyawa volatil), sedangkan Spektrometri Massa (MS) digunakan untuk menetapkan bobot molekul, rumus molekul dan menampilkan molekul bermuatan (Darnapatni *et al.*, 2016). Kromatografi Gas (GC) akan memisahkan campuran sebagian komponen, lalu komponen akan memperoleh spektrometri massa masing-masing jadi menguraikan satu komponen dalam satu waktu untuk massa molekul dan nilai massa fragmen. Kromatografi Gas (GC) merupakan metode yang efektif untuk pemisahan dan analisis campuran senyawa yang kompleks, walaupun memiliki konsentrasi

rendah. *Gas Chromatography Mass Spectrometry* (GC-MS) paling efektif pada senyawa dengan titik didih dibawah 200°C (Maji *et al.*, 2023).



Gambar 4. Representasi skema instrumen GC-MS (Rao *et al.*, 2023).

Mekanisme operasionalisasi *Gas Chromatography Mass Spectrometry* (GC-MS) dengan memasukkan sampel organik kedalam tempat injeksi untuk diuapkan, sampel yang sudah diuapkan lalu didorong dengan Kromatografi Gas (GC) oleh gas pembawa dengan kemurnian yang tinggi (misalnya; helium dan nitrogen). Proses pemisahan berlandaskan interaksi komponen sampel dengan bahan kolom, komponen yang telah dipisahkan dijalankan ke Spektrometri Massa (MS) agar diidentifikasi senyawanya (Crouch *et al.*, 2017). Kontrol suhu yang dapat diprogram melalui pembersihan gas merupakan komponen yang sangat penting dari Kromatografi Gas (GC). Pemanasan yang dapat diprogram mungkin oleh kombinasi injektor dan oven, sehingga mempengaruhi penguapan. Pemisahan ditingkatkan dengan mengintegrasikan GC dengan kolom kapiler, yang bergantung pada ukuran dan sifat fase stasioner. Pemisahan yang efektif merupakan konsekuensi dari perbedaan molekuler di antara campuran dan afinitasnya terhadap fase stasioner (Chiu & Ching, 2020). Perpindahan molekul dari Kromatografi Gas (GC) ke Spektrometri Massa (MS) diperlukan antarmuka karena operasionalisasi membutuhkan dalam spektrometri massa, hasil molekul. Setelah meninggalkan kolom, molekul masuk ke jenis instrumen yang paling umum yaitu ruang ionisasi dan tempat molekul tersebut terekspos aliran elektron kuat yang menyebabkan bagian molekul terionisasi dan

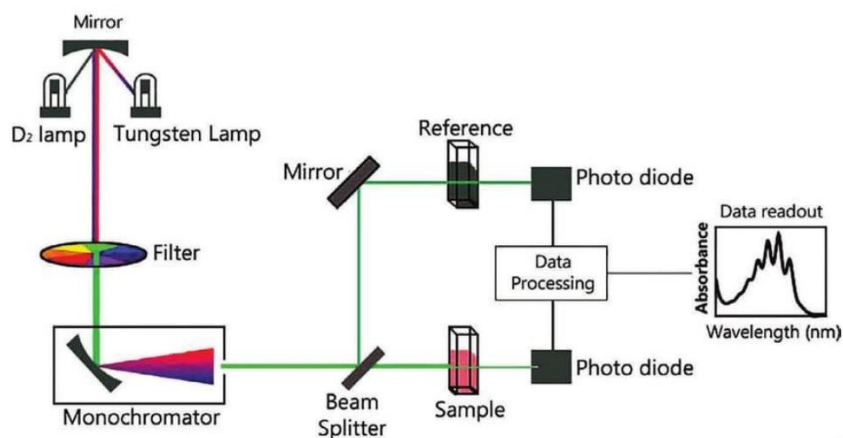
terfragmentasi. Proses fragmentasi dan penataan ulang dapat menghasilkan ion, selain itu molekul yang tidak terfragmentasi. Dalam menganalisa massa, ion dipercepat dan disusun dengan cepat berdasarkan rasio massa terhadap muatan (m/z). Menganalisis ribuan massa ion yang berbeda (m/z) dapat dilakukan dengan cepat, kemudian detektor akan mengukur jumlah elektron yang dihasilkan saat ion menyentuh setiap rasio massa muatan (m/z) untuk menghitung kelimpahan ion. Kromatogram diproduksi oleh Kromatografi Gas (GC) dengan menggunakan Spektrometri Massa (MS) sebagai detektor, yang akan menunjukkan konsentrasi setiap bahan kimia sebagai fungsi waktu retensi, dimensi data spesifik adalah histogram kelimpahan setiap ion Spektrometri Massa (MS) sebagai fungsi m/z dan untuk mengidentifikasi zat digambarkan oleh puncak kromatogram (Rao *et al.*, 2023).

Beberapa faktor yang mempengaruhi persiapan sampel dalam GC-MS yaitu penginstruksian instrumen, karakteristik kolom, komposisi sampel dan terbatasnya detektor. Fokus utama pertimbangan operasional yaitu mencegah penguapan sampel sebelum injeksi ke dalam kolom. Volume yang diuapkan dimasukkan ke dalam kolom kapiler dan dalam mencegah kerusakan dasar dan peningkatan kinerja sistem sangat penting untuk menggunakan gas pembawa Kromatografi Gas (GC) dengan kemurnian tinggi yang bebas dari pengotor seperti hidrokarbon, uap air dan oksigen. Kecepatan aliran Kromatografi Gas (GC) dapat disesuaikan dengan tekanan aliran konstan dan dipengaruhi oleh viskositas sampel, biasanya dipertahankan di bawah 2,0 mL/menit untuk detektor Spektrometri Massa (MS) berbasis vacuum (Lovestead & Kimberly, 2023).

2.4 Spektrofotometer Uv-Vis

Spektrofotometri adalah metode kuantitatif atau kualitatif untuk menentukan komposisi sampel yang bergantung pada interaksi materi dan cahaya. Spektrofotometri UV-Vis adalah teknik analisis yang mendeteksi zat dengan menggunakan panjang gelombang tampak dan ultraviolet sebagai daerah penyerapan, sehingga memudahkan analisis bahan organik dan anorganik

yang memungkinkan pengukuran bahan kimia dalam jumlah sangat kecil secara akurat menggunakan alat cepat dan hasilnya dapat dicetak dengan angka yang ditampilkan dalam regresi (Rohmah *et al.*, 2021). Penyerapan cahaya tampak (400–800 nm) dan cahaya ultraviolet (200–400 nm) oleh suatu senyawa dapat diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Transisi elektronik, yaitu promosi elektron dari orbital keadaan dasar berenergi rendah ke orbital keadaan tereksitasi berenergi lebih tinggi, disebabkan oleh penyerapan cahaya ultraviolet. Kemudahan promosi elektron menentukan panjang gelombang cahaya UV. Panjang gelombang yang lebih pendek akan diserap oleh molekul yang membutuhkan lebih banyak energi untuk mendorong elektron. Panjang gelombang yang lebih panjang akan diserap oleh molekul dengan kebutuhan energi yang lebih rendah. Dibandingkan dengan senyawa yang menyerap pada panjang gelombang yang lebih pendek, senyawa berwarna yang menyerap cahaya dalam spektrum tampak memiliki elektron yang lebih mudah untuk dipromosikan (Abriyani *et al.*, 2022).



Gambar 5. Skema spektrofotometer uv-vis (*double-beam*) (Suharti, 2017).

Spektrofotometer UV-Vis bekerja berdasarkan prinsip melewatkan cahaya dari lampu deuterium bersifat polikromatik diteruskan melalui lensa ke monokromator. Cahaya polikromatik tersebut kemudian akan diubah menjadi cahaya monokromatik (tunggal) melalui monokromator. Sampel yang mengandung zat kimia dalam konsentrasi tertentu kemudian akan disinari oleh berkas cahaya dengan panjang tertentu. Akibatnya, sebagian cahaya

dilewatkan dan sebagian lagi diserap. Detektor kemudian menerima cahaya yang telah dilewatkan. Setelah itu, detektor akan menghitung jumlah cahaya yang diterimanya dan menentukan berapa banyak cahaya yang diserap oleh sampel dalam spektrum absorbansi (Abriyani *et al.*, 2023).

2.5 Ekstraksi

2.5.1 Definisi

Ekstraksi merupakan proses memisahkan dan mengisolasi suatu zat menggunakan penambahan pelarut tertentu agar dapat menghilangkan komponen campuran zat padat atau zat cair. Selain itu, ekstraksi adalah proses pemisahan satu atau lebih komponen dari suatu campuran homogen melalui pemanfaatan pelarut cair menjadi zat pemisah (Wardhani *et al.*, 2023). Ekstraksi dapat melakukan pemisahan zat berdasarkan perbedaan kelarutan pada dua cairan yang tidak terlarut, misalnya air dan pelarut organik lainnya (Badaring *et al.*, 2020). Ekstraksi dapat menghilangkan komponen dengan selektif dalam campuran, sehingga senyawa yang dihasilkan dapat dengan mudah dipekatkan (Nichols, 2023).

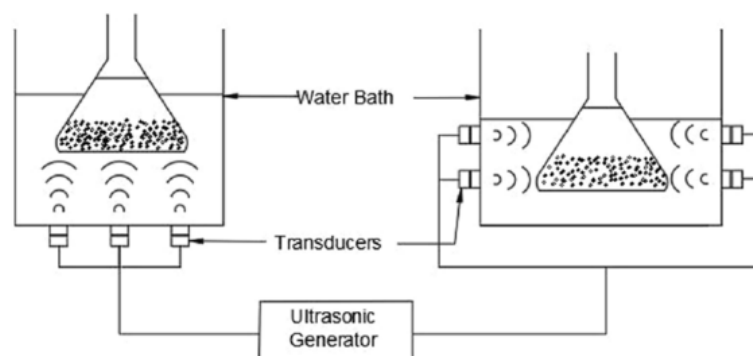
Mekanisme ekstraksi bahan alam dapat melalui beberapa tahapan yaitu, pelarut akan menerobos masuk ke dalam matriks padat dan zat akan terlarut ke dalam pelarut yang digunakan, kemudian zat terlarut akan keluar dan menyebar dari matriks padat maka zat terlarut yang diekskresikan akan terkumpul. Pada proses ekstraksi, pelarut yang digunakan harus mampu memisahkan atau mengekstrak zat yang akan digunakan tanpa melarutkan substansi lain yang tidak diinginkan (Zhang *et al.*, 2018).

Prinsip yang digunakan dalam metode pemisahan ekstraksi adalah prinsip kelarutan *like dissolve like* yang mana suatu pelarut polar akan melarutkan senyawa polar dan pelarut non polar akan melarutkan

senyawa non polar. Metode ekstraksi dapat dipilih berdasarkan senyawa dan pelarut yang akan digunakan. Pada proses ekstraksi memiliki tujuan memisahkan senyawa dari simplisia (Syamsul *et al.*, 2020).

2.5.2 *Ultrasound-Assisted Extraction*

Ultrasound-Assisted Extraction (UAE) merupakan metode ekstraksi yang memanfaatkan energi gelombang ultrasonik, sehingga ramah lingkungan (*green extraction*). Metode UAE menghasilkan ekstrak yang lebih pekat, lebih banyak mengandung zat aktif dan waktu yang digunakan lebih sedikit karena menggunakan gelombang ultrasonik yang dapat memudahkan pemecahan dinding sel dalam fase cair yang berada di bawah titik didih (Susiloningrum & Dessy, 2023). Proses pemecahan dinding sel dan proses pelepasan senyawa kimia dapat disebabkan karena pecahnya gelembung mikro yang menyebabkan tingginya tekanan dan suhu (Puspita *et al.*, 2024).



Gambar 6. Representasi teknik *Ultrasound-Assisted Extraction* (Sanjaya *et al.*, 2022)

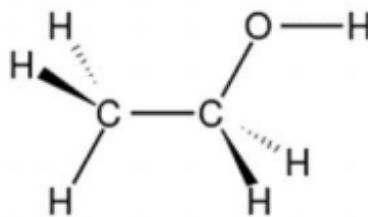
Metode UAE dapat digunakan untuk menyesuaikan senyawa kimia yang sensitif terhadap panas melalui proses menggunakan suhu yang lebih rendah dan penetrasi pelarut lebih besar dari sampel karena efek dari ultrasound, sehingga perpindahan massa akan meningkat dan mempermudah pelepasan senyawa aktif saat dinding sel terganggu (Ayu *et al.*, 2020). Metode ekstraksi UAE juga dapat meminimalkan kerusakan senyawa fenolik dan waktu sonikasi yang lebih pendek dan

suhu yang rendah akan meningkatkan ekstraksi polifenol yang lebih cepat dan lebih baik (Alara *et al.*, 2021).

Faktor yang dapat mempengaruhi metode UAE yaitu pelarut, suhu dan waktu ekstraksi, pada saat volume pelarut yang terlalu banyak dapat membuat menurunnya hasil ekstraksi dan saat menggunakan suhu tinggi maka hasilnya optimum dan proses ekstraksi lebih cepat karena pada suhu tinggi dapat menurunkan viskositas pelarut sehingga pelarut dengan mudah menerobos tanaman yang sedang dilakukan proses ekstraksi dan meningkatkan massa saat ekstraksi (Jovanovic *et al.*, 2017). Sedangkan, waktu ekstraksi yang terlalu lama dan melampaui batas optimum dapat membuat senyawa bioaktif akan mengalami perubahan struktur kimia karena terjadinya oksidasi maka ekstrak yang didapatkan lebih sedikit dan jika waktu ekstraksi terlalu singkat dapat menyebabkan senyawa bioaktif tidak terekstrak semuanya ke dalam pelarut (Kristina *et al.*, 2022).

2.5.3 Pemilihan Pelarut

Pemilihan pelarut sangat penting dalam proses ekstraksi, beberapa hal harus dipertimbangkan dalam pemilihan pelarut yaitu kelarutan, selektivitas, keamanan dan biaya (Zhang *et al.*, 2018). Etanol 96% digunakan sebagai pelarut karena bersifat universal, polar dan mudah didapat. Sifat yang terdapat pada etanol 96% seperti; selektif, tidak toksik, penyerapan yang baik dan dapat menyaring senyawa yang bersifat non-polar, semi polar dan polar sehingga banyak digunakan dalam penelitian. Pelarut etanol 96% juga mudah menembus ke dalam dinding sel sampel yang memiliki konsentrasi lebih rendah, sehingga ekstrak yang dihasilkan lebih pekat (Wendersteyt *et al.*, 2021).



Gambar 7. Struktur molekul etanol (Ayu *et al.*, 2020).

Etanol merupakan bagian alkohol rantai tunggal yang mempunyai rumus molekul C_2H_5OH . Pelarut etanol mempunyai dua bagian yang terdiri dari bersifat polar gugus OH dan bersifat non polar gugus CH_2CH_3 . Sifat non polar membuat etanol dapat mengekstrak secara optimal kandungan senyawa fenolik (Ayu *et al.*, 2020). Penggunaan pelarut etanol 96% digunakan pada proses ekstraksi karena salah satu pelarut dengan harga yang murah, mudah diperoleh dan memiliki tingkat kepolaran yang sama dengan senyawa bioaktif, sehingga dapat mengekstrak senyawa fenolik dan flavonoid dan pelarut etanol juga memiliki aktivitas sebagai antioksidan (Kristina *et al.*, 2022). Penggunaan pelarut etanol 96% juga memiliki aktivitas sebagai inhibitor enzim α -amilase lebih kecil nilai IC_{50} dibandingkan dengan acarbose, yang mana semakin kecil nilai IC_{50} maka aktivitas inhibitor enzim α -amilase semakin besar (Alfiani, 2022).

2.6 Antioksidan

2.6.1 Definisi

Antioksidan adalah senyawa yang memiliki kemampuan dalam mengikat radikal bebas dan memblokir reaksi berantai yang dapat mengganggu makromolekul penting tubuh (Noviarni *et al.*, 2020). Radikal bebas atau *Reactive Oxygen Species* (ROS) adalah komponen dalam proses metabolisme dan dapat bersifat sangat reaktif, tidak stabil dan mudah bereaksi. Hasil dari reaksi berantai yaitu radikal bebas baru akan terbentuk dalam tubuh yang akhirnya terus bertambah jumlahnya (Mujiran & Yeni, 2024). Antioksidan menstabilkan radikal bebas

melalui proses penambahan kekurangan elektron pada radikal bebas dan mencegah reaksi berantai yang mengarah pada pembentukan radikal bebas. Antioksidan juga membantu mengendalikan proses oksidasi yang sedang berlangsung di dalam tubuh karena kerusakan enzim dan peningkatan resistensi insulin adalah akibat dari meningkatnya radikal bebas yang dapat menyebabkan komplikasi seperti diabetes melitus (Suryadinata *et al.*, 2021).

Antioksidan yang tidak seimbang dengan pembentukan radikal bebas dalam tubuh dapat menyebabkan stres oksidatif. Kelainan pada metabolisme glukosa akibat stres oksidatif dapat dikendalikan melalui pengaturan asupan makanan terutama sumber antioksidan. Antioksidan dapat membantu menjaga sel beta pankreas dari efek toksik radikal bebas yang dihasilkan saat hiperglikemia kronis, akhirnya kadar insulin dapat terlindungi dan kadar glukosa darah tetap normal (Tritisari *et al.*, 2017).

Tabel 1. Klasifikasi nilai IC₅₀ Antioksidan

Klasifikasi	nilai IC ₅₀
Sangat Kuat	< 50 µg/mL
Kuat	50-100 µg/mL
Sedang	100-150 µg/mL
Lemah	150-200µg/mL

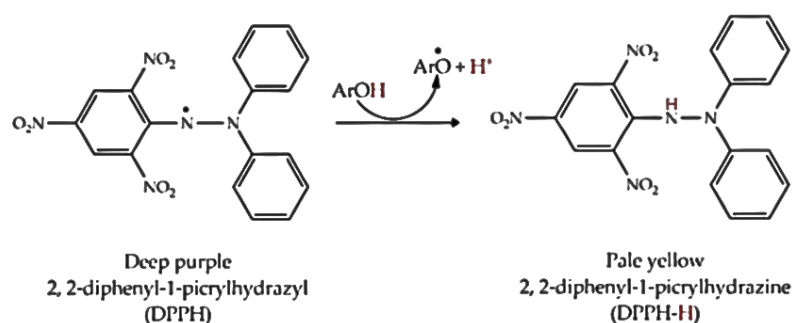
(Sumber: Devitria, Harni, & Seftika, 2020).

2.6.2 DPPH (2,2 diphenyl-1-picrylhydrazyl atau α,α -diphenyl- β -picrylhydrazyl)

DPPH merupakan radikal bebas yang stabil yang digunakan untuk mengevaluasi bahan alam yang mengandung radikal bebas. Prinsip pengujian DPPH dengan intensitas warna ungu dari larutan DPPH akan berubah sama dengan konsentrasi larutan DPPH. Elektron yang tidak berpasangan dan radikal bebas DPPH mempunyai warna ungu, namun ketika berpasangan warnanya akan menguap dan berubah jadi warna kuning. Intensitas cahaya berubah karena reaksi molekul DPPH dan

atom hidrogen yang terlepas dari molekul senyawa sampel (Lukiyono *et al.*, 2020).

DPPH (2,2 diphenyl-1-picrylhydrazyl atau α,α -diphenyl- β -picrylhydrazyl) mempunyai rumus molekul $C_{18}H_{12}N_5O_6$ dan berat molekul 394,33 g/mol dan akan menangkap molekul hidrogen dari antioksidan melalui reaksi sebagai berikut:



Gambar 8. Reaksi radikal bebas DPPH dan antioksidan (Kurniasari *et al.*, 2022).

Padatan maupun cairan dapat digunakan sebagai sampel dalam metode DPPH dan bisa digunakan dalam skrining awal semua jenis sampel, terutama ekstrak tanaman. Nilai *inhibitor concentration* (IC_{50}) merupakan konsentrasi yang dapat menghambat 50% dari senyawa antioksidan. Kapasitas antioksidan berbanding terbalik dengan nilai IC_{50} , dimana tingginya kapasitas antioksidan sampel maka akan semakin kecil juga nilai IC_{50} (Devitria *et al.*, 2020). Keuntungan DPPH adalah metode yang sederhana, cepat, ringan dan sensitif pada sampel yang memiliki konsentrasi rendah, selain itu DPPH juga memiliki kelemahan adalah hanya larut pada pelarut organik maka dalam menganalisis senyawa hidrofilik akan kesulitan (Wulansari, 2018).

2.7 Diabetes Mellitus

2.7.1 Definisi Diabetes Mellitus

Diabetes Mellitus (DM) disebabkan oleh metabolisme glukosa tubuh yang buruk dan juga disertai sejumlah penyakit metabolik yang disebabkan oleh ketidakseimbangan hormon. Selain itu, diabetes mellitus juga ditandai oleh lesi pada membran basal yang mengakibatkan hiperglikemia akibat aksi insulin yang tidak mencukupi atau berkurangnya sintesis insulin (*American Diabetes Association*, 2023). Jika kadar glukosa darah seseorang lebih tinggi dari kisaran biasanya, yaitu 200 mg/dL untuk gula darah sewaktu dan 126 mg/dL untuk gula darah puasa, seseorang dapat didiagnosis menderita diabetes mellitus (Hestiana, 2017).

Diabetes mellitus ditandai dengan ketidaknormalan metabolisme karbohidrat, protein dan lemak akibat buruknya respons sel terhadap insulin atau perubahan produksi insulin β -Langerhans kelenjar pankreas, sehingga insensitivitas sel terhadap insulin atau keduanya yang merupakan aksi dari insulin kepada sel targetnya seperti otot, jaringan dan hati. Ketika tubuh tidak mampu menggunakan insulin dengan benar atau memproduksinya dalam jumlah yang tidak mencukupi, maka diabetes mellitus akan berkembang. Kemudian ditandai dengan volume produksi urin yang banyak dan terus menerus dengan rasa manis (kencing manis) (Bilous & Donelly, 2015).

Penderita diabetes mellitus dapat mengalami komplikasi akut maupun kronis jika kadar glukosa darahnya tidak terkontrol. Diabetes mellitus yang tidak ditangani dengan tepat dan segera, hal itu dapat meningkatkan risiko serangan jantung dan mengakibatkan masalah kardiovaskular yang serius, seperti hipertensi serta beberapa komplikasi akut jika tidak ditangani, contohnya seperti ketoasidosis, stroke, gangguan jantung, gagal ginjal, tukak kaki, impotensi dan kematian. Diabetes Mellitus juga dapat menyebabkan komplikasi kronis pada

mata, ginjal, dan kerusakan pembuluh darah (*American Diabetes Association, 2023*).

2.7.2 Klasifikasi Diabetes Mellitus

Diabetes mellitus dapat dibagi menjadi 4 kategori, yaitu sebagai berikut:

1. Diabetes Mellitus Tipe 1/ *Insulin Dependent Diabetes Mellitus* (IDDM)

Pada individu yang memiliki predisposisi genetik, paparan pemicu lingkungan selalu memicu kerusakan autoimun pada sel β pankreas yang mengakibatkan diabetes mellitus tipe 1. Diabetes tipe 1 dapat menyerang pada usia berapa saja, namun kondisi ini muncul pada masa remaja atau masa kanak-kanak yang lebih rentan mengalami *diabetic ketoacidosis* dan biasanya memiliki tingkat kerusakan sel β lebih cepat, sedangkan pada dewasa dapat mempertahankan selama berbulan-bulan bahkan bertahun-tahun untuk melepaskan insulin dengan cukup untuk mencegah *ketoacidosis* (Dipiro *et al*, 2020).

Secara patofisiologis, diabetes mellitus berkembang lambat dan perlahan selama bertahun-tahun. Seseorang dengan diabetes tipe 1 yang tidak terkontrol akan mengalami penurunan berat badan. Selain itu, poliuria dan polidipsia terjadi sebagai gejala penyerta diabetes mellitus tipe 1. Kelebihan volume urin akan mengakibatkan badan keton dalam urin dan diuresis osmotik yaitu peningkatan glukosa yang menyebabkan hiperglikemia. Seseorang yang menderita diuresis osmotik akan merasa lapar dan dehidrasi. Dehidrasi dan penggunaan nutrisi yang tidak efisien oleh tubuh menyebabkan rasa lapar dan haus (Soelistijo, 2021).

2. Diabetes Mellitus Tipe 2/ *Non Insulin Dependent Diabetes Mellitus* (NIDDM)

Diabetes mellitus tipe 2 merupakan akibat dari disfungsi sel β bersamaan dengan derajat resistensi insulin sebagai penyertanya dan secara bertahap dari waktu ke waktu terjadi penipisan pada sel β , sehingga secara keliru disebut sebagai diabetes pada usia dewasa atau tidak tergantung insulin. Mayoritas penderita diabetes tipe 2 yaitu orang yang obesitas atau kelebihan berat badan karena dapat menjadi kontribusi utama resistensi insulin, selain itu genetik juga memiliki peran penting dalam perkembangan diabetes tipe 2 karena memiliki pola pewarisan yang kuat. Mutasi gen dapat mempengaruhi perkembangan serta fungsi sel β , sensitivitas sel terhadap kerja insulin atau perkembangan obesitas (Dipiro *et al*, 2020).

Secara patofisiologis, diabetes mellitus tipe 2 disebabkan oleh beberapa faktor, seperti kerusakan jaringan perifer akibat insulin atau disebut dengan berkurangnya pelepasan insulin dari sel β pankreas akibat kelebihan glukosa. Faktor tersebut akan mengakibatkan resistensi insulin yang akan meningkatkan produksi glukosa tubuh sekaligus menurunkan penggunaannya sehingga terjadi hiperglikemia. Setelah itu, sel β pankreas akan memodifikasi diri untuk mengurangi respons terhadap sekresi insulin akan berkurang pada akhirnya menyebabkan kekurangan insulin. Kadar insulin plasma yang menurun dan diikuti dengan peningkatan kadar glukosa plasma dibandingkan dengan kondisi normal (Soelistijo, 2021).

3. Diabetes Mellitus Tipe Gestasional/ *Gestational Diabetes Mellitus* (GDM)

Diabetes tipe gestasional merupakan diabetes yang berkembang selama kehamilan biasanya intoleransi glukosa akan muncul pertama kali saat mendekati awal trimester ketiga. Diabetes tipe gestasional dapat muncul jika ibu hamil tidak dapat meningkatkan sekresi

insulin secara memadai untuk menjaga keseimbangan kadar glukosa darah normal dan mencegah resistensi insulin yang disebabkan oleh perubahan hormonal selama kehamilan (Dipiro *et al*, 2020).

Diabetes tipe 2 kemungkinan berkembang pada sekitar 30–40% penderita diabetes gestasional. Sekitar 7% kehamilan berakhir dengan diabetes gestasional, yang meningkatkan risiko kematian bagi ibu dan janin. (Aspilayuli *et al.*, 2023).

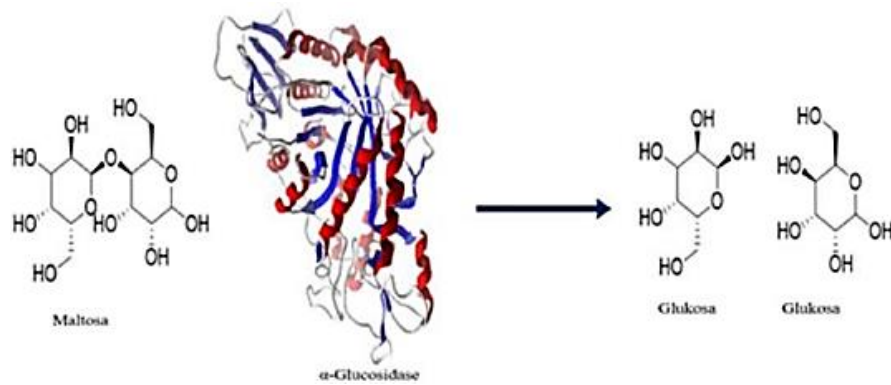
4. Diabetes Mellitus Tipe Lainnya/ / *Others Specific Types*

Diabetes tipe ini dapat disebabkan oleh masalah eksokrin pankreas dimana pelepasan sekresi bikarbonat terganggu sehingga proses metabolisme glukosa tidak efektif yang dapat menyebabkan sekresi insulin dan disfungsi insulin. Selain itu, kondisi ini dapat disebabkan oleh penggunaan obat-obatan tertentu, seperti pengobatan HIV/AIDS, paparan zat kimia, atau setelah donasi organ (Rahmasari & Wahyuni, 2019).

2.8 Penghambatan Aktivitas Antidiabetes Secara *In-Vitro*

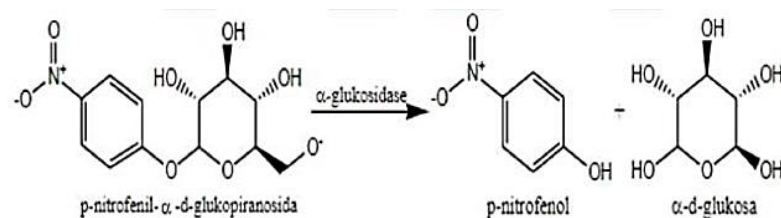
2.8.1 Enzim α -glukosidase

α -glukosidase merupakan salah enzim yang mengkatalisis pemecahan ikatan glikosida dalam oligosakarida. Glukosidase tertentu yang terutama terlibat dalam pemecahan ikatan glikosida bergantung pada kuantitas, susunan, atau struktur gugus hidroksil dalam molekul gula. Sejumlah aktivitas metabolisme, termasuk pemecahan polisakarida menjadi unit monosakarida untuk penyerapan dan pemanfaatan oleh organisme, bergantung pada aktivitas glukosidase. Akibatnya, terjadi hiperglikemia pada kondisi di mana kadar gula darah lebih tinggi dari normal pada penderita diabetes. Dengan mencegah enzim α -glukosidase bekerja, hiperglikemia setelah makan dapat dihindari karena usus dapat menyerap lebih sedikit monosakarida (Sandy, 2025).



Gambar 9. Mekanisme α -glucosidase memecah disakarida (Gendokesumo *et al.*, 2022).

Substrat pNPG (*p*-nitrofenil- α -D-glukopiranosida) digunakan oleh enzim α -glukosidase, yang berasal dari *Saccharomyces cerevisiae* rekombinan. Glukosa berwarna kuning dan *p*-nitrofenol diproduksi ketika enzim α -glukosidase bergabung dengan substrat *p*-nitrofenil- α -D-glukopiranosida, absorbansinya dapat diukur. Bergantung pada nilai penghambatan, aktivitas penghambat enzim α -glukosidase sampel akan menghasilkan intensitas warna kuning yang berbeda. Semakin sedikit glukosa yang diproduksi, semakin jernih atau pudar warna kuning yang muncul ini menunjukkan bahwa sampel menghambat reaksi enzim-substrat atau dengan kata lain bahwa enzim α -glukosidase dihambat dengan kuat. Pengujian inhibitor enzim α -glukosidase dengan menambahkan dimetil sulfoksida ke dalam sampel, diikuti penambahan *p*-nitrofenil- α -D-glukopiranosida untuk memungkinkan terjadinya reaksi enzimatik. Reaksi kemudian dihentikan dengan penambahan Na_2CO_3 dan absorbansi diukur pada 400 nm (Suhendi *et al.*, 2022).



Gambar 10. Reaksi enzimatik pNPG (*p*-nitrofenil- α -D-glukopiranoside) dengan α -glucosidase (Gendokesumo *et al.*, 2022).

2.8.2 RIN-5F *Cell Lines*

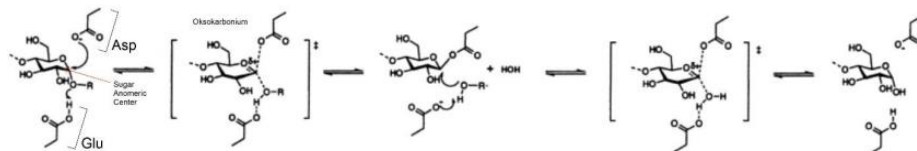
RIN-5F berfungsi serupa dengan sel β pankreas dan merupakan klon dari sel-sel tersebut. Lini sel tumor islet tikus RIN-m (nomor katalog ECACC EC95071701) memiliki klon sekunder yang disebut RIN-5F. Dengan membatasi pengenceran dalam RPMI 1640, 10% FBS, dan 20% media terkondisi, kloning dilakukan. Hormon pertumbuhan dan prolaktin diproduksi oleh lini sel tumor hipofisis tikus GH3 (nomor katalog ECACC EC87012603) dan terdapat dalam media terkondisi. Sel RIN-5F memiliki granula kematian yang terikat membran, melepaskan insulin, dan menghasilkan sejumlah besar L-dopa-dekarboksilase, enzim APUD yang penting. Insulin disekresikan pada tingkat yang bergantung pada waktu dalam nanogram per juta sel ketika glibenklamid atau sampel ditambahkan ke sel RIN-5F (Nugraha & Hasanah, 2018).

2.8.3 Enzim α -amilase

Enzim hidrolitik α -amilase (α -1,4-glukan-4-glukanohidrolase) dengan cepat memecah ikatan α -1,4-glikosidik dalam polisakarida untuk menghasilkan oligosakarida seperti maltosa. Enzim ini merupakan salah satu enzim pencernaan yang terdapat di pankreas (5-6%), kelenjar ludah dan usus halus (McIver *et al.*, 2022).

Terdapat dua fase di mana enzim α -amilase memecah pati. Residu asam amino pada sisi aktif enzim mengalami reaksi protonasi dan substitusi nukleofilik (SN_1) dengan oksigen dalam ikatan glikosidik substrat selama tahap pertama. Sementara substitusi nukleofilik oleh asam aspartat menghasilkan gugus keluar dalam bentuk aglikon dan senyawa transisi karbokation dalam bentuk ion oksokarbonium, protonasi dilakukan oleh asam glutamat, yang memotong oksigen pada C_1 . Molekul air memainkan peran kunci dalam tahap kedua, di mana mereka menyerang ikatan antara asam aspartat dan substrat, memberikan proton asam glutamat untuk menstabilkannya. Hal ini

menyebabkan asam aspartat terpisah dari substrat dan membentuk gugus hidroksil baru pada molekul substrat yang lebih sederhana (Adriani *et al.*, 2017).



Gambar 11. Mekanisme pemecahan ikatan gula oleh enzim α -amilase (Adriani *et al.*, 2017).

Faktor yang dapat memengaruhi aktivitas enzim α -amilase adalah suhu, pH, konsentrasi enzim, dan konsentrasi substrat pati. Setiap enzim memiliki suhu yang optimum, suhu yang terlalu tinggi dapat mendenaturasi enzim sedangkan suhu yang terlalu rendah dapat menurunkan aktivitas enzim dan inaktivasinya. Suhu dan pH di mana aktivitas enzim terjadi paling cepat disebut sebagai nilai optimal. Enzim α -amilase optimum bekerja pada rentang pH antara 5,6–7,2, dan suhu ideal adalah 37°C (Prahesti *et al.*, 2018). Uji penghambatan aktivitas enzim α -amilase dapat dilakukan dengan dua metode yaitu metode *Starch-Iodine colour assay* dan metode DNSA (*3, 5-dinitrosalicylic acid assay*). Klasifikasi penghambatan aktivitas enzim α -amilase dalam uji aktivitas antidiabetes dapat dilihat pada **Tabel 2**.

Tabel 2. Klasifikasi nilai IC_{50} terhadap enzim α -amilase

Klasifikasi	nilai IC_{50}
Sangat kuat	< 50 $\mu\text{g/mL}$
Kuat	50-100 $\mu\text{g/mL}$
Sedang	100-150 $\mu\text{g/mL}$
Lemah	150-200 $\mu\text{g/mL}$
Sangat lemah	> 200 $\mu\text{g/mL}$

(Sumber: Primada & Sri, 2021)

2.8.3.1 *Starch- Iodine colour assay*

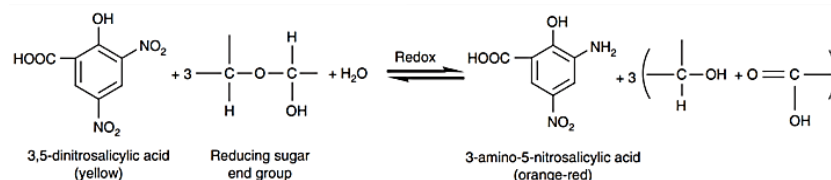
Pengujian menggunakan metode *Starch-Iodine colour assay* merupakan metode yang dimodifikasi dari pewarnaan pati-iodin.

Enzim yang memiliki gugus karboksil dan nitrogen pada sisi aktifnya akan berikatan dengan substrat yang digunakan yaitu pati yang larut dalam air. Enzim akan membentuk kompleks absorbs dengan substrat, ikatan glikosidik pada posisi tertentu berhadapan dengan gugus karboksil dan kelompok imidazole. Absorbansi warna biru yang terukur oleh spektrofotometer pada akhir reaksi menunjukkan jumlah pati yang tidak terhidrolisis oleh enzim. Larutan iodine membentuk senyawa kompleks berwarna biru dengan pati, sehingga kita dapat mengetahui kemampuan enzim dalam memecah pati dari jumlah pati yang masih ada (Pambudi *et al.*, 2021).

2.8.3.2 DNSA (3, 5-dinitrosalicylic acid assay)

Metode DNSA (3, 5-dinitrosalicylic acid assay) terdiri dari dua tahap. Tahap pertama, hidrolisis pati menjadi maltose yang dikatalis oleh enzim α -amilase berlangsung pada suhu 37°C, pH 7 dan kondisi buffer fosfat. Kondisi ini sangat sesuai dengan kondisi reaksi dalam tubuh dan suhu yang dipilih karena merupakan suhu ideal untuk aktivitas enzim amilase. Ketika larutan DNS ditambahkan pada larutan uji, reaksi hidrolisis pati terhenti karena terjadi perubahan pH larutan, dari pH netral menjadi basa. Fungsi penambahan DNS untuk memberikan reaksi kompleks yang membantu dalam pengukuran penyerapan larutan dan berfungsi menghentikan kerja enzim, sehingga enzim tidak memecahnya. Tahap kedua, reduksi asam 3,5-dinitrosalisilat menjadi asam 3-amino-5-nitrosalisilat berlangsung pada suasana basa dan suhu tinggi di atas 100°C, sehingga larutan DNS awalnya terlihat kuning ketika bereaksi dengan gula reduksi dan menghasilkan warna jingga kemerahan. Tujuan pemanasan adalah untuk mengoptimalkan kerja DNS dan mempercepat reaksi dari DNS untuk menghentikan kerja enzim, hasil pemanasan kemudian sinkronisasi untuk

menghilangkan DNS yang telah digunakan untuk menghentikan reaksi asam sulfat. Asam *3-amino-5-nitrosalisilat* adalah senyawa yang memiliki kemampuan yang kuat dalam menyerap radiasi gelombang elektromagnetik pada panjang gelombang 540 nM (Pambudi *et al.*, 2021).

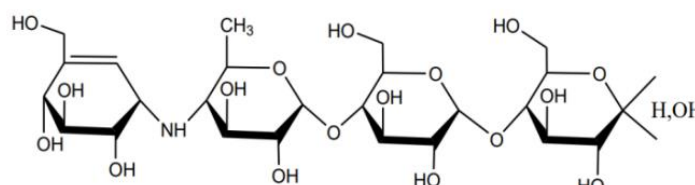


Gambar 12. Reaksi DNS dan Gula pereduksi (Suharyani *et al.*, 2021).

2.9 Acarbose

Acarbose merupakan obat anti diabetes tipe II yang memiliki mekanisme kerja secara kompetitif menghambat maltase, isomaltase, sukrase, dan glukamilase di usus halus, sehingga menunda pemecahan sukrosa dan karbohidrat kompleks (Dipiro *et al.*, 2020). Hal tersebut menimbulkan pengurangan kecepatan absorpsi karbohidrat akhirnya memberikan tambahan waktu untuk pankreas mengeluarkan insulin yang cukup untuk mengatur glukosa, sehingga efektif dalam menunda pencernaan dan absorpsi karbohidrat, lalu akan menurunkan kadar glukosa post prenatal (Chigurupati *et al.*, 2019).

Acarbose berbentuk serbuk putih dan memiliki berat molekul 645,6 termasuk senyawa polar dengan rumus molekul C₂₅H₄₃NO₁₈. Berikut merupakan contoh struktur molekul dari acarbose (Sy *et al.*, 2019):

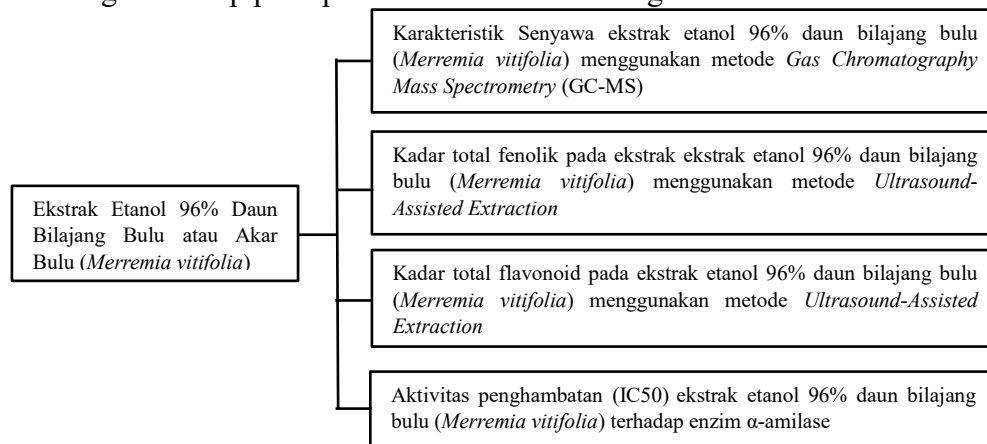


Gambar 13. Struktur kimia acarbose (Sy *et al.*, 2019).

Acarbose memiliki efek samping berupa penimbunan gas di dalam usus sehingga akan sering merasakan perut kembung, untuk meminimalkan maka

2.11 Kerangka Konsep

Kerangka konsep pada penelitian ini adalah sebagai berikut:



Gambar 15. Kerangka Konsep.

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1. Desain Penelitian

Penelitian merupakan penelitian eksperimental skala laboratorium. Ekstraksi daun bilajang bulu atau akar bulu (*Merremia vitifolia*) dilakukan menggunakan metode *Ultrasound-Assisted Extraction* dengan menggunakan pelarut etanol 96%. Pengukuran total fenolik pada penelitian ini dilakukan menggunakan metode reagen *Follin-Ciocalteu* dan asam galat sebagai standar pembanding dalam menghitung kadar total fenolik, selanjutnya mengukur total flavonoid dengan kuersetin sebagai standar pembanding. Pengujian antioksidan dilakukan dengan metode uji DPPH untuk menghitung persentase IC₅₀ dan menentukan besarnya aktivitas antioksidan pada ekstrak etanol daun bilajang bulu. Pengujian antidiabetes pada penelitian ini menggunakan metode inhibitor enzim α -amilase dan acarbose sebagai kontrol untuk menghitung aktivitas antidiabetes pada ekstrak etanol daun bilajang bulu.

3.2. Tempat dan Waktu Penelitian

3.2.1. Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di beberapa tempat yaitu Laboratorium Botani, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung untuk melakukan determinasi tanaman. Invilab Bio Indonesia untuk melakukan GC-MS. Laboratorium Analisis Farmasi,

Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung untuk melakukan ekstraksi sampel, pembuatan larutan seperti; enzim α -amilase, pati 1%, dapar fosfat pH 7, seri konsentrasi ekstrak etanol 96% dan acarbose, lalu pengujian efek penghambatan pada; larutan blanko, acarbose dan sampel ekstrak etanol 96%.

3.2.2. Waktu Penelitian

Penelitian ini mulai dilakukan pada bulan Januari – Maret 2025.

3.3. Identitas Variabel Penelitian

3.3.1. Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah ekstrak kental etanol 96% daun bilajang bulu atau akar bulu (*Merremia vitifolia*).

3.3.2. Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah karakterisasi senyawa dengan metode *Gas Chromatography Mass Spectrometry* (GC-MS), kadar total fenolik dan flavonoid, aktivitas antioksidan ekstrak etanol 96% daun bilajang bulu atau akar bulu (*Merremia vitifolia*) dan aktivitas antidiabetes ekstrak etanol 96% daun bilajang bulu atau akar bulu (*Merremia vitifolia*) terhadap inhibitor enzim α -amilase.

3.4. Definisi Operasional

Tabel 3. Definisi Operasional

No	Variabel	Definisi	Cara Ukur	Hasil Ukur	Skala
1.	Karakter senyawa hasil GCMS	Karakter senyawa yang terdapat pada ekstrak etanol 96% daun bilajang bulu (<i>Merremia vitifolia</i>) menggunakan metode <i>Gas Chromatography Mass Spectrometry</i> (GC-MS)	Menganalisis spektrum massa yang mencapai detektor	Gambaran kromatogram atau spektrum	
2.	Kadar fenolik total	Kadar fenolik total pada ekstrak etanol 96% daun bilajang bulu (<i>Merremia vitifolia</i>)	Menghitung kadar fenolik total yang terkandung dalam ekstrak etanol 96% daun bilajang bulu (<i>Merremia vitifolia</i>) menggunakan metode <i>Follin Ciaocaltue</i> dengan asam galat sebagai pembanding	Kadar total fenolik (mg/GAE/g)	Rasio
3.	Kadar flavonoid total	Kadar flavonoid total pada ekstrak etanol 96% daun bilajang bulu (<i>Merremia vitifolia</i>)	Menghitung kadar flavonoid total yang terkandung dalam ekstrak etanol 96% daun bilajang bulu (<i>Merremia vitifolia</i>) menggunakan kuersetin sebagai pembanding	Kadar total flavonoid (mg/GAE/g)	Rasio
4.	Aktivitas antioksidan	Aktivitas antioksidan ekstrak etanol 96% daun bilajang bulu (<i>Merremia vitifolia</i>)	Menghitung inhibition concentration (IC ₅₀) dalam menghambat radikal bebas dari ekstrak etanol 96% daun bilajang bulu (<i>Merremia vitifolia</i>) menggunakan metode DPPH dan asam askorbat sebagai kontrol positif	Nilai IC ₅₀ (μL/mL)	Rasio

5.	Aktivitas antidiabetes	Menghitung inhibition concentration (IC_{50}) dalam penghambatan enzim α -amilase dari ekstrak etanol 96% daun bilajang bulu (<i>Merremia vitifolia</i>) menggunakan metode penghambatan enzim α -amilase dan acarbose sebagai kontrol	Nilai IC_{50} (μ L/mL)	Rasio
----	------------------------	--	-------------------------------	-------

3.5. Alat dan Bahan Penelitian

3.5.1. Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *handscoon*, masker, jas laboratorium, erlenMeyer (Iwaki), labu ukur (Pyrex), *beaker glass* (Iwaki), timbangan analitik (Shimadzu), blender, tabung reaksi (Iwaki), *hot plate* (Heidolph MR Hei-Standard), mikropipet, pH meter, oven, *ultrasound assisted extraction* (Ovan), *ultrasound bath* (Ika HB Digital), *rotary evaporator* (Buchi R-100), inkubator, vortek, kolom *perkin elmer elite -ms capillary column* -30m x 0.25 mm I. D. x 0.25 μ m, *Gas Chromatography Mass Spectrometry* (GC-MS) dan spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu 1800).

3.5.2. Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun bilajang bulu (*Merremia vitifolia*), pelarut etanol 96%, metanol p.a, aquades, enzim α -amilase, acarbose, asam klorida (HCl), feri klorida ($FeCl_3$) 5%, tepung kanji, pereaksi wagner, serbuk magnesium (Mg), asam sulfat (H_2SO_4), kloroform, kalium dihidrogen fosfat (KH_2PO_4) 0,2 M, natrium hidroksida (NaOH) 0,2 N, asam dinitrosalisilat (DNS), dimetil sulfoksida (DMSO), iodine, DPPH (1,1- diphenyl-2-picrylhydrazyl),

reagen *Follin-Ciocalteu*, asam galat, Natrium karbonat (Na_2CO_3), kuersetin, *Aluminium klorida* (AlCl_3) 10% dan asam asetat 5%.

3.6. Prosedur Penelitian

3.6.1. Determinasi Tanaman Bilajang Bulu

Determinasi tanaman dilakukan agar dapat mengidentifikasi tumbuhan yang diteliti secara akurat dan meminimalkan kesalahan yang dilakukan pada saat mengumpulkan bahan penelitian utama (Oktavia, 2022). Determinasi dilakukan sebagai perbandingan antara tanaman satu dan tanaman lain yang sudah diketahui sebelumnya, sehingga kebenaran dari jenis tanaman dapat diketahui (Nuraeni *et al*, 2021). Determinasi tanaman bilajang bulu (*Merremia vitifolia*) dilakukan di Laboratorium Botani Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.

3.6.2. Preparasi Sampel Daun Bilajang Bulu

Tanaman bilajang bulu (*Merremia vitifolia*) adalah tanaman liar yang diambil dari perumahan dosen Universitas Lampung, Kelurahan Gedung Meneng Baru, Kecamatan Rajabasa, Kota Bandar Lampung dan dipanen pada sore hari pukul 17.00–18.00 WIB yang memiliki kandungan kadar senyawa metabolit yang optimal karena intensitas dan kebutuhan cahaya pada proses fotosintesis telah berlangsung pada saat siang hari (Sari & Susilowati, 2023) yang dilakukan secara *purposive sampling* dengan memisahkan antara bagian batang, tangkai daun dan daun tanaman, kemudian bagian yang diambil adalah daun yang sudah tua, tidak berlubang, dan masih segar. Selanjutnya, dilakukan sortasi basah dengan memisahkan bahan-bahan asing serta kotoran yang menempel pada simplisia, sebelum dilakukan pencucian dan pengeringan sampel ditimbang terlebih dahulu untuk mengetahui berat simplisia yang didapat. Setelah itu, dilakukan pencucian dengan

air bersih yang mengalir untuk menghilangkan tanah yang menempel pada daun. Pengeringan simplisia dilakukan secara alami dengan diangin-anginkan diudara terbuka yang terlindung dari sinar matahari secara langsung sampai kering merata untuk mencegah kerusakan senyawa yang tidak stabil dalam pemanasan. Simplisia yang sudah kering dipisahkan dari bahan-bahan asing atau kotoran-kotoran, kemudian dihaluskan dengan menggunakan blender sampai menjadi serbuk (Dewatisari *et al.*, 2017).

3.6.3. Pembuatan Ekstrak

Ekstraksi dilakukan dengan menggunakan metode *Ultrasound-Assisted Extraction*. Serbuk simplisia daun bilajang bulu (*Merremia vitifolia*) 20 gram dilarutkan dalam etanol 96% sebanyak 200 mL dengan perbandingan ekstrak dan pelarut sebanyak 1:10. Dimasukkan kedalam sonikasi dengan lama waktu ekstraksi 25 menit pada frekuensi 40 kHz dan suhu 35°C, dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali dengan penggantian pelarut dengan yang baru. Setelah selesai, lakukan penyaringan dengan kertas saring, kemudian pemekatan dengan *vacuum rotary evaporator* pada suhu 50°C. Ekstrak dipanaskan di atas *hotplate* hingga menguap dan menghasilkan ekstrak yang kental (Annas *et al.*, 2023).

3.6.4. Perhitungan Rendemen Ekstrak

Rendemen adalah perbandingan berat simplisia dan berat ekstrak yang dihasilkan. Perhitungan nilai rendemen untuk mengetahui kadar dari metabolit sekunder yang terbawa didalam pelarut, namun tidak dapat menganalisis jenis senyawa metabolit yang terkandung (Sari *et al.*, 2021). Nilai persentase rendemen yang tinggi, maka semakin banyak hasil dari ekstrak yang didapatkan. Nilai persentase rendemen ekstrak etanol 96% daun bilajang bulu (*Merremia vitifolia*) dapat dihitung dengan rumus berikut (Alfiani, 2022).

$$\text{Rendemen ekstrak (\%)} = \frac{\text{berat ekstrak yang dihasilkan (g)}}{\text{berat simplisia yang digunakan (g)}} \times 100\%$$

3.6.5. Uji Fitokimia Ekstrak Daun Bilajang Bulu

Pengujian fitokimia dilakukan untuk memastikan kandungan senyawa metabolit aktif yang terkandung dalam daun bilajang bulu (*Merremia vitifolia*).

1) Uji Alkaloid (*Wagner's test*)

Tambahkan 2 tetes pereaksi *wagner* kedalam tabung reaksi yang sudah terdapat 1 mL ekstrak. Terbentuknya endapan warna coklat menandakan adanya senyawa alkaloid (Oktavia *et al*, 2020).

2) Uji Flavonoid (*Lead Acetate test*)

Tambahkan timbal asetat 10% ($\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$) kedalam tabung reaksi yang sudah terdapat 1 mL ekstrak. Terbentuknya endapan kuning menandakan adanya senyawa flavonoid (Kalauni *et al.*, 2024).

3) Uji Saponin (*foam test/frothing test*)

Tambahkan 10 mL air hangat pada 1 mL ekstrak di dalam tabung reaksi lalu didinginkan dan dikocok selama 10 detik. Terbentuknya buih atau lapisan busa yang stabil tidak kurang dari 10 menit menandakan adanya senyawa saponin (Qomaliyah *et al.*, 2023).

4) Uji Fenolik (*ferric chloride test*)

Tambahkan 2 mL larutan ferri klorida (FeCl_3) 5% pada 2 mL ekstrak di dalam tabung reaksi. Terbentuknya warna biru kehitaman menandakan bahwa reaksi positif dari senyawa fenolik (Rajkumar & Vinotha, 2022).

5) Uji Tanin (*Braymer's test*)

Tambahkan 4 tetes larutan ferri klorida (FeCl_3) 5% pada 2 mL ekstrak di dalam tabung reaksi. Terbentuknya warna hijau tua atau adanya endapan hijau kebiruan menandakan bahwa reaksi positif dari senyawa tanin (Kalauni *et al.*, 2024).

6) Uji Steroid dan Triterpenoid (Liebermann-Burchard)

Tambahkan 2 mL sampel ke tabung reaksi kemudian ditambahkan 1 mL asam asetat glasial ($\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2$) dan 5 tetes asam sulfat (H_2SO_4) pekat, lalu tunggu beberapa menit. Adanya triterpenoid ditunjukkan dengan terbentuknya cincin berwarna kecoklatan atau violet, sedangkan adanya steroid ditunjukkan dengan terbentuknya cincin berwarna biru atau kehijauan (Salsabila *et al.*, 2025).

3.6.6. GC-MS Ekstrak Etanol 96% Bilajang Bulu

Melarutkan ekstrak kental daun bilajang bulu (*Merremia vitifolia*) dengan sedikit pelarut etanol 96%, lalu dihomogenkan menggunakan vortex dan didiamkan selama 30 menit. Siapkan larutan sebanyak 5 μL menggunakan metode split (aliran terpisah) 10:1. Gas pembawa yang digunakan adalah helium dengan laju alir pembawa 1 $\mu\text{L}/\text{menit}$ dan menggunakan kolom *Perkin Elmer, Elite-5ms Capillary Column* - 30m x 0.25 mm I.D. x 0.25 μm . Mengatur temperatur injeksi pada suhu 250°C dan temperatur sumber ion pada suhu 230°C. Oven diatur dahulu pada suhu 110°C dibiarkan selama 0°C/menit, lalu dinaikan 1°C/menit sampai 150°C ditahan selama 1 menit, setelah itu dinaikkan 20°C/menit sampai mencapai 280°C dan dibiarkan selama 26 menit. Spektrometri Massa (MS) mengambil pada 70 eV (Misrahanum *et al.*, 2022).

3.6.7. Pengukuran Fenolik Total Ekstrak Etanol 96% Bilajang Bulu

1. Pembuatan Larutan Induk Asam Galat

Larutan induk asam galat dibuat sebanyak 1000 $\mu\text{g/mL}$ dengan menimbang 10 gram asam galat lalu dilarutkan pada labu ukur 10 mL dengan metanol p.a sampai tanda batas (Hidayatullah *et al.*, 2023).

2. Penetapan panjang gelombang maksimum (λ_{maks}) asam galat

Larutan asam galat dengan konsentrasi 50 $\mu\text{g/mL}$ dipipet sebanyak 0,5 mL, lalu ditambahkan 5 mL reagen *Follin-Ciocalteu* dan didiamkan selama 5 menit. Selanjutnya, tambahkan Na_2CO_3 sebanyak 4 mL dikocok hingga homogen dan didiamkan selama 30 menit pada tempat gelap suhu 25%. Absorbansi diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 600-800 nM (Hidayatullah *et al.*, 2023).

3. Pembuatan Kurva Baku Asam Galat

Larutan induk asam galat 1000 $\mu\text{g/mL}$ diencerkan menjadi beberapa seri konsentrasi 20, 40, 50, dan 60 $\mu\text{g/mL}$. Dari masing-masing seri konsentrasi diambil sebanyak 0,5 mL lalu dimasukkan ke dalam vial dan tambahkan reagen *Follin-Ciocalteu* yang sebelumnya telah diencerkan menggunakan aquades dalam perbandingan 1:10, kemudian didiamkan selama 5 menit. Selanjutnya, tambahkan Na_2CO_3 sebanyak 4 mL dikocok hingga homogen dan didiamkan selama 30 menit pada tempat gelap suhu 25%. Kemudian setiap masing-masing seri konsentrasi diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang asam galat yang sudah didapatkan (Hidayatullah *et al.*, 2023).

4. Penetapan Kadar Total Fenolik

Ditimbang sebanyak 10 mg ekstrak kental diencerkan menggunakan metanol p.a sebanyak 10 mL, lalu dipipet sebanyak 0,5 mL larutan ekstrak dan tambahkan reagen *Follin-Ciocalteu*

yang sebelumnya telah diencerkan menggunakan aquades dalam perbandingan 1:10, kemudian didiamkan selama 5 menit. Selanjutnya, tambahkan Na_2CO_3 sebanyak 4 mL dikocok hingga homogen dan didiamkan selama 30 menit pada tempat gelap suhu 25%. Kemudian diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang asam galat yang sudah didapatkan (Hidayatullah *et al.*, 2023).

3.6.8. Pengukuran Flavonoid Total Ekstrak Etanol 96% Bilajang Bulu

1. Pembuatan Larutan Induk Kuersetin

Larutan induk kuersetin dibuat sebanyak 1000 $\mu\text{g/mL}$ dengan menimbang 10 gram kuersetin lalu dilarutkan pada labu ukur 10 mL dengan menambahkan 10 mL metanol p.a sampai tanda batas (Hidayatullah *et al.*, 2023).

2. Penetapan Panjang Gelombang Maksimum (λ_{maks}) Kuersetin

Larutan kuersetin dengan seri konsentrasi 60 $\mu\text{g/mL}$ dipipet sebanyak 0,5 mL, lalu ditambahkan 0,5 mL AlCl_3 10% dan asam asetat 5% sebanyak 4 mL. Selanjutnya, dikocok hingga homogen dan didiamkan selama 30 menit. Absorbansi diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 370-450 nM (Hidayatullah *et al.*, 2023).

3. Pembuatan Kurva Baku Kuersetin

Larutan induk kuersetin 1000 $\mu\text{g/mL}$ diencerkan menjadi beberapa seri konsentrasi 20, 40, 60, dan 100 $\mu\text{g/mL}$. Dari masing-masing seri konsentrasi diambil sebanyak 0,5 mL lalu direaksikan dengan 0,5 mL AlCl_3 10% dan asam asetat 5% sebanyak 4 mL, lalu didiamkan selama 30 menit. Kemudian setiap masing-masing seri konsentrasi diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang kuersetin yang sudah didapatkan (Hidayatullah *et al.*, 2023).

4. Penetapan Kadar Total Flavonoid

Ditimbang sebanyak 10 mg ekstrak kental diencerkan menggunakan metanol p.a sebanyak 10 mL, lalu dipipet sebanyak 0,5 mL larutan ekstrak dimasukkan dalam tabung reaksi dan tambahkan 0,5 mL AlCl_3 10% dan asam asetat 5% sebanyak 4 mL didiamkan selama 30 menit. Kemudian setiap masing-masing seri konsentrasi diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang kuersetin yang sudah didapatkan (Hidayatullah *et al.*, 2023).

3.6.9. Uji Antioksidan Ekstrak Etanol 96% Bilajang Bulu

1. Pembuatan larutan induk DPPH

Ditimbang sebanyak 15,8 mg serbuk DPPH dan dilarutkan menggunakan metanol p.a dalam labu ukur 100 mL sampai tanda batas, akhirnya didapatkan konsentrasi larutan DPPH sebanyak 0,3 mM. Kemudian diletakkan dalam botol gelap dengan ditutup aluminium foil agar menghindari kerusakan larutan (Pratiwi *et al.*, 2023).

2. Pembuatan Larutan Blanko dan Penentuan Panjang Gelombang Maksimal DPPH

Ditambahkan sebanyak 2 mL larutan DPPH 0,3 mM pada labu ukur 10 mL dan metanol p.a sampai tanda batas, dikocok hingga homogen dan ditutup dengan aluminium foil dan disimpan pada ruang tertutup selama 30 menit. Selanjutnya, membaca nilai absorbansi pada panjang gelombang 400-800 nM menggunakan spektrofotometer UV-Vis (Islamiyati *et al.*, 2024).

3. Pembuatan Larutan Kontrol Positif Asam Askorbat dan Penentuan Panjang Gelombang Maksimal

Larutkan 10 mg serbuk asam askorbat dengan metanol p.a dalam labu ukur 10 mL. Dibuat konsentrasi sebesar 1, 2, 3, 4 dan 5 $\mu\text{g/mL}$ dengan mengambil 10, 20, 30, 40 dan 50 μL lalu dimasukkan kedalam labu ukur 10 mL tambahkan metanol p.a. Pada tiap konsentrasi seri dipipet sebanyak 1 mL kedalam tabung reaksi lalu tambahkan larutan DPPH 0,3 mM sebanyak 1 mL dan ditambahkan 3 mL metanol p.a. Labu ukur ditutup menggunakan aluminium foil, dikocok hingga homogen dan disimpan dalam ruangan gelap selama 30 menit. Selanjutnya, membaca nilai absorbansi pada panjang gelombang DPPH menggunakan spektrofotometer UV-Vis (Pratiwi *et al.*, 2023).

4. Pembuatan Larutan Sampel Ekstrak Daun Bilajang Bulu (*Merremia vitifolia*) dan Penentuan Panjang Gelombang Maksimal

Ditimbang sebanyak 10 mg ekstrak etanol 96% daun bilajang bulu dilarutkan dalam metanol p.a 10 mL sampai tanda batas, sehingga dihasilkan konsentrasi 1000 $\mu\text{g/mL}$. Kemudian di pipet 1 mL larutan etanol 96% daun bilajang bulu 1000 $\mu\text{g/mL}$ dan dimasukkan dalam labu ukur 10 mL lalu tambahkan metanol p.a hingga tanda batas, untuk mendapatkan seri konsentrasi 80, 100, 120, 140 dan 160 $\mu\text{g/mL}$, dengan mengambil 0,8; 1; 1,2; 1,4 dan 1,6 mL lalu dimasukkan kedalam labu ukur 10 mL tambahkan metanol p.a sampai tanda batas. Pada tiap konsentrasi seri dipipet sebanyak 1 mL kedalam tabung reaksi lalu tambahkan larutan DPPH 0,3 mM sebanyak 1 mL dan ditambahkan 3 mL metanol p.a. Labu ukur ditutup menggunakan aluminium foil, dikocok hingga homogen dan disimpan dalam ruangan gelap selama 30 menit. Selanjutnya, membaca nilai absorbansi pada panjang

gelombang DPPH menggunakan spektrofotometer UV-Vis (Pratiwi *et al.*, 2023).

5. Penghitungan Aktivitas Antioksidan Dengan Metode DPPH

Aktivitas antioksidan didapatkan dari nilai absorbansi sampel yang diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis yang diatur pada panjang gelombang DPPH yang diperoleh. Dianalisis nilai absorbansi melalui perhitungan persen penangkapan radikal bebas (% inhibisi) dengan rumus berikut (Mintadoa *et al.*, 2024):

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{\text{Absorpsi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

3.6.10. Uji Aktivitas Antidiabetes Ekstrak Etanol 96% Bilajang Bulu

3.6.10.1 Metode DNSA (3, 5-dinitrosalicylic acid assay)

1. Pembuatan Enzim α -amilase

Ditimbang 500 mg enzim α -amilase, kemudian dilarutkan menggunakan aquades dalam *beaker glass* sampai homogen. Setelah larutan homogen dipindahkan kedalam labu ukur, tambahkan aquades hingga 100 mL dan kocok untuk memastikan homogenitas (Alfiani, 2022).

2. Pembuatan Larutan Pati 1%

Ditimbang pati sebanyak 500 mg kemudian dilarutkan menggunakan aquades dalam labu ukur 50 mL (Alfiani, 2022).

3. Pembuatan Seri Konsentrasi Ekstrak Etanol 96%

Bilajang Bulu

Ditimbang 10 mg ekstrak etanol 96% daun bilajang bulu (*Merremia vitifolia*) dilarutkan dengan dimetil

sulfoksida (DMSO) sebanyak 3 tetes, dilakukan penambahan dapar fosfat pH 7 hingga 10 mL di dalam labu ukur untuk mendapatkan konsentrasi 1000 $\mu\text{g/mL}$. Dari konsentrasi 1000 $\mu\text{g/mL}$ ekstrak etanol dilakukan pengenceran hingga dihasilkan seri konsentrasi 20, 25, 30, 35 dan 40 $\mu\text{g/mL}$ (Alfiani, 2022).

5. Pembuatan Seri Konsentrasi Acarbose

Membuat acarbose konsentrasi 1000 $\mu\text{g/mL}$ dalam labu ukur 100 mL dengan menimbang 100 mg acarbose dan menambahkan 100 mL dapar fosfat pH 7. Pengenceran dilakukan dari konsentrasi 1000 $\mu\text{g/mL}$ untuk menghasilkan seri konsentrasi 2, 4, 6, 8 dan 10 $\mu\text{g/mL}$ (Alfiani, 2022).

6. Pengujian Efek Penghambatan Larutan Blanko

Ditambahkan 125 μL dimetil sulfoksida (DMSO), larutan pati 1 % 125 μL , dan 125 μL buffer fosfat pH 7 lalu diinkubasi selama 5 menit pada suhu 37°C. Setelah itu, tambahkan 125 μL enzim α -amilase dan diinkubasi kembali selama 10 menit pada suhu 37°C. Reaksinya dihentikan dengan penambahan larutan asam dinitrosalisilat (DNS) 250 μL lalu diinkubasi dengan air mendidih hingga berubah warna menjadi kemerahan. Setelah itu didinginkan larutan hingga suhu ruang dan diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 540 nM (Kifle & Engidaw, 2020):

7. Pengujian Efek Penghambatan Larutan Blanko Kontrol

Ditambahkan 125 μL dimetil sulfoksida (DMSO), larutan pati 1 % 125 μL , dan 125 μL buffer fosfat lalu

diinkubasi selama 5 menit pada suhu 37°C. Setelah itu, tambahkan 125 µL buffer fosfat dan diinkubasi kembali selama 10 menit pada suhu 37°C. Reaksinya dihentikan dengan penambahan larutan asam dinitrosalisilat (DNS) 250 µL lalu diinkubasi dengan air mendidih hingga terlihat perubahan warna menjadi kekuningan. Setelah itu didinginkan larutan hingga suhu ruang dan diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 540 nM (Kifle & Engidaw, 2020):

8. Pengujian Efek Penghambatan Acarbose

Ditambahkan 125 µL larutan pati 1 %, 125 µL buffer fosfat pH 7 dan 125 µL larutan acarbose dengan konsentrasi 2, 4, 6, 8 dan 10 µg/mL, lalu diinkubasi dengan suhu 37°C selama 5 menit. Kemudian ditambahkan 125 µL enzim α -amilase dan diinkubasi kembali selama 10 menit pada suhu 37°C. Reaksinya dihentikan dengan penambahan larutan asam dinitrosalisilat 250 µL, lalu diinkubasi dengan air mendidih hingga berubah warna menjadi kemerahan. Setelah itu didinginkan larutan hingga suhu ruang dan diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 540 nM (Kifle & Engidaw, 2020):

9. Pengujian Efek Penghambatan Acarbose Kontrol

Ditambahkan 125 µL larutan pati 1 %, 125 µL buffer fosfat pH 7 dan 125 µL larutan acarbose dengan konsentrasi 2, 4, 6, 8 dan 10 µg/mL, lalu diinkubasi dengan suhu 37°C selama 5 menit.. Kemudian ditambahkan 125 µL buffer fosfat pH 7 dan diinkubasi

kembali selama 10 menit pada suhu 37°C. Reaksinya dihentikan dengan penambahan larutan asam dinitrosalisilat 250 µL, lalu diinkubasi dengan air mendidih terlihat perubahan warna menjadi kekuningan. Setelah itu didinginkan larutan hingga suhu ruang dan diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 540 nM (Kifle & Engidaw, 2020):

10. Pengujian Efek Penghambatan Larutan Sampel

Ditambahkan 125 µL larutan pati 1 %, 125 µL buffer fosfat pH 7 dan 125 µL ekstrak etanol 96% daun bilajang bulu (*Merremia vitifolia*) dengan konsentrasi 20, 25, 30, 35 dan 40 µg/mL, lalu diinkubasi dengan suhu 37°C selama 5 menit. Kemudian ditambahkan 125 µL enzim α-amilase dan diinkubasi kembali selama 10 menit pada suhu 37°C. Reaksinya dihentikan dengan penambahan larutan asam dinitrosalisilat 250 µL lalu diinkubasi dengan air mendidih hingga berubah warna menjadi kemerahan. Setelah itu didinginkan larutan hingga suhu ruang dan diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 540 nM (Kifle & Engidaw, 2020):

11. Pengujian Efek Penghambatan Larutan Sampel Kontrol

Ditambahkan 125 µL larutan pati 1 %, 125 µL buffer fosfat pH 7 dan 125 µL ekstrak etanol 96% daun bilajang bulu (*Merremia vitifolia*) dengan konsentrasi 20, 25, 30, 35 dan 40 µg/mL, lalu diinkubasi dengan suhu 37°C selama 5 menit. Kemudian ditambahkan 125 µL buffer fosfat pH 7 dan diinkubasi kembali selama 10 menit pada suhu 37°C. Reaksinya dihentikan dengan

penambahan larutan asam dinitrosalisilat 250 μ L lalu diinkubasi dengan air mendidih hingga berubah warna menjadi kemerahan. Setelah itu didinginkan larutan hingga suhu ruang dan diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 540 nm (Kifle & Engidaw, 2020):

12. Perhitungan % Aktivitas Penghambatan Enzim

Untuk menentukan nilai penghambatan ekstrak atau sampel terhadap enzim α -amilase, dapat gunakan rumus berikut (Kifle & Engidaw, 2020):

$$\text{Penghambatan (\%)} = \frac{Ac-As}{Ac} \times 100\%$$

Keterangan:

Ac: Absorbansi Control (larutan blanko - blanko kontrol)

As: Absorbansi Sampel (larutan sampel - sampel kontrol)

3.6.10.2 Metode *Starch-Iodine colour assay*

1. Pembuatan Enzim α -amilase

Ditimbang 500 mg enzim α -amilase, kemudian dilarutkan menggunakan aquades dalam *beaker glass* sampai homogen. Setelah larutan homogen dipindahkan kedalam labu ukur, tambahkan aquades hingga 100 mL dan kocok untuk memastikan homogenitas (Alfiani, 2022).

2. Pembuatan Larutan Pati 1%

Ditimbang pati sebanyak 500 mg kemudian dilarutkan menggunakan aquades dalam labu ukur 50 mL (Alfiani, 2022).

3. Pembuatan Seri Konsentrasi Ekstrak Etanol 96% Bilajang Bulu

Ditimbang 10 mg ekstrak etanol 96% daun bilajang bulu (*Merremia vitifolia*) dilarutkan dengan dimetil sulfoksida (DMSO) sebanyak 3 tetes, dilakukan penambahan dapar fosfat pH 7 hingga 10 mL di dalam labu ukur untuk mendapatkan konsentrasi 1000 $\mu\text{g/mL}$. Dari konsentrasi 1000 $\mu\text{g/mL}$ ekstrak etanol dilakukan pengenceran hingga dihasilkan seri konsentrasi 20; 25, 30, 35 dan 40 $\mu\text{g/mL}$ (Alfiani, 2022).

4. Pembuatan Seri Konsentrasi Acarbose

Membuat acarbose konsentrasi 1000 $\mu\text{g/mL}$ dalam labu ukur 100 mL dengan menimbang 100 mg acarbose dan menambahkan 100 mL dapar fosfat pH 7. Pengenceran dilakukan dari konsentrasi 1000 $\mu\text{g/mL}$ untuk menghasilkan seri konsentrasi 2, 4, 6, 8 dan 10 $\mu\text{g/mL}$ (Alfiani, 2022).

5. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Ditambahkan 250 μL buffer fosfat pH 7, larutan pati 1 % 250 μL dan enzim α -amilase 250 μL kedalam tabung reaksi, lalu diinkubasi selama 15 menit pada suhu 37°C. Setelah itu, reaksinya dihentikan dengan penambahan HCl 1N 20 μL dan larutan iodine 200 μL . Digojok hingga berubah warna menjadi biru tua dan lakukan pengukuran pada panjang gelombang 400-800 nM

menggunakan spektrofotometer UV-Vis (Alfiani, 2022).

6. Pengujian Efek Penghambatan Larutan Blanko

Ditambahkan 250 μ l buffer fosfat pH 7, larutan pati 1 % 250 μ L dan enzim α -amilase 250 μ L kedalam tabung reaksi, lalu diinkubasi selama 15 menit pada suhu 37°C. Setelah itu, reaksinya dihentikan dengan penambahan HCl 1N 20 μ L dan larutan iodine 200 μ L. Digojok hingga terlihat perubahan warna menjadi biru tua dan diukur absorbansinya dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang yang telah didapatkan (J.Ononamadu *et al.*, 2020).

7. Pengujian Efek Penghambatan Larutan Blanko Kontrol

Ditambahkan 500 μ l buffer fosfat pH 7 dan larutan pati 1 % 250 μ L kedalam tabung reaksi, lalu diinkubasi selama 15 menit pada suhu 37°C. Setelah itu, reaksinya dihentikan dengan penambahan HCl 1N 20 μ L dan larutan iodine 200 μ L. Digojok hingga terlihat perubahan warna menjadi kuning dan diukur absorbansinya dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang yang telah didapatkan (J.Ononamadu *et al.*, 2020).

13. Pengujian Efek Penghambatan Acarbose

Ditambahkan 250 μ l larutan acarbose dengan konsentrasi 2, 4, 6, 8 dan 10 μ g/mL, 250 μ l buffer fosfat pH 7, larutan pati 1 % 250 μ L dan enzim α -amilase 250 μ L kedalam tabung reaksi, lalu diinkubasi selama 15 menit pada suhu 37°C. Setelah itu, reaksinya dihentikan dengan penambahan HCl 1N 20 μ L dan

larutan iodine 200 μL . Digojok hingga terlihat perubahan warna menjadi biru tua dan diukur absorbansinya dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang yang telah didapatkan (J.Ononamadu *et al.*, 2020).

14. Pengujian Efek Penghambatan Acarbose Kontrol

Ditambahkan 250 μl larutan acarbose dengan konsentrasi 2, 4, 6, 8 dan 10 $\mu\text{g/mL}$, 500 μl buffer fosfat pH 7 dan larutan pati 1 % 250 μL kedalam tabung reaksi, lalu diinkubasi selama 15 menit pada suhu 37°C . Setelah itu, reaksinya dihentikan dengan penambahan HCl 1N 20 μL dan larutan iodine 200 μL . Digojok hingga terlihat perubahan warna menjadi kuning dan diukur absorbansinya dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang yang telah didapatkan (J.Ononamadu *et al.*, 2020).

15. Pengujian Efek Penghambatan Larutan Sampel

Ditambahkan 250 μl larutan acarbose dengan konsentrasi 20, 25, 30, 35 dan 40 $\mu\text{g/mL}$, 250 μl buffer fosfat pH 7, larutan pati 1 % 250 μL dan enzim α -amilase 250 μL kedalam tabung reaksi, lalu diinkubasi selama 15 menit pada suhu 37°C . Setelah itu, reaksinya dihentikan dengan penambahan HCl 1N 20 μL dan larutan iodine 200 μL . Digojok hingga terlihat perubahan menjadi biru tua dan diukur absorbansinya dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang yang telah didapatkan (J.Ononamadu *et al.*, 2020).

16. Pengujian Efek Penghambatan Larutan Sampel Kontrol
 Ditambahkan 250 μ l larutan acarbose dengan konsentrasi 20, 25, 30, 35 dan 40 μ g/mL, 500 μ l buffer fosfat pH 7 dan larutan pati 1 % 250 μ L kedalam tabung reaksi, lalu diinkubasi selama 15 menit pada suhu 37°C. Setelah itu, reaksinya dihentikan dengan penambahan HCl 1N 20 μ L dan larutan iodine 200 μ L. Digojok hingga terlihat perubahan warna menjadi kuning dan diukur absorbansinya dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang yang telah didapatkan (J.Ononamadu *et al.*, 2020).

17. Perhitungan % Aktivitas Penghambatan Enzim

Untuk menentukan nilai penghambatan ekstrak atau sampel terhadap enzim α -amilase, dapat gunakan rumus berikut (Kifle & Engidaw, 2020):

$$\text{Penghambatan (\%)} = \frac{A_c - A_s}{A_c} \times 100\%$$

Keterangan:

A_c : Absorbansi Control (larutan blanko - blanko kontrol)

A_s : Absorbansi Sampel (larutan sampel - sampel kontrol)

Konsentrasi sampel yang dapat menghambat aktivitas enzim hingga 50% atau dikenal sebagai *Inhibition Concentration* 50% (IC_{50}) digunakan untuk menyatakan aktivitas penghambatan. Persamaan regresi linier adalah rumus awal yang digunakan dalam menghitung nilai IC_{50} :

$$Y = bx + a$$

Kemudian, nilai IC_{50} dapat dihasilkan dari nilai x , setelah mensubstitusi $y=50$

$$X = \frac{y+a}{b}$$

Perhitungan nilai IC_{50} didapatkan dengan menerapkan rumus berikut:

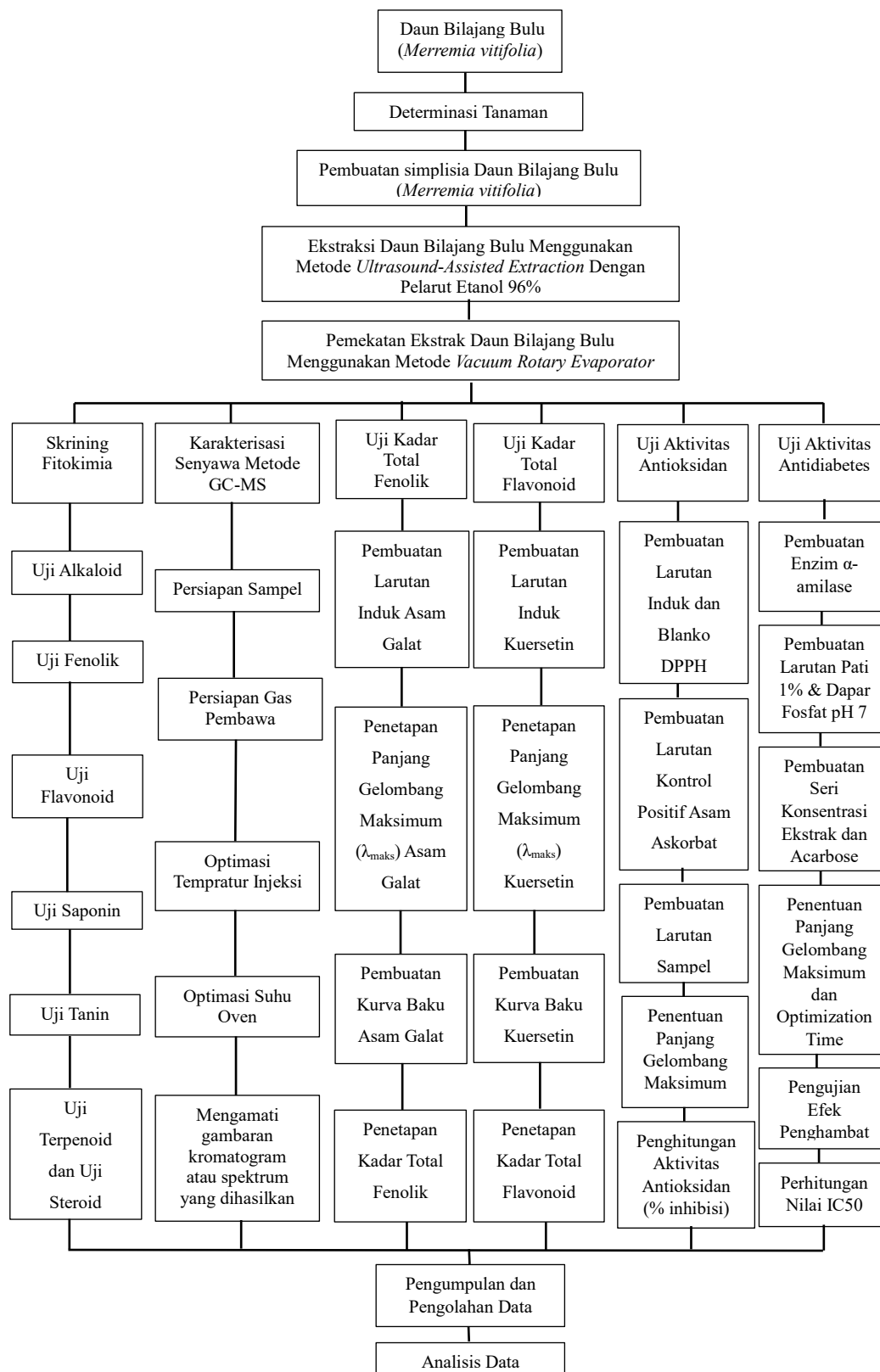
$$IC_{50} = \frac{50-a}{b}$$

Keterangan:

a: variabel konstanta

b: koefisien arah regresi linier

3.7 Alur Penelitian



Gambar 16. Alur Penelitian.

3.8 Analisis Data

Data yang dihasilkan dari pengamatan langsung seperti nilai absorbansi dari setiap konsentrasi, lalu diolah kedalam tabel dan dibuat grafik dengan perangkat lunak *Microsoft Excel* dan *Statistical Packages for Social Science* (SPSS). Aktivitas antidiabetes dilakukan uji normalitas untuk melihat distribusi data, selanjutnya uji homogenitas data dan dilanjutkan uji statistik analisis bivariat untuk melihat aktivitas ekstrak etanol 96%. Uji statistik *independen t-test* digunakan jika data aktivitas terdistribusi secara normal, dan uji statistik *mann whitney* digunakan jika data tidak terdistribusi normal. Selanjutnya, dilakukan uji korelasi antara kadar fenolik total dan kadar flavonoid total terhadap aktivitas antioksidan, selain itu dilakukan juga uji korelasi antara aktivitas antioksidan dan antidiabetes menggunakan metode *Pearson Correlation*. Perbedaan antara metode DNSA (3, 5-dinitrosalicylic acid assay) dan *Starch-Iodine colour assay* dalam uji aktivitas antidiabetes dilakukan uji menggunakan metode *Paired Samples T-Test*.

BAB V

SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan, didapatkan kesimpulan bahwa:

1. Ekstrak etanol 96% daun bilajang bulu (*Merremia vitifolia*) yang diekstraksi menggunakan metode *Ultrasound Assisted Extraction* mengandung senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, fenolik, flavonoid, saponin, tanin dan steroid. Pada metode GC-MS mengandung 21 senyawa dan berdasarkan persentase areanya yang tertinggi adalah patchouli alcohol, ergosta-14,22-dien-3-ol, (3.beta.,5.alpha.,22E), seychellene, phytol dan Azulene, 1,2,3,5,6,7,8,8a-octahydro-1,4-dimethyl-7-(1methylethenyl),[1S(1.alpha.,7.alpha., 8a.beta)].
2. Ekstrak etanol 96% daun bilajang bulu (*Merremia vitifolia*) memiliki kadar total fenolik sebesar 66,62 mg GAE/g dan kadar total flavonoid sebesar 55,85 mg QE/g.
3. Ekstrak etanol 96% daun bilajang bulu (*Merremia vitifolia*) memiliki nilai IC_{50} sebesar 89,552 μ L/mL yang termasuk kategori kuat, sedangkan asam askorbat sebesar 0,816 μ L/mL yang termasuk kategori sangat kuat.
4. Ekstrak etanol 96% daun bilajang bulu (*Merremia vitifolia*) pada metode DNSA (3, 5-dinitrosalicylic acid assay) memiliki nilai IC_{50} 46,18 μ L/mL dan nilai IC_{50} acarbose sebesar 19,96 μ L/mL, sedangkan pada metode *Starch-Iodine colour assay* nilai IC_{50} acarbose sebesar

8,316 $\mu\text{L/mL}$ dan nilai IC_{50} ekstrak etanol 96% daun bilajang bulu (*Merremia vitifolia*) sebesar 28,886 $\mu\text{L/mL}$.

5. Aktivitas antioksidan dengan aktivitas antidiabetes metode DNSA (3, 5-dinitrosalicylic acid assay) dan Starch-Iodine colour assay menunjukkan nilai *Pearson Correlations* termasuk dalam korelasi dengan kategori sempurna.
6. Aktivitas antidiabetes pada ekstrak etanol 96% daun bilajang bulu (*Merremia vitifolia*) dengan metode DNSA (3, 5-dinitrosalicylic acid assay) dan metode Starch-Iodine colour assay menunjukan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan.

5.2 Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, maka peniulis menyarankan:

1. Perlu dilakukan perhitungan kadar senyawa metabolit sekunder lain yang terkandung dalam sampel agar dapat mengetahui senyawa metabolit sekunder dengan lebih spesifik.
2. Perlu dilakukannya uji aktivitas antidiabetes enzim α -amilase dari daun bilajang bulu (*Merremia vitifolia*) dengan menggunakan metode ekstraksi dan jenis pelarut yang berbeda ataupun dengan proses fraksinasi.
3. Perlu dilakukannya pengujian aktivitas antidiabetes pada daun bilajang bulu (*Merremia vitifolia*) secara in-vivo untuk mendukung hasil pegujian secara in-vitro pada penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Abriyani, E., *et al.* (2022). Analisis Kafein Menggunakan Metode Uv-Vis. Jurnal Pendidikan dan Konseling, 4 (6), 32-39. <https://doi.org/10.31004/jpdk.v4i6.10610>.
- Abriyani, E., *et al.* (2023). Analisis Kadar Kafein Kopi, Teh dan Coklat Menggunakan Metode Spektrofotometri Uv-Vis. Journal of Comprehensive Science, 2 (1), 7-15. <https://doi.org/10.59188/jcs.v2i1.178>.
- Adhayani, L., Rasistia R., and Rima, R. (2021). *Antibacterial Inhibitory Capacity of Aceh Patchouli Essential Oil (Pogostemon cablin Benth.) against Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus (MRSA)*. Indonesian Journal of Pharmacy, 18 (1), 130-137. <https://dx.doi.org/10.30595/pharmacy.v18i1.8938>.
- Adriani, N., Nuryanti, & Maimun. (2017). Mekanisme Reaksi Substitusi Nukleofilik SN1 Dan SN2 Dengan Senyawa Halogen Organik. Universitas Maritim Raja Ali Haji. <https://www.researchgate.net/publication/331545171>.
- Agatonovic-Kustrin, S., & Morton, D. W. (2017). *High-performance thin-layer chromatography HPTLC-direct bioautography as a method of choice for alpha-amylase and antioxidant activity evaluation in marine algae*. Journal of Chromatography A, 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2017.11.024>.
- Agnisia, N. N., Suhartono and Essy, H. (2024). *Antibacterial Activity of Ethanol Extract of Aceh Patchouli Leaves (Pogostemon cablin Benth.) against Enterococcus faecalis: A Potential Alternative for Root Canal Infections*. Trends In Sciences, 21(11), 1-12. <https://doi.org/10.48048/tis.2024.8467>

- Akter, S., et al. (2021). *Pharmacological insights into Merremia vitifolia Hallier f. leaf for its antioxidant, thrombolytic, anti-arthritis and anti-nociceptive potential*. *BiosciRep*, 41 (1), 1-15. <https://doi.org/10.1042/BSR20203022>.
- Alara, O. R., Nour, H. A. and Chinonso, I. U. (2021). *Extraction of phenolic compounds: A review*. *Curr Res Food Sci*, 2 (4), 200-214. <https://doi.org/10.1016/j.crfs.2021.03.011>.
- Aldiwa, N. F., Buana, B., and Ardi, E. M. (2024). *Effectiveness of Chaya Leaf Extract (Cnidoscolus aconitifolius) Inhibition on Vibrio harveyi Bacteria*. *Diwa Bahari Research Journal*, 2 (2), 123-130. <https://ejurnal.itbm.ac.id/jbd>.
- 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 (15), 335-346. <https://doi.org/10.5281/zenodo.7049485>.
- Al-Ishaq, R.K., et al . (2019). *Flavonoids and Their AntiDiabetic Effects: Cellular Mechanisms and Effects to Improve Blood Sugar Levels*. *Biomolecules*, 9(9),1-35. <https://doi.org/10.3390%2Fbiom9090430>.
- Alqahtani, A. S., et al. (2019). *Alpha-Amylase and Alpha-Glucosidase Enzyme Inhibition and Antioxidant Potential of 3-Oxolupenal and Katononic Acid Isolated from Nuxia Oppositifolia*. *Biomolecules*, 10(1), 61. <https://doi.org/10.3390/biom10010061>.
- American Diabetes Association. (2023). *Etiology, Epidemiology, and Disparities in the Burden of Diabetic Foot Ulcers*. *Diabetes Care*, 46(1). <https://doi.org/10.2337/dci22-0043>.
- Annas, Z. F., et al. (2023). Penentuan kadar flavonoid total ekstrak dan fraksi-fraksi daun mangrove (*Avicennia marina*). *Jurnal Agrotek UMMAT*, 10(3), 271-282. <https://doi.org/10.31764/jau.v10i3.16596>.
- Anugrahini, P. H. dan Arifah, S.W. (2021). Aktivitas Antidiabetes Tanaman Tradisional Di Pulau Jawa. *Jurnal Farmasi Indonesia*. Edisi Khusus (Rakerda-Seminar IAI Jateng), 120–131. <https://bit.ly/40dpzDB>.
- Astika, R. Y., Fathnur, S. K., dan Elisma. (2022). Uji Aktivitas Antiinflamasi Ekstrak Etanol Daun Kayu Manis (*Cinnamomum burmanni*) Pada Mencit

- Putih Jantan. Jurnal Ilmiah Manuntung: Sains Farmasi dan Kesehatan, 8 (1), 14-23. <https://doi.org/10.51352/jim.v8i1.465>
- Ayu, H. R., Suryono, S., dan Jatmiko, E. S. (2020). Rancang Bangun Sistem Ultrasound Assisted Extraction (UAE) dengan Otomasi Pengaturan Suhu dan Volume Pelarut. *Indonesian Journal of Applied Physics*, 10 (1), 56-64. <https://doi.org/10.13057/ijap.v10i01.35032>.
- Azad, S. M. A. K. (2024). *Unveiling the therapeutic potentialities and chemical characterization of methanolic Merremia vitifolia (Burm.f) Hallier f. stem extract: A Multi-faceted investigation via in vitro, in vivo, and in silico approaches*. *Journal Heliyon* , 10 (19), 1-28. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e38449>.
- Badaring, D. B., et al. (2020). Uji Ekstrak Daun Maja (*Aegle marmelos* L.) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Indonesian Journal Of Fundamental Sciences (IJFS)*, 6 (1), 16-26. <http://dx.doi.org/10.26858/ijfs.v6i1.13941>.
- Baturante, N., Khadijah, dan Musrifah, T. (2023). Penentuan Total Flavonoid Dan Total Fenolik Ekstrak Metanol Daun Gofasa (*Vitex cofassus*) Dengan Metode Spektrofotometer UV-Vis. *Jurnal Pendidikan MIPA*, 8 (2), 21-26. <http://dx.doi.org/10.33387/saintifik.v8i2.7333>.
- Bhatti, J. S., et al. (2022). *Oxidative stress in the pathophysiology of type 2 diabetes and related complications: Current therapeutic strategies and future perspectives*. *Elsevier Journal of Free Radical Biology and Medicine*, 184(1), 114-134. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2022.03.019>.
- Bunpo, P., et al. (2021). *Effects Of Ascorbic Acid Supplementation On Immune Status In Healthy Women Following A Single Bout Of Exercise*. *Sport Science Health*, 17(3), 635–645. <http://dx.doi.org/10.1007/S11332-020-00726-3>.
- Crouch, S., Skoog, D., Holler, F. (2017). *Principles of Instrumental Analysis (7th ed.)*. Mason, OH: CENGAGE Learning Custom Publishing
- Chiu, H. H., and Ching, H. K. (2020). *Gas chromatography-mass spectrometry-based analytical strategies for fatty acid analysis in biological samples*.

- Journal of Food and Drug Analysis*, 28(10), 60-73. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2019.10.003>.
- Chigurupati, S., *et al.* (2019). *Inhibitory Activities of α -Glucosidase and α -Amylase and their Hypoglycaemic Capability in the Treatment of Diabetes*. *Journal EC Pharmacology and Toxicology*, 7.(2), 79-91. <https://eicon.net/assets/ecpt/pdf/ECPT-06-00258.pdf>
- Jaber, S. A. (2023). *In vitro alpha-amylase and alpha-glucosidase inhibitory activity and in-vivo antidiabetic activity of Quercus coccifera (Oak tree) leaves extracts*. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 30 (7), 1-6. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2023.103688>.
- Dahlan, S. N. (2018). Regresi Linear (Agus Komik (ed.); Edisi 2). Epidemiologi Indonesia.
- Darmapatni, K. A. G. (2016). Pengembangan Metode GC-MS untuk Penetapan Kadar Acetaminophen pada Spesimen Rambut Manusia. *Jurnal Biosains Pascasarjana*, 18(3), 255–266. <https://doi.org/10.20473/jbp.v18i3.2016.255-266>.
- Datu, F. N. S., Hasri, & Pratiwi, D. E. (2021). Identifikasi dan Uji Kestabilan Tanin dari Daging Biji Pangi (*Pangium edule Reinw.*) sebagai Bahan Pewarna Alami. *Chemica Jurnal Ilmiah Kimia & Pendidikan Kimia*, 22 (1), 29-34. <https://doi.org/10.35580/chemica.22i1.21726>.
- Devitria, R., Harni, S., dan Seftika, S. (2020). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Daun Ciplukan menggunakan Metode 2, 2-Diphenyl 1-Picrylhydrazyl (DPPH). *Jurnal Penelitian Farmasi Indonesia*, 9(1), 31-36. <https://bit.ly/3zcbjzP>.
- Dewatisari, W. F., Leni R., dan Ismi, R. (2017). Rendemen dan Skrining Fitokimia pada Ekstrak Daun *Sansevieria sp.* *Jurnal Penelitian Pertanian Terapan*, 17(3), 197-202. <http://dx.doi.org/10.25181/jppt.v17i3.336>.
- Dipiro, J.T., *et al.* (2020). *Pharmacotherapy A Pathophysiologic Approach, Eleventh Edition*. New York: McGraw Hill.
- Dinas Kesehatan Lampung. (2024). Pelayanan Kesehatan Penderita Diabetes Melitus (DM) Se-Provinsi Lampung Tahun 2022. Lampung: Dinas Kesehatan. <https://opendata.lampungprov.go.id>.

- Divekar, P., et al. (2022). *Plant Secondary Metabolites as Defense Tools against Herbivores for Sustainable Crop Protection*. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(5): 26-90. <https://doi.org/10.3390%2Fijms23052690>.
- Dhurhania, C. E., dan Agil, N. (2019). Uji Kandungan Fenolik Total dan Pengaruhnya terhadap Aktivitas Antioksidan dari Berbagai Bentuk Sediaan Sarang Semut (*Myrmecodia pendens*). *Jurnal Farmasi dan Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 5 (2), 62-68. <https://doi.org/10.20473/jfiki.v5i22018.62-68>.
- Dulay, R. M. R., et al. (2022). *Cytotoxicity of Lentinus Isolates Mycelial Extracts on Human Colorectal Carcinoma HCT-116 Cells*. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 12(06), 076-085. <https://doi.org/10.7324/JAPS.2022.120608>.
- Ebrahimi, E., Saeed, S., and Reza, A. (2017). *Effect and Mechanism of Herbal Ingredients in Improving Diabetes Mellitus Complications*. *Jundishapur Journal of Natural Pharmaceutical Products*, 12 (1), 1-8. <https://doi.org/10.5812/jjnpp.31657>.
- Fatmawati, A., Dewi, R., dan Farhan. (2021). Skrining Fitokimia Tanaman Bilajang Bulu (*Merremia Vitifolia*) Dengan Metode Infusa. *Journal of Holistic and Health Sciences*, 5(1), 40-48. <https://jhhs.stikesholistic.ac.id>.
- Fauzi, M., and Nilda, L. (2017). *Characterization and Antimicrobial Activity Test of Patchouli Leaf and Stem Essential Oils (Pogostemon cablin Benth)*. *Jurnal Ilmiah Bakti Farmasi*, 2 (1), 41-48. <https://ejournal.stifibp.ac.id/index.php/jibf/article/view/16>.
- Fikayuniar, L., et al. (2024). Penapisan Fitokimia Simplisia Bunga Telang Untuk Identifikasi Golongan Senyawa Metabolit Sekunder. *Jurnal Kesehatan Tambusai*, 5 (1), 2081-2087. <https://bit.ly/3MKxnVu>.
- 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>.

- Gendokesumo, M. E., et al. (2022). *In-silico Study of Inhibiting α -glucosidase Enzyme in Phytochemicals Contained in Momordica charantia Linn. (Bitter Melon) as Diabetes Therapy*. *Indonesian Chemical Act*, 7(1), 77–90. <https://doi.org/10.12962/j25493736.v7i1.12588> .
- Gofal, K. A., et al. (2019). *Confirmation of Best Method for Detection of Alpha Amylase Activity of Cucumis Melo Var Agrestis (Wild Musk Melon): In vitro Antidiabetic activity of Wild musk melon*. *Journal of Medicine, Agricultural and Food Sciences*, 2(1), 18–20. <https://api.semanticscholar.org/CorpusID:229287540>.
- Ginting, Z., Ishak and Muhammad I. (2021). *Analysis of Patchouli Alcohol Content in the Formulation of North Aceh Patchouli Oil Preparations (Pogostemon Cablin Benth) as a Binder in Perfume (Eau De Toilette)*. *Unimal Chemical Technology Journal*, 10 (1), 12-23. <https://ojs.unimal.ac.id/jtk/index>.
- Gutbrod, P., et al. (2021). *Phytol derived from chlorophyll hydrolysis in plants is metabolized via phytenal*. *Journal of Biological Chemistry*, 1-12. <https://doi.org/10.1016/j.jbc.2021.100530>.
- Hasanah, E., et al. (2019). *Analysis of Flavanioid Content From Extract Ethanol Bilajang Bulu Leaf (Merremia vitifolia)*. *Indonesia Chimica Acta Journal*, 12(1), 73. <https://doi.org/10.20956/ica.v12i1.6456>.
- Hasanah, E., Ayu, N. K., and Puspita, D. (2020). *Activity Test of Leaf Ethanol Extract Bilajang Bulu Merremia Vitifolia Against Staphylococcus Aureus. Bacteria*. *Al-Kimia*, 8(1), 29–35. <https://doi.org/10.24252/al-kimiav8i1.6368>.
- Hanin, N. N. F., dan Rarastoeti, P. (2017). *Kandungan Fenolik, Flavonoid dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Paku Laut (Acrostichum aureum L.) Fertil dan Steril*. *Journal of Tropical Biodiversity and Biotechnology*, 2 (1), 51-56. <https://jurnal.ugm.ac.id/jtbb/article/download/29819/19331>.
- Hameed, I.H., et al. (2015). *Identification of five newly described bioactive chemical compounds in Methanolic extract of Mentha viridis by using gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS)*. *Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy*, 7(7), 107–125. <https://doi.org/10.5897/JPP2015.0349>.

- Hasanah, E., *et al.* (2020). *Activity Test of Leaf Ethanol Extract Bilajang Bulu Merremia Vitifolia Against Staphylococcus Aureus Bacteria*. *Al-Kimia*, 8 (1), 29-35. <http://journal.uin-alauddin.ac.id/index.php/al-kimia>.
- Hestiana, D. W. (2017). Faktor-Faktor Yang Berhubungan Dengan Kepatuhan Dalam Pengelolaan Diet Pada Pasien Rawat Jalan Diabetes Mellitus Tipe 2 di Kota Semarang. *Jurnal of Health Education*, 2(2), 138–145. <https://doi.org/10.1515/labmed-2018-0016>.
- Hidayatullah, M., Aditya, N. R., dan Dheny, P. (2023). Penetapan Kadar Fenolik Total dan Flavonoid Total Ekstrak Etanol Batang Bajakah Tampala (*Spatholobus littoralis Hassk.*). *Journal of Pharmacopolium*, 6 (2), 41-52. <http://dx.doi.org/10.36465/jop.v6i2.1228>.
- Huang Cao, Z. Y. Y. (1999). *Ilustrasi Flora China*. China: Science Press (Beijing) dan MBG Pr.
- Hu Guanying, *et al.* (2017). *Availability, Pharmaceutics, Security, Pharmacokinetics, and Pharmacological Activities of Patchouli Alcohol. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 1-9. <https://doi.org/10.1155/2017/4850612>.
- Husnani, H. (2023). Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol Umbi Wortel (*Daucus Corata L.*) Dengan Metode Spektrofotometri UV-VIS. : *Jurnal Ilmu Farmasi dan Kesehatan*, 1 (2), 133-142. <https://doi.org/10.59841/an-najat.v1i2.175>.
- International Diabetes Federation. (2021). *IDF Diabetes Atlas. Tenth Edition*. Brussels. Belgium: *International Diabetes Federation*, hlm. 3-11. <https://diabetesatlas.org>.
- Islamiyati, R., *et al.* (2024). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etil Asetat Daun Matoa Menggunakan Radikal Bebas DPPH (*Difenilpikrilhidrazil*). *Journal Pharmacon*, 13 (2), 611-618. <https://bit.ly/3Mz6Eei>.
- Jubaidah, S. (2024). *Effect of Extraction Method on Antioxidant Activity of Ethanol Extract of Singkil Leaves (Premna corymbosa Rottl. et Willd) with DPPH by UV-Vis Spectrophotometry*. *Acta Holistica Pharmaciana*, 6 (1), 39-48. <https://doi.org/10.62857/ahp.v6i1.160>

- Jovanovic, A. A., et al. (2017). *Optimization of the Extraction Process of Polyphenols from Thymus Serpyllum L. herb Using Maceration, Heat- and Ultrasound-Assisted Techniques. Separation and Purification Tecnology*, 171 (1), 369-380. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2017.01.055>.
- J. Ononamadu, C., et al. (2020). *Starch-iodine assay method underestimates α -amylase inhibitory potential of antioxidant compounds and extracts. BioTechnologia*, 101 (1), 45–54. <http://doi.org/10.5114/bta.2020.93103>.
- Kalauni, S. K., et al. (2024). *Phytochemical Screening, Evaluation of Antioxidant and Antidiabetic Activities of Green Tea Available in Nepal. Prithvi Academic Journal*, 7 (1), 9-19. <https://doi.org/10.3126/paj.v7i1.65744>.
- Kashtoh, H., and Kwang Hyun Baek. (2023). *New Insights into the Latest Advancement in α -Amylase Inhibitors of Plant Origin with Anti-Diabetic Effects. Plants Journal*, 12(16), 2944. <https://doi.org/10.3390/plants12162944>.
- Kementrian Kesehatan Republik Indonesia. (2020). *Tetap Produktif, Cegah dan Atasi Diabetes Mellitus*. Jakarta: Pusat Data Dan Informasi Kementrian Kesehatan RI. <https://yankes.kemkes.go.id>.
- Kemenkes Republik Indonesia. (2019). *Laporan Provinsi Lampung RISKESDAS 2018*. Lampung: Lembaga Penerbit Badan Litbang Kesehatan. <https://dinkes.lampungprov.go.id>.
- Khatri, D., and Chhetri, S. B. B. (2020). *Reducing Sugar, Total Phenolic Content, and Antioxidant Potential of Nepalese Plants. BioMed Research International*, 1(1), 1-7. <https://doi.org/10.1155/2020/7296859>.
- Kifle, Z. D., and Engidaw, F. E. (2020). *Evaluation of In Vivo Antidiabetic, In Vitro α -Amylase Inhibitory, and In Vitro Antioxidant Activity of Leaves Crude Extract and Solvent Fractions of Bersama abyssinica Fresen (Melianthaceae). Journal of Evidence-Based Integrative Medicine*, 25 (1), 1-11. <https://doi.org/10.1177/2515690X20935827>.
- Kusumawati, N., Haryoto, dan Peni, I. (2021). *Penghambatan Enzim Alpha-Glukosidase oleh Daun Mimba (Azadirachta indica) dan Rimpang Temu Mangga (Curcuma mangga). Jurnal Kefarmasian Indonesia*, 11(1), 56-64. <https://doi.org/10.22435/jki.v11i1.3950>.

- Kurniasari, Y., *et al.* (2022). Aktivitas Antioksidan Ekstrak Serbuk Bekatul Menggunakan Metode DPPH, ABTS, dan FRAP. *CERATA. Jurnal Ilmu Farmasi*, 13 (2), 82-90. <https://bit.ly/47lwA6M>.
- Khafid, A., *et al.* (2023). Uji Kualitatif Metabolit Sekunder pada Beberapa Tanaman yang Berkhasiat sebagai Obat Tradisional. *Buletin Anatomi dan Fisiologi*, 8(1), 61-70. <https://doi.org/10.14710/baf.8.1.2023.61-70>.
- Kristina, C. V. M., Yusasrini, dan Ni Made, Y. (2022). *The Effect Of Extraction Time With The Ultrasonic Assisted Extraction (UAE) Method on Antioxidant Activity Of The Duwet Leaf Extract (Syzygium cumini)*. *Journal of Food Science and Technology*, 11 (1), 13-21. <http://dx.doi.org/10.24843/itepa.2022.v11.i01.p02>.
- Lin, D., *et al.* (2016). *An Overview of Plant Phenolic Compounds and Their Importance in Human Nutrition and Management of Type 2 Diabetes*. *Molecules*, 21(10), 1374. <https://doi.org/10.3390/molecules21101374>.
- Lovestead, T. M., and Kimberly, N. U. (2023). *Gas Chromatography–Mass Spectrometry (GC–MS)*. *National Institute of Standards and Technology Boulder. Applied Chemicals and Materials Division*, 1-16. https://tsapps.nist.gov/publication/get_pdf.cfm?pub_id=926655.
- Lukiyono, Y. T., *et al.* (2020). Uji Aktivitas Antioksidan Nanopartikel Kitosan dari Limbah Kulit Udang (*Litopenaeus vannamei*) Menggunakan Metode DPPH. *Prosiding Seminar Nasional Kesehatan*, 2 (1), 1-5. <https://bit.ly/3B1MUhu>.
- Lukmayani, Y., Giffar, A. N., and Kiki, M. Y. (2024). *Testing of Antioxidant Activity and Determination of Flavonoid Content of Ethanol Extract of Red Betel Leaves (Piper ornatumn.E.Br.) Using Maceration and Ultrasound-Assisted Extraction Methods*. *Farmasyifa Scientific Journal of Pharmacy*, 7 (2), 179-191. <https://doi.org/10.29313/jiff.v7i2.3177>.
- Mahardani, O. T., dan Leny, Y. (2021). Efek Metode Pengolahan Dan Penyimpanan Terhadap Kadar Senyawa Fenolik dan Aktivitas Antioksidan. *UNESA Journal of Chemistry*, 10 (1), 64-78. <http://dx.doi.org/10.26740/ujc.v10n1.p64-78>.

- Maharani, R., and Andrian, F. (2021). *Phytochemical Profile and Gc-Ms of Black Betel Leaves (Piper Betle L.) from the vicinity of Khdtk Labanan, Berau Regency. Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 25(1), 11-14. <http://dx.doi.org/10.20956/mff.v25i1.11966>.
- Maji, S. R., Roy, C., and Sandip, K. S. (2023). *Gas Chromatography–Mass Spectrometry (GC-MS): A Comprehensive Review of Synergistic Combinations and Their Applications In The Past Two Decades. Journal of Analytical Sciences and Applied Biotechnology*, 5(2), 72-85. <http://dx.doi.org/10.48402/IMIST.PRSM/jasab-v5i2.40209>.
- Mames, N. P. P., Edi, S., dan Lidya, I.M. (2022). Aktivitas Antioksidan dan Penghambatan Enzim α -Amilase Dari Alga (*Eucheuma spinosum*). *Chem Prog*, 15 (2), 108-116. <https://doi.org/10.35799/cp.15.2.2022.46236>.
- Masitah, et al. (2023). *Analysis of Secondary Metabolic Content in Kenikir Leaves (Cosmos Caudatus Kunth.) Using Methanol, Ethanol and Ethyl Acetate Solvents. Journal of Biology Education*, 14(2), 266-272. <http://dx.doi.org/10.24127/bioedukasi.v14i2.7805>.
- Maulida, M., Henny, N., and Reksi, S. (2025). *Determination of Total Phenolic Content of Ethanol Extract of White Turmeric Rhizome (Curcuma zedoaria (Berg.) Roscoe) With Different Solvent Concentrations. Indonesian Journal of Pharmaceutical Research*, 7 (1), 65-81. <http://bit.ly/4bVtAAo>.
- Mclver, L. A., Preuss, C. V., and Tripp, J. (2022). Acarbose. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK493214/>.
- Mintados, P. E., Adithya, Y. dan Yuanita, A. H. (2024). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Lissoclinum patella yang Diperoleh dari Pantai Parentek Kabupaten Minahasa. *Pharmacon*, 13 (2), 594-601. <https://doi.org/10.35799/pha.13.2024.55065>.
- Misrahanum, M., Cut, A. D. Z., dan Nurdin, S. (2022). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Gaharu (*Aquilaria Malaccensis Lamk.*) Dan Identifikasi Senyawa Dengan Metode GC-MS. *Jurnal Pharmascience*, 9 (2), 310-318. <https://bit.ly/3AUhZmD>.

- Mudjiran dan Yeni, K. (2024). Analisis Aktivitas Antioksidan dalam Menghambat Radikal Bebas. *Jurnal Kolaborasi Sains dan Ilmu Terapan*, 2 (2), 55-59. <https://bit.ly/3XxXmpj>.
- Mustofa, C. H., *et al.* (2024). Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis. *CERATA Jurnal Ilmu Farmasi*, 15 (2), 151-155. <https://doi.org/10.61902/cerata.v15i2.1394>.
- Nainggolan, R. M., Rahayu, M. P., and Rejeki, E. S. (2024). *Test of Antioxidant Activity, Flavonoid Levels, and Total Phenolics of Tamarind Leaf Extract and Fractions (Tamarindus indica L.)*. *Jurnal MandalaPharmacon Indonesia*, 10(2), 397-410. <https://doi.org/10.35311/jmpi.v10i2.554>.
- Nichols, L. (2024). *Organic Chemistry LAB Techniques*. Butte College: LibreTexts, 13-24. <https://bit.ly/3B9TEcu>.
- Noviarni, I., Irmanida, B., and Sastia, P. P. (2020). *Antiglycation and Antioxidant Activity from Methanol Extract and Fraction of Xylocarpus granatum Stem*. *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*, 23 (1), 21-27. <http://dx.doi.org/10.14710/jksa.23.1.21-27>.
- Nugraha, M. R. dan A. N. Hasanah. 2018. Metode pengujian aktifitas antidiabetes. *Farmaka*. 16(3):28-34. <https://doi.org/10.24198/jf.v16i3.17298>.
- Nuraeni, D. A., Lukmayani, Y., dan Kodir, R. A. (2021). Uji Aktivitas Antibakteri *Propionibacterium Acnes* Ekstrak Etanol Dan Fraksi Daun Karuk (*Piper Sarmetosum Roxb. Ex. Hunter*) Serta Analisis Klt Bioautografi. *Jurnal Riset Farmasi*, 1(1), 9–15. <https://Doi.Org/10.29313/Jrf.V1i1.26>.
- Nurul, I. R. U., *et al.* (2017). *Study Mechanism Antidiabetic Extract Cemba Leaf (Acacia Rugata (Lam.) Fawc. Rendle) Through A-Glucosidase Enzyme Inhibition. International Journal of Advances in Science Engineering and Technology*, 5 (3), 49-51. <https://ijaseat.iraaj.in>.
- Nollet, L. M. L., and Gutierrez-Urbe, J. A. (2018). *Phenolic Compounds in Nature. Phenolic compounds in food: characterization*. Taylor & Francis. <https://doi.org/https://doi.org/10.1201/9781315120157>.

- Noor, M., *et al.* (2021). *Response surface optimization of ultrasound-assisted extraction of sago starch from sago pith waste*. *Starch-Stärke*, 74(1-2). <https://doi.org/10.1002/star.202100012>.
- Nurjanah, S., *et al.* (2025). *Alpha-guaiene isolated from patchouli oil exhibits antifungal activity against four pathogenic fungi*. *F1000Research Journal*, 14(4), 1-11 <https://doi.org/10.12688/f1000research.154021.1>
- Oguntibeju, O.O. (2019). *Type 2 diabetes mellitus, oxidative stress and inflammation: examining the links*. *International Journal of Physiol Pathophysiol Pharmacol* 11(3), 45-63. <https://dx.doi.org/10.1944-8171/IJPPP0091641>.
- Oktaria, D., dan Mauritz, P. M. (2023). *Penetapan Kadar Flavonoid Total Dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Akar Nipah (Nypa Fruticans Wurmb) Dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis*. *Lantanida Journal*, 11 (1), 36-50. <http://dx.doi.org/10.22373/lj.v11i1.16087>.
- Oktavia, S. N. (2020). *Skrining Fitokimia Dari Infusa dan Ekstrak Etanol 70% Daun Cincau Hijau (Cyclea barbata Miers)*. *Cerata Jurnal Ilmu Farmasi*, 11(1), 1-6. <https://bit.ly/3XsTzIH>.
- Ononamadu, C., *et al.* (2020). *Starch-iodine assay method underestimates α -amylase inhibitory potential of antioxidative compounds and extracts*. *Biotechnologia*, 101(1), 45-54. <https://doi.org/10.5114/bta.2020.93103>
- Pambudi, D. B., Fajriyah, N. N., and Maharisti, R. A. (2021). *Test of α Amylase Inhibition Activity in Ethanol Extract of Fennel Leaves (Foeniculum vulgare Mill.) Using Elisa Reader*. *Urecol Journal Part C: Health Sciences*, 1(1), 1–6. <https://doi.org/10.53017/ujhs.1>.
- Papachristoforou, E., *et al.* (2020). *Association of Glycemic Indices (Hyperglycemia, Glucose Variability and Hypoglycemia) with Oxidative Stress and Diabetic Complications*. *Journal of Diabetes Research*, 1(1), 1-17. <https://doi.org/10.1155/2020/7489795>.
- Prahesti, D. A., Pujiyanti, S., dan Rukmini, M. I. (2018). *Isolasi, Uji Aktivitas, dan Optimasi Inhibitor α Amilase Isolat Kapang Endofil Tanaman Binahong (Anredera cordifolia) (Ten.) Steenis*. *Jurnal Akademika Biologi*, 7(1), 43-51. <http://bit.ly/48mDwKx>.

- Pratiwi, A. R. H., *et al.* (2023). *Analysis of Antioxidant Levels In Green Binahong Leaf Extract Anredera cordifolia (Ten.) Steenis*. BIOMA: Jurnal Biologi Makassar, 8 (2), 66-74. <https://bit.ly/3XeWjsR>.
- Prawitasari, D. S. (2019). Diabetes Melitus dan Antioksidan. Jurnal Kesehatan dan Kedokteran, 1 (1), 47-51. <https://doi.org/10.24123/kesdok.v1i1.2496>.
- Perkumpulan Endokrinologi Indonesia (PERKENI). (2021). *Pengelolaan dan Pencegahan Diabetes Mellitus Tipe 2 di Indonesia*. Jakarta: PB PERKENI. Hlm, 24. <https://bit.ly/3XrtyZZ>.
- Puspita, R., Najwi, H. dan Mi'rajunnisa. (2024). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix* D.C) Dengan Metode Ekstraksiuae (*Ultrasound Assisted Extraction*) Terhadap Bakteri *propionibacterium Acnes* menggunakan Difusi Cakram. *Journal of Innovation Research and Knowledge*, 4 (3), 1863-1878. <https://bit.ly/47tAISa>.
- Purwati, R. A. (2022). Uji Aktivitas Antidiabetes Fraksi N-Heksan Dan Etil Asetat Dari Daun Areuy Kikunti Secara Invitro. *Jurnal Health Sains*. 3(2): 263–268. <https://bit.ly/47yc2YP>.
- Putri, A. M., *et al.* (2021). *The Effect of Solvent Type and Ultrasonication on Phycoerythrin Extract from Kappaphycus alvarezii*. *Journal of the Indonesian Fisheries Processing Society*, 24 (2), 269-283. <http://dx.doi.org/10.17844/jphpi.v24i2.37182>.
- Primada, H. A. C., dan Sri, W.A. (2021). Aktivitas Antidiabetes Tanaman Tradisional Di Pulau Jawa. *Jurnal Farmasi Indonesia*, 120–131. <http://journals.ums.ac.id/index.php/pharmacon>.
- Qumaliyah, E. N., *et al.* (2023). *Phytochemical Screening, Total Flavonoids and Antioxidants of Kalanchoe Pinnata Linn Leaves*. *Curr. Biochem*, 10(1), 10. <https://journal.ipb.ac.id>.
- Rajkumar, G., and Vinotha, S. (2022). *Comparative Analysis of Qualitative and Quantitative Phytochemical Evaluation of Selected Leaves of Medicinal Plants in Jaffna, Sri Lanka*. *Borneo Journal of Pharmacy*, 5(2), 93–103. <https://journal.umpr.ac.id>.

- Rahmasari, I., dan Wahyuni, E. S. (2019). Efektivitas memordoca carantia (pare) terhadap penurunan kadar glukosa darah. *Jurnal Ilmiah Terapan*, 1,2. 9(1), 57–64. <https://ojs.udb.ac.id/index.php/infokes/issue/view/108>.
- Rao, T., Sappidi, H., and Kurapati, L. L. (2023). *Gas Chromatography Mass Spectroscopy: An Overview. European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 10(5), 83-89. <https://bit.ly/4g9AZOd>.
- Rohmah, S. A. A., Muarifah, A., dan Martha, R. D. (2021). Validasi Metode Penetapan Kadar Pengawet Natrium Benzoat pada Sari Kedelai di Beberapa Kecamatan di Kabupaten Tulungagung Menggunakan Spektrofotometer Uv-Vis. *Jurnal Sains dan Kesehatan*, 3(2), 120–127. <http://repository.stikes-kartrasa.ac.id/id/eprint/8>.
- Salsabila, F., et al. (2025). *Phytochemical Profile and Antioxidant Activity Test of Ethanol Extract of Impatiens Balsaminal. Leaves Using the Abts Method (2,2'-Azinobis(3-Ethylbenzothiazoline-6-Sulfonic Acid)*. *Jurnal LOCUS: Research and Community Service*, 4(2), <https://doi.org/11541169.10.58344/locus.v4i2.3805>.
- Sandi, M. N. D. (2025). Alpha-Glucosidase Inhibiting Activity By Ethanol Extract Of Encok Leaves (*Plumbago zeylanica*). *Integrative Perspectives of Social and Science Journal (IPSSJ)*, 2(1), 1130-1139. <https://ipssj.com/index.php/ojs/article/view/158>.
- Saputri, A. D. S. dan Ndaru, S. B. (2023). Penetapan Kadar Alkaloid Total Pada Ekstrak Kasar Dan Ekstrak Terpurifikasi Bunga Cengkeh (*Syzygium aromaticum*) Dengan Metode Spektrofotometri Uv-Vis. *Jurnal Ilmiah Farmasi Simplisia*, 3 (1), 28-37. <https://journal.poltekkesaceh.ac.id>.
- Sari, Y. W., dan Susilowati. (2023). Pengaruh Variasi Waktu Panen Terhadap Kadar Flavonoid Total Daun Kumis Kucing (*Orthosiphon aristatus* (Blume) Miq.). *Jurnal Ilmiah Manuntung: Sains Farmasi dan Kesehatan*, 9(2),191-198. <https://doi.org/10.51352/jim.v9i2.685>.
- Selvianti, M. Wijaya dan Maryono. (2024). *Identification of Patchouli Alcohol Compounds from The Essential Oil of Patchouli Leaves (Pogostemon cablin benth.)*. *Jurnal Chemica*, 25 (2), 41-54. <https://doi.org/10.35580/chemica.v25i2.54035>

- Sight, V., and Ramesh, K. (2017). *Study of Phytochemical Analysis and Antioxidant Activity of Allium sativum of Bundelkhand Region. International Journal of Life Sciences Scientific Research*. 2017; 3(6):1451-1458. <http://dx.doi.org/10.21276/ijlssr.2017.3.6.4>.
- Soelistijo, S. (2021). Pedoman Pengelolaan dan Pencegahan Diabetes Melitus Tipe 2 Dewasa di Indonesia 2021. *Global Initiative for Asthma*, 46. www.ginasthma.org.
- Sugiani, Z., Purgiyanti dan Kusnadi. (2023). Penentuan Kadar Fenol Total Fraksi N-Heksan, Kloroform Dan Metanol Herba Pegagan (*Centella Asiatica* (L.) Urban). *Jurnal Pendidikan Kimia dan Ilmu Kimia*, 6 (1), 67-73. <http://dx.doi.org/10.31602/dl.v6i1.10454>.
- Suhartati, T. (2017). *Dasar-Dasar Spektrofotometer UV-VIS dan Spektrofotometri Massa Untuk Penentuan Struktur Senyawa Organik*. Lampung: AURA.
- Suharyani, I., et al. (2021). *Qualitative and Quantitative Analysis of Hydroquinone in Cosmetic Preparations. Journal of Pharmacopolium*, 4(3), 162–173. <http://journal.aisyahuniversity.ac.id/index.php/JFA>.
- Suhendi, A., et al. (2022). *Inhibition Activity of Indonesian Zingiber zerumbet Leaves Extract on α -Glucosidase Enzyme. Proceedings of the 16th Urecoli Series of MIPA and Health*, 59–65. <https://www.researchgate.net/publication/367654687>.
- Sukarti, S. (2016). Screening Fitokimia Ekstrak Polar Daun Tumbuhan Tali Gurita (*Family Cucurbitaceae*) Yang Berpotensi Sebagai Antidiabetes. *Journal of Mathematics and Natural Sciences*, 7(2), 9-15. <https://journal.uncp.ac.id>.
- Sukarti, Kadek, Y., dan Ilmiati, I. (2020). *Content Analysis And Identification Of Functional Groups Of Flavonoid Compounds From Chloroform Extract Of Akar Bulu Leaf (Merremia vitifolia). Indonesian Journal of Chemical Technology*, 1 (1), 30-37. <https://doi.org/10.20956/ica.v12i1.6456>.
- Sulistyarini, I., Sari, D.A., dan Wicaksono, T.A. (2020). Skrining fitokimia senyawa metabolit sekunder batang buah naga (*hylocereus polyrhizus*). *Jurnal Ilmiah Cendekia Eksakta*, 5(1), 56–62. <https://doi.org/10.3194/ce.v5i1.3322>.

- Supriati, H. S., Abdullah, A., and Hidayat, M. (2021). *Antibacterial activity test of ethanol extract of kayu kambing leaves (Garuga floribunda, Decne) on Escherichia coli and Staphylococcus aureus bacteria. Journal of Science and Health*, 5(2), 39–48. <http://dx.doi.org/10.57214/jusika.v5i2.109>.
- Suryadinata, R. V., Kezia, S., and Sawitri, B. (2021). *Reduction of Free Radicals in Hyperglycemic Conditions Through The Administration of Lime Peel Extract (Citrus aurantifolia swingle). Indonesian Journal of Nutrition and Dietetics*, 9 (3), 139-144. [http://dx.doi.org/10.21927/ijnd.2021.9\(3\).139-144](http://dx.doi.org/10.21927/ijnd.2021.9(3).139-144).
- Susiloningrum, D., dan Dessy, E. M. S. (2023). Optimasi Suhu UAE (*Ultrasonik Assisted Extraction*) Terhadap Nilai *Sun Protection Factor* (Spf) Ekstrak Rimpang Bangle (*Zingiber Purpureum Roxb*) Sebagai Kandidat Bahan Aktif Tabir Surya. *Cendekia Journal of Pharmacy*, 7 (1), 58-66. <https://doi.org/10.31596/cjp.v7i1.207>.
- Syamsul, E. S., Nadhila, A. A., dan Dwi, L. (2020). Perbandingan Ekstrak Lamur *Aquilaria Malaccensis* Dengan Metode Maserasi dan Refluks. *Jurnal Riset Kefarmasian Indonesia*, 2 (2), 97-104. <https://bit.ly/4gm6Nzq>.
- Tahya, C. Y., dan Karnelasatri. (2021). Kromatografi Gas-Massa Spektrometri Analisis Dan α -Glukosidase Aktivitas Penghambatan N-Ekstrak Heksana Bilajang Bulu (*Merremia Vitifolia*) Leaves. *Woolisongo Journal of Chemistry*, 4 (2), 162-172. <https://doi.org/10.21580/wjc.v4Saya2.9427>.
- Tritisari, K. P., et al. (2017). Asupan Makanan Sumber Antioksidan Dan Kadar Glukosa Darah Puasa Pada Penderita Dm Tipe 2 Di Jawa Timur. *Majalah Kesehatan FKUB*, 4 (2), 96-104. <https://bit.ly/3MBGxDw>.
- Turrini, F., et al. (2018). *Optimization of The Ultrasonic-Assisted Extraction of Phenolic Compounds from Oryza sativa L. 'Violet Nori' and Determination of The Antioxidant Properties of Its Caryopses and Leaves. Journal Molecules*, 23 (4), 844. <https://doi.org/10.3390/molecules23040844>.
- Wang, J., et al. (2021). *The addition of alpha amylase improves the quality of chinese dried noodles. Journal of Food Science*, 86(3), 860-866. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.15654>.

- Wardhani, I. Y., et al. (2023). *The Effect of Extraction Method on Total Flavonoid Content of Ageratum conyzoides Ethanol Extract*. *Journal of Biology Education*, 6 (2), 136-148. <https://journal.iainkudus.ac.id/index.php/jbe>.
- Wahyuni, S. (2017). *Biokimia Enzim dan Karbohidrat*. Aceh: PERS UNIMAL. www.unimal.ac.id/unimalpress.
- Wiyatno, F. W. (2024). *Analysis of Bioactive Compound Levels "Phenolic" in Kaffir Lime Leaves Using the Maceration Extraction Method and Quantitative Test Using a UV-Vis Spectrophotometer*. *Journal of Multidisciplinary Studies*, 8 (12), 256-263. <https://bit.ly/4bYRhYy>.
- Wulansari, A. N. (2018). Alternatif Cantigi (*Vaccinium Varingiaefolium*) Sebagai Antioksidan Alami. *Farmaka*, 16 (2), 419-429. <https://bit.ly/4guezHI>.
- Wulandari, L., Ari, S.T., dan Nuri, P. A. (2020). Penentuan Aktivitas Antioksidan dan Antidiabetes Ekstrak Daun Kepundung (*Baccaurea racemosa* Muell.Arg.) secara In Vitro. *Journal Sains Farm Klin*, 7(1):60–66. <https://doi.10.25077/jsfk.7.1.60-66.2020>.
- Yasser, M., et al. (2022). Skrining Fitokimia Senyawa Flavonoid, Alkaloid, Saponin, Steroid Dan Terpenoid Dari Daun Kopasanda (*Chromolaena odorata* L.). Prosiding 6th Seminar Nasional Penelitian & Pengabdian Kepada Masyarakat, Makassar, 90-94.
- Yarnita, Y., Fitrian, R., dan Abdu, R. K. (2023) Program *Self Efficacy* Dalam Perawatan Kaki Diabetes Melitus Tipe 2. *Jurnal Keperawatan*, 15 (1), 41-52. <http://journal.stikeskendal.ac.id/index.php/Keperawatan>.
- Yuliana, A.I., dan Mucharommah, S.A. (2020). *Ensiklopedia Gulma Lahan Persawahan*. Jawa Timur: LpG/ML UNWAHA.
- Yusuf, M., et al. (2020). *Phytochemical and antibacterial properties of sea cucumber (Muelleria lecanora) from Barrang Lompo Islands, Makassar South Sulawesi*. *Food Research*, 4 (6), 1885 - 1895. [https://doi.org/10.26656/fr.2017.4\(6\).187](https://doi.org/10.26656/fr.2017.4(6).187).
- Zaini, M., dan Shofia, V. (2020). Skrining Fitokimia Ekstrak *Carica papaya* radix, *Piper ornatum* folium dan *Nephelium lappaceum* semen Asal Kalimantan Selatan. *Jurnal Kajian Ilmiah Kesehatan dan Teknologi*. 2(1). 15-27. <https://doi.org/10.52674/jkikt.v2i1.30>.

Zhang, Q. W., Li Gen, L., and Wen, C.Y. (2018). *Techniques for extraction and isolation of natural products: a comprehensive review. Journal Chinese Medicine*, 13 (20), 1-26. <https://doi.org/10.1186/s13020-018-0177-x>.