



**UJI AKTIVITAS ANTIDIABETES EKSTRAK DAUN KEPEL
(*Stelechocarpus burahol*) SECARA IN VITRO MENGGUNAKAN METODE
INHIBISI ENZIM α -AMILASE**

SKRIPSI

Oleh:

MONIKA TRI WULANDARI

NIM 162210101077

BAGIAN FARMASI KLINIK DAN KOMUNITAS

FAKULTAS FARMASI

UNIVERSITAS JEMBER

2020



**UJI AKTIVITAS ANTIDIABETES EKSTRAK DAUN KEPEL
(*Stelechocarpus burahol*) SECARA IN VITRO MENGGUNAKAN METODE
INHIBISI ENZIM α -AMILASE**

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat
untuk menyelesaikan Program Studi Farmasi
dan mencapai gelar Sarjana Farmasi

Oleh:

Monika Tri Wulandari

NIM 162210101077

BAGIAN FARMASI KLINIK DAN KOMUNITAS

FAKULTAS FARMASI

UNIVERSITAS JEMBER

2020

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk :

1. Allah SWT yang senantiasa memberikan rahmat dan hidayah-Nya
2. Ayah Suparminoko dan Ibu Siti Rubi'ah sebagai tanda bakti, hormat dan rasa terimakasih atas segala doa dan dukungan serta jerih payah yang telah diberikan kepada penulis, sehingga skripsi ini dapat diselesaikan
3. Kakak Heni Purwanti dan kakak Dwi Diah Suryaningsih yang senantiasa memberikan semangat, nasihat, serta doa
4. Bapak/Ibu guru yang telah memberikan bimbingan serta ilmunya sedari penulis di bangku MI-Al Musthofa, SMP Negeri 2 Jetis, SMA Negeri 1 Sooko Mojokerto, serta Bapak/Ibu dosen Fakultas Farmasi Universitas Jember
5. Almamater tercinta Fakultas Farmasi Universitas Jember

MOTTO

“Dan janganlah kamu berputus asa dari rahmat Allah. Sesungguhnya tiada berputus dari rahmat Allah melainkan orang-orang yang kufur”

(Q.S. Yusuf: 87)



PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Monika Tri Wulandari

NIM : 162210101077

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “ Uji Aktivitas Antidiabetes Ekstak Daun Kepel (*Stelechocarpus buraol*) Secara In Vitro Menggunakan Metode Inhibisi Enzim α -Amilase” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi manapun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa ada tekanan dan paksaan dari pihak mana pun serta bersedia mendapat sanksi skademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 20 Juni 2020

Yang menyatakan,

Monika Tri Wulandari

162210101077

SKRIPSI

**UJI AKTIVITAS ANTIDIABETES EKTRAK DAUN KEPEL
(*Steechocarpus burahol*) SECARA IN VITRO MENGGUNAKAN METODE
INHIBISI ENZIM α -AMILASE**

Oleh:

Monika Tri Wulandari

NIM 162210101077

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Diana Holidah, S.F., M.Farm., Apt

Dosen Pembimbing Anggota : Dr. Fifteen A. F, S.Farm., M.Farm., Apt

PERSETUJUAN PEMBIMBING

Skripsi berjudul “Uji Aktivitas Antidiabetes Ekstrak Daun Kepel (*Stelechocarpus burahol*) Secara In Vitro Menggunakan Metode Inhibisi Enzim α -Amilase” karya Monika Tri Wulandari telah diuji dan disahkan pada :

hari, tanggal : 24 Juli 2020

tempat : Fakultas Farmasi Universitas Jember

Tim Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama

Dosen Pembimbing Anggota

Diana Holidah, SF., M.Farm., Apt.
NIP. 197812212005012002

Dr. Fifteen A. F, S.Farm., M.Farm., Apt.
NIP. 198204152006042002

Tim Penguji

Dosen Penguji I

Dosen Penguji II

Ika Puspita D. S.Farm., M.Biomed., Apt. Fransiska Maria C. S.Farm., M.Farm., Apt
NIP.198406132008122001 NIP.198404062009122008

Mengesahkan

Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember,

Lestyo Wulandari, S.Si., M.Farm., Apt

NIP. 197604142002122001

RINGKASAN

Uji Aktivitas Antidiabetes Ekstrak Daun Kepel (*Stelechocarpus burahol*) Secara In vitro Menggunakan Metode Inhibisi Enzim α -Amilase: Monika Tri Wulandari;162210101077; 2020; 74 Halaman; Fakultas Farmasi, Universitas Jember.

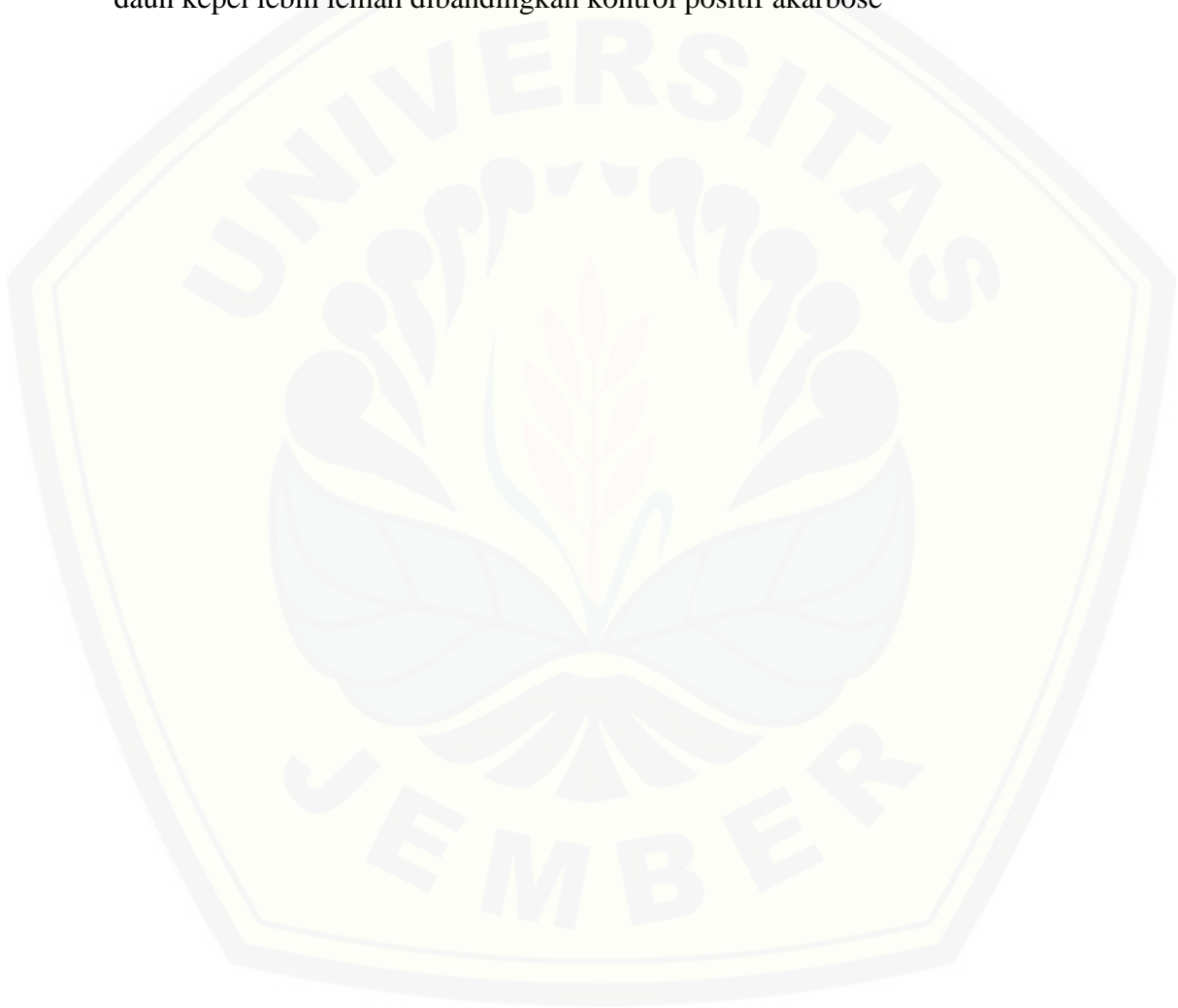
Diabetes melitus merupakan suatu gangguan metabolisme yang ditandai dengan hiperglikemia, disebabkan oleh abnormalitas metabolisme karbohidrat, lipid, dan protein dalam tubuh. Kondisi ini disebabkan adanya gangguan pada insulin seperti menurunnya produksi insulin dan berkurangnya sensitivitas insulin. Perkembangan DM tipe 2 dapat diketahui melalui hiperglikemia *postprandial* yakni kadar glukosa darah setelah makan. Kontrol hiperglikemia *postprandial* dapat dilakukan dengan menghambat enzim α -amilase dan α -glukosidase. Kedua enzim tersebut berperan dalam metabolisme karbohidrat, sehingga dengan menghambat kerja dua enzim tersebut mampu membatasi kadar glukosa darah dengan mengurangi pencernaan karbohidrat kompleks dan absorpsinya, sehingga berguna dalam manajemen terapi DM tipe 2. Indonesia merupakan negara tropis dengan keanekaragaman hayati yang berpotensi sebagai salah satu agen antidiabetes. Salah satunya adalah tanaman kepel (*Stelechocarpus burahol*). Daun kepel kaya akan kandungan fenol, dimana fenol sendiri memiliki aktivitas sebagai agen antidiabetes dengan menghambat pada pencernaan pati. Sehingga tujuan pada penelitian ini adalah mengetahui aktivitas penghambatan enzim α -amilase oleh ekstrak daun kepel, serta penetapan kadar fenol total dimana fenol diduga sebagai salah satu metabolit aktif pada daun kepel yang mampu menghambat enzim α -amilase.

Jenis penelitian ini adalah *experimental laboratories*, dengan membandingkan aktivitas penghambatan enzim α -amilase dari kontrol positif (akarbose), kontrol negatif, dan ekstrak daun kepel. Tahap pertama yaitu ekstraksi kayu secang dengan metode remaserasi, selanjutnya dilakukan penetapan kadar fenol total pada ekstrak daun kepel, setelah itu dilanjutkan dengan uji aktivitas penghambatan ekstrak terhadap enzim α -amilase menggunakan metode spektrofotometri. Metode yang digunakan adalah dengan penentuan total gula reduksi yang terbentuk dengan penambahan reagen 3,5-dinitrosalisilat (DNS), kemudian dianalisis dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 540 nm. Masing-masing sampel akan dilakukan 3 kali replikasi. Semakin kecil absorbansi, maka penghambatannya semakin besar, menandakan semakin baik potensinya sebagai inhibitor enzim α -amilase. Parameter penghambatan enzim α -amilase ditetapkan menggunakan nilai IC_{50} (*Inhibitory Concentration*), nilai IC_{50} didefinisikan sebagai konsentrasi ekstrak, yang mengandung inhibitor α -amilase yang menghambat 50% aktivitas α -amilase dalam kondisi pengujian.

Pada hasil penelitian menunjukkan jika nilai IC_{50} akarbose sebesar $41,429 \pm 0,428 \mu\text{g/mL}$, sedangkan nilai IC_{50} ekstrak daun kepel sebesar $439,975 \pm 2,613 \mu\text{g/mL}$. Aktivitas yang terdapat pada ekstrak daun kepel diduga disebabkan karena

adanya senyawa fenol, dimana pada penetapan kandungan fenol total didapatkan kandungan fenol tptal sebesar $210,279 \pm 0,672$ mg GAE/g sampel .

Data IC_{50} kemudian dianalisis dengan Uji T-test tidak berpasangan untuk mengetahui perbedaan IC_{50} antara akarbose dan ekstrak daun kepel, didapatkan nilai $p < 0,001$ yang menunjukkan perbedaan signifikan antara akarbose dan ekstrak daun kepel dalam aktivitasnya menghambat enzim α -amilase. Berdasarkan nilai IC_{50} yang didapatkan menunjukkan bahwa akarbose adalah inhibitor enzim α -amilase yang sangat kuat, sedangkan potensi ekstrak daun kepel tergolong sangat lemah. Hal ini menunjukkan bahwa aktivitas penghambatan enzim α -amilase dari daun kepel lebih lemah dibandingkan kontrol positif akarbose



PRAKATA

Puji syukur atas kehadiran Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul: “Uji Aktivitas Antidiabetes Ekstrak Daun Kepel (*Stelechocarpus burahol*) Secara In Vitro Menggunakan Metode Inhibisi Enzim α -Amilase”. Skripsi ini disusun dalam rangka memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) di Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak, oleh karena itu penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih kepada :

1. Tuhan Yang Maha Esa atas semua karunia yang telah diberikan;
2. Ibu Lestyo Wulandari, S.Si., Apt., M.Farm. selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember atas kesempatan yang diberikan kepada penulis untuk menyelesaikan skripsi ini;
3. Ibu Diana Holidah, S.F., M.Farm., Apt selaku Dosen Pembimbing Utama, dan Ibu Dr. Fifteen A. F, S.Farm., M.Farm., Apt. selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah meluangkan waktu, pikiran, tenaga serta perhatiannya untuk memberikan ilmu, bimbingan, dan pengarahan demi terselesaikannya penulisan skripsi ini;
4. Ibu Ika Puspita Dewi., S.Farm., M. Biomed., Apt dan Ibu Fransiska Maria C., S.Farm., Apt., M.Farm selaku Dosen Penguji yang telah memberikan kritik, saran dan masukan yang membangun dalam penulisan skripsi ini;
5. Ibu Indah Purnama Sary ., S.Si., M.Farm., Apt. Selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah memberikan pengarahan selama masa perkuliahan;
6. Seluruh Dosen Fakultas Farmasi Universitas jember yang telah memberikan ilmu pengetahuan dan bimbingan kepada penulis selama menempuh pendidikan studi;
7. Mbak Dinik dan Mbak Indri selaku Teknisi Laboratorium Farmakologi Fakultas Farmasi Universita Jember yang telah membantu selama penelitian ini;
8. Ayah Suparminoko, Ibu Siti Rubi'ah, Kakak Heni dan Diah, serta seluruh keluarga besar Bani Duyung dan Darmo Ijoyo, atas segala do'a, motivasi dan kasih sayang yang telah diberikan;

9. Sahabat tercinta Tim GS Finola, Leilani, Tiara dan juga Amel yang senantiasa memberikan dukungan dan penyemangat, serta berkenan kebersamai dalam suka dan duka;
10. Tim FIMES (Finola, Ines, Sabda) terima kasih telah memberikan dukungan serta kerjasama terbaik dalam penelitian ini.
11. Teman-teman Bulbin (Yesika, Shafira, Elin, Jeni, Hariz, Uwik, Finola, dan Amel) yang selalu menjadi penyemangat dalam melalui masa-masa senang dan susah selama menjadi mahasiswa S1 farmasi;
12. Fadhilah Rachman yang senantiasa memberikan semangat serta tempat berkeluh kesah selama penyelesaian skripsi ini;
13. Teman-teman KKN 49 Silo (Finola, Fany, Lisa, Mutiara, Devi, Haecal, dan Ivan) serta seluruh warga Desa Silo yang telah memberikan keceriaan, dukungan, dan pengalaman yang berarti bagi penulis;
14. Teman-teman Yudya Residence 2016 yang selalu memberikan semangat serta keceriaan.
15. Teman-teman Fakultas Farmasi Universitas Jember 2016 (Morfin) yang menemani penulis selama perkuliahan dan dalam proses mengerjakan skripsi ini;
16. Serta semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu, yang terlibat baik secara langsung maupun tidak langsung atas bantuan serta kerjasamanya.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari sempurna. Oleh karena itu, penulis mengharapkan saran dan kritik dari semua pihak demi kesempurnaan penulisan skripsi ini. Penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi kita semua. Aamiin.

Jember, 28 Juni 2020

Penulis

DAFTAR ISI

PERSEMBAHAN	iii
PERNYATAAN	v
PERSETUJUAN PEMBIMBING	vii
RINGKASAN	viii
PRAKATA	x
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Manfaat Penelitian	4
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Diabetes Melitus	5
2.1.1 Definisi dan Patofisiologis Diabetes Melitus.....	5
2.1.2 Klasifikasi Diabetes Melitus	5
2.1.3 Gejala dan Komplikasi Diabetes Melitus.....	6
2.1.4 Diagnosis Diabetes Melitus.....	7
2.1.5 Tinjauan Tentang Terapi Diabetes Melitus.....	7
2.2 Digesti dan Absorpsi Karbohidrat	12
2.3 Enzim α-Amilase	14
2.4 Inhibitor Enzim α-Amilase	16
2.5 Akarbose	17
2.6 Uji Penghambatan Enzim α-Amilase	18
2.7 Tinjauan Tentang Tanaman Kepel	20
2.7.1 Klasifikasi Tanaman Kepel.....	20
2.7.2 Deskripsi dan Morfologi Tanaman Kepel.....	21
2.7.3 Kandungan dan Manfaat Kepel.....	21
2.8 Tinjauan Fenol	22

2.8.1	Fenol.....	22
2.8.2	Penetapan Kandungan Fenol Total	23
BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN		24
3.1	Jenis Penelitian	24
3.2	Tempat dan Waktu Penelitian	24
3.3	Variabel Penelitian	24
3.1.1	Variabel Bebas	24
3.1.2	Variabel Terikat	24
3.1.3	Variabel Terkendali.....	24
3.4	Definisi Operasional	24
3.5	Bahan dan Alat Penelitian	25
3.5.1	Bahan Penelitian.....	25
3.5.2	Alat penelitian	25
3.6	Prosedur Penelitian	25
3.6.1	Pembuatan Ekstrak Daun Kepel (<i>Stelechocarpus burahol</i>).....	25
3.6.2	Penetapan Kadar Fenol Total	26
3.6.3	Pembuatan Larutan dan Reagen.....	27
3.6.4	Uji Aktivitas Inhibisi Enzim α -amilase.....	28
3.6.5	Analisis Data.....	30
3.6.6	Skema Rancangan Penelitian	31
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN		32
4.1	Hasil.....	32
4.1.1	Ekstraksi Daun Kepel.....	32
4.1.2	Penetapan Kandungan Fenol Total	32
4.1.3	Uji aktivitas penghambatan enzim α -amilase	33
4.2	Pembahasan	35
BAB 5 PENUTUP		41
5.1	Kesimpulan	41
5.2	Saran.....	41
DAFTAR PUSTAKA		42
LAMPIRAN.....		49

DAFTAR TABEL

Tabel 3. 1 Sistem Pengujian Enzim α -Amilase	29
Tabel 4. 1 Perhitungan Kadar Fenol Total.....	33



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Dua jenis polimer glukosa yang terdapat dalam pati : (A) amilosa dan (B) amilopektin	12
Gambar 2.2 Mekanisme absorpsi pada kondisi normal (A) dan pada kondisi DM (B).	13
Gambar 2.3 Struktur α -amilase	15
Gambar 2.4 Struktur Kimia Akarbose	17
Gambar 2.5 Tahapan reaksi reduksi DNS	19
Gambar 4. 1 Kurva standar asam galat	32
Gambar 4. 2 Kurva hubungan konsentrasi terhadap % penghambatan α -amilase dari akarbose	34
Gambar 4. 3 Kurva hubungan konsentrasi terhadap % penghambatan α -amilase dari ekstrak daun kepel.....	34
Gambar 4. 4 perbandingan nilai IC_{50} dari akarbose dan ekstrak daun kepel	35
Gambar 4. 5 Gambar struktur cincin B pada flavonoid yang diduga berikatan dengan subsite-1 pada protein enzim α -amilase (Piparo dkk., 2008)	39
Gambar 4. 6 Prediksi ikatan flavonoid dengan Asp197, Glu233, Asp300, Leu162 dan Val163 menempati subsite -2 dan -1 (Proença dkk., 2019).....	40

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Diabetes melitus (DM) merupakan suatu gangguan metabolisme yang ditandai dengan hiperglikemia, disebabkan oleh abnormalitas metabolisme karbohidrat, lipid dan protein dalam tubuh. Kondisi ini disebabkan adanya gangguan pada insulin seperti menurunnya produksi insulin dan berkurangnya sensitivitas insulin (Hall, 2016). Secara umum DM diklasifikasikan dalam empat tipe, yakni DM tipe 1, DM tipe 2, DM gestasional dan DM spesifik lainnya. DM tipe 1 merupakan DM yang disebabkan kerusakan pada sel β -pankreas akibat autoimun sehingga tubuh kekurangan hormon insulin. DM tipe 2 disebabkan oleh defisiensi produksi insulin oleh pankreas secara progresif dan menurunnya sensitivitas reseptor terhadap insulin. DM tipe gestasional merupakan DM yang dialami oleh wanita hamil pada trimester kedua atau ketiga. DM tipe lain disebabkan adanya kelainan genetik, hormon insulin, infeksi, endokrinopati dan penggunaan obat-obatan yang dapat menurunkan kerja dan sekresi hormon insulin (ADA, 2019).

Jumlah penderita DM cenderung mengalami peningkatan setiap tahunnya. Menurut *International Diabetes Federation* (IDF) pada tahun 2019 jumlah penderita DM di seluruh dunia pada usia 20-79 tahun berjumlah 463 juta jiwa. Jumlah ini diperkirakan akan mengalami peningkatan menjadi 578 juta jiwa pada tahun 2030 dan 700 juta jiwa pada tahun 2045. Berdasarkan data statistik IDF tahun 2019 Indonesia menempati peringkat ke tujuh dalam jumlah penderita DM di dunia setelah China, India, Amerika Serikat, Pakistan, Brazil, dan Meksiko dengan 10,7 juta jiwa (IDF, 2019). Menurut hasil Riskesdas pada tahun 2018 prevalensi DM di Indonesia terus mengalami peningkatan, pada tahun 2018 jumlah penduduk Indonesia diatas 15 tahun yang menderita DM sebesar 8,5%. Nilai ini menunjukkan terjadinya peningkatan sebesar 1,6% dibandingkan tahun 2013 yakni sebesar 6,9% (Kementrian Kesehatan RI, 2018)

Peningkatan prevalensi DM membutuhkan penanganan yang cepat dan efektif. Terapi DM yang diberikan secara umum digunakan untuk menghilangkan gejala hiperglikemia yang muncul dan menurunkan faktor resiko yang mungkin terjadi pada penderita DM. Terdapat dua jenis terapi yang dapat diberikan pada penderita DM, yakni terapi farmakologi dan terapi non farmakologi. Terapi non farmakologi yang dapat dilakukan adalah modifikasi gaya hidup seperti diet dan olahraga secara teratur (ADA, 2019). Terapi farmakologi DM menurut Kementerian Kesehatan RI (2018) dapat dilakukan menggunakan obat antidiabetes (OAD) dan insulin maupun kombinasi dari keduanya. Pengobatan pada penderita DM cenderung membutuhkan waktu yang lama baik untuk memperbaiki gejala, mengurangi resiko komplikasi mikrovaskuler dan makrovaskuler, mengurangi angka kematian, meningkatkan kualitas hidup maupun menjaga agar kadar glukosa darah dan HbA_{1c} berada dalam rentang normal (DiPiro, 2015). Pemakaian OAD jangka panjang dilaporkan dapat menyebabkan kemungkinan terjadinya efek samping pada pasien seperti mual pada penggunaan metformin (18,25%) dan glimepirid (13,33%), serta hipoglikemia pada penggunaan glibenklamid (15,79%) (Putra dkk, 2017).

Perkembangan DM tipe 2 dapat diketahui melalui hiperglikemia *postprandial* yakni kadar glukosa setelah makan. Salah satu strategi yang dapat dilakukan adalah dengan mengontrol hiperglikemia *postprandial* (Baron, 1998). Mengontrol hiperglikemia *postprandial* dapat dilakukan dengan menghambat enzim α -amilase dan α -glukosidase (Muchid dkk, 2005). Enzim α -amilase dan α -glukosidase merupakan enzim yang berperan dalam metabolisme karbohidrat. Enzim α -amilase berperan dalam mendegradasi karbohidrat kompleks menjadi lebih sederhana yaitu oligosakarida dan disakarida yang akhirnya akan diubah menjadi karbohidrat lebih sederhana lagi yaitu monosakarida oleh enzim α -glukosidase. Monosakarida yang terbebas akan diabsorpsi dalam lumen usus dan menyebabkan hiperglikemia *postprandial*. Oleh karena itu penghambatan pada kedua enzim tersebut mampu membatasi kadar glukosa darah dengan mengurangi pencernaan karbohidrat kompleks dan absorpsinya, sehingga berguna dalam manajemen terapi pada DM tipe 2 (Lebovitz, 1997).

Salah satu OAD yang bekerja sebagai inhibitor α -glukosidase adalah akarbose dan miglitol (DiPiro, 2008). Golongan obat ini berperan dalam menghambat enzim α -glukosidase di dinding usus halus dan mampu menghambat enzim α -amilase pankreas yang bekerja menghidrolisis polisakarida di dalam lumen usus halus. Penghambatan kerja enzim tersebut efektif dalam mengurangi pencernaan karbohidrat kompleks dan absorpsinya, sehingga dapat memperlambat absorpsi glukosa ke dalam darah dan mengurangi hiperglikemia postprandial pada penderita DM (Muchid dkk, 2005). Terdapat perbedaan antara akarbose dan miglitol pada absorpsinya, sehingga menjadi salah satu alasan pemilihan akarbose dibandingkan miglitol (Gardner & Shoback, 2011). Namun penggunaan akarbose dalam jangka panjang pada pengobatan DM dapat menimbulkan efek samping pada saluran cerna seperti perut kembung (*flatulence*), diare, distensi abdomen dan keroncongan (*borborygmus*) (Balfour dkk., 1993; Walker & Whittlesea, 2012).

Indonesia merupakan negara tropis dengan keanekaragaman hayati yang berpotensi sebagai salah satu agen antidiabetes. Salah satu tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai tanaman obat adalah kepel (*Stelechocarpus burahol*). Pada daun kepel kaya akan kandungan fenol dimana diduga memiliki aktivitas sebagai antidiabetes melalui penghambatan pada pencernaan pati (karbohidrat) (Asgar, 2013). Proses tersebut akan menurunkan jumlah glukosa dan menunda penyerapan glukosa dalam tubuh. Penundaan penyerapan glukosa akan menekan kondisi hiperglikemia (Funke & Melzig, 2005).

Ekstrak etanol daun kepel dosis 200mg/kg BB mampu menurunkan kadar glukosa darah 53,45% sebanding dengan penggunaan glibenklamid pada mencit diabetes yang diinduksi aloksan (Jeany, 2018). Penelitian secara *in vitro* dengan metode DPPH menunjukkan jika kandungan fenol dan flavonoid pada daun kepel memiliki aktivitas sebagai antioksidan dan memiliki nilai IC_{50} 18,089 μ g/mL (Rosalina, 2014). Penelitian mengenai aktivitas antidiabetes melalui penghambatan terhadap enzim α -amilase dari ekstrak daun kepel (*Stelechocarpus burahol*) belum dilakukan sebelumnya. Oleh sebab itu pada penelitian ini akan dilakukan penentuan aktivitas ekstrak daun kepel (*Stelechocarpus burahol*) sebagai antidiabetes melalui penghambatan α -amilase secara *in vitro*. Pada penelitian ini juga dilakukan

penetapan kadar fenol pada ekstrak daun kepel karena aktivitas antidiabetes melalui penghambatan terhadap enzim α -amilase diduga karena adanya senyawa tersebut.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian di atas, maka permasalahan yang timbul adalah :

1. Bagaimana aktivitas penghambatan (IC_{50}) ekstrak daun kepel (*Stelechocarpus burahol*) terhadap enzim α -amilase?
2. Bagaimanakah perbandingan aktivitas penghambatan terhadap enzim α -amilase dari ekstrak daun kepel (*Stelechocarpus burahol*) dengan akarbose?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini sebagai berikut.

1. Menentukan IC_{50} ekstrak daun kepel (*Stelechocarpus burahol*) dalam menghambat enzim α -amilase secara in vitro
2. Menentukan perbandingan aktivitas penghambatan ekstrak daun kepel (*Stelechocarpus burahol*) dibandingkan dengan akarbose

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat yang diharapkan dari penelitian ini adalah sebagai berikut

1. Memberikan informasi mengenai aktivitas penghambatan enzim α -amilase ekstrak daun kepel (*Stelechocarpus burahol*) secara in vitro.
2. Ekstrak daun kepel (*Stelechocarpus burahol*) dapat dimanfaatkan sebagai alternatif pengobatan antidiabetes alami sehingga diharapkan mampu meningkatkan nilai ekonomis dari tanaman tersebut
3. Dapat menjadi landasan atau sumber rujukan untuk penelitian lebih lanjut terkait dengan penyakit diabetes dan tanaman kepel (*Stelechocarpus burahol*)

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Diabetes Melitus

2.1.1 Definisi dan Patofisiologis Diabetes Melitus

Diabetes melitus (DM) merupakan kondisi kronis yang diakibatkan kekurangan insulin baik secara absolut maupun relatif, gangguan sekresi insulin maupun gangguan kinerja dari insulin. Secara klinis DM terjadi intoleransi glukosa yang dapat menyebabkan hiperglikemia serta perubahan pada metabolisme lipid dan protein (Koda-Kimble, 2013).

2.1.2 Klasifikasi Diabetes Melitus

Menurut ADA 2019, DM diklasifikasikan menjadi 4 tipe yaitu:

a. Diabetes Melitus tipe 1

DM tipe 1 terjadi karena adanya kerusakan pada sel β -pankreas yang disebabkan oleh reaksi autoimun. Reaksi ini terjadi karena adanya faktor pencetus seperti infeksi virus atau toksin seperti rubela, *cytomegalovirus*, herpes dan lain-lain serta individu yang rentan secara genetik. Infeksi tersebut dapat menyebabkan inflamasi pada sel β -pankreas sehingga sel tidak dapat memproduksi insulin secara absolut. Pada DM tipe 1 kadar glukosa darah akan meningkat ketika massa sel β -pankreas mengalami kerusakan 80%-90% (Koda-Kimble, 2013)

b. Diabetes Melitus tipe 2

Hiperglikemia pada DM tipe 2 ditandai dengan kurangnya sensitivitas insulin sebagai akibat dari resistensi insulin, menurunnya sekresi insulin serta adanya kerusakan sel β -pankreas (Olokoba, 2012). Menurunnya sensitivitas insulin mengakibatkan terganggunya transportasi glukosa baik ke sel hati, sel otot maupun sel-sel lemak. Selain itu penurunan sensitivitas insulin menyebabkan terjadinya gangguan metabolisme karbohidrat sehingga terjadi peningkatan glukosa (Hall, 2016). Ketika terjadi resistensi insulin, maka insulin tidak dapat bekerja secara optimal pada sel target sehingga memaksa pankreas untuk melakukan kompensasi dengan meningkatkan produksi insulin. Ketika produksi insulin oleh sel β -pankreas

tidak adekuat untuk mengkompensasi peningkatan resistensi insulin, maka akan terjadi hiperglikemia kronik (Decroli dkk, 2019).

Pada DM tipe 2 berhubungan dengan peningkatan berat badan dan obesitas, selain itu bertambahnya usia dapat menyebabkan terjadinya resistensi insulin. Terapi utama pada DM tipe 2 menggunakan OAD (DiPiro, 2015). Penderita DM tipe 2 membutuhkan terapi insulin apabila menggunakan OAD atau terapi lain tidak mampu mencapai target terapi yakni $HbA_{1C} \leq 6,5\%$ pada pasien tanpa penyakit serius lainnya dan resiko hipoglikemik rendah (AACE, 2019). Jumlah penderita DM tipe 2 mencapai 90-95% dari keseluruhan penderita diabetes (ADA, 2019)

c. Diabetes melitus gestasional

DM gestasional atau *Gestational Diabetes Mellitus* (GDM) merupakan peningkatan glukosa darah selama kehamilan yang terjadi pada trimester kedua dan ketiga kehamilan. DM gestasional merupakan gangguan sementara pada saat kehamilan dan akan kembali normal setelah kehamilan. Wanita hamil dengan kondisi hiperglikemia beresiko mengalami DM tipe 2 dalam jangka waktu 5-10 tahun mendatang. Bayi yang lahir dengan ibu DM gestasional cenderung beresiko tinggi untuk mengalami obesitas dan DM tipe 2 (ADA, 2019).

d. Diabetes melitus tipe lain

DM tipe lain disebabkan oleh penyebab lain selain pada tipe 1, tipe 2 dan GDM. Misalnya terjadi defek genetik fungsi sel β -pankreas dan kerja insulin, penyakit pada kelenjar eksokrin pankreas (seperti fibrosis sistik dan pankreatitis), gangguan pada endokrin (adanya ekskresi berlebih hormon yang merupakan antagonis insulin) dan obat-obatan atau zat kimia yang menginduksi terjadinya DM (seperti glukokortikoid, terapi HIV/AIDS atau pasca transplantasi organ), infeksi infeksi (rubella, Coxsackie B serta virus seperti *cytomegalovirus* dan adenovirus) (Baynest dkk, 2015;Tripathi 2019).

2.1.3 Gejala dan Komplikasi Diabetes Melitus

DM dapat muncul dengan berbagai gejala khas yakni poliuria (sering buang air kecil), polidipsi (sering merasa haus), polifagi (mudah merasa lapar), pandangan kabur, penurunan berat badan, kesemutan atau mati rasa di tangan maupun kaki,

mudah terinfeksi jamur pada daerah genital apabila terjadi luka maka proses penyembuhannya cenderung lama. Manifestasi klinis yang paling parah yakni ketoasidosis atau keadaan hiperosmolar non-ketonik yang dapat menyebabkan dehidrasi, koma bahkan dapat berujung pada kematian. Gejala-gejala yang timbul pada setiap pasien dapat dijadikan sebagai acuan dalam menegakkan diagnosis (IDF, 2017).

Komplikasi DM dapat dibagi menjadi dua, yakni komplikasi akut dan komplikasi kronis. Komplikasi akut yang terjadi dapat berujung kematian pada pasien DM. Komplikasi akut yang banyak terjadi yakni hipoglikemia, ketoasidosis metabolik karena kadar glukosa sangat tinggi, kondisi hiperglikemia hiperosmolar, koma, kejang, dan infeksi. Komplikasi kronis dapat terbagi menjadi komplikasi makrovaskular dan komplikasi mikrovaskular. Komplikasi makrovaskular meliputi gangguan pada kardiovaskular dan serebrovaskular. Komplikasi mikrovaskular yang sering terjadi nefropati, neuropati, dan retinopati (Forbes dkk, 2013).

2.1.4 Diagnosis Diabetes Melitus

Tes diagnostik pada DM yang direkomendasikan adalah kadar glukosa plasma puasa, glukosa plasma dua jam setelah makan setelah tes toleransi glukosa oral (TTGO), kadar HbA_{1c} dan glukosa darah acak apabila terdapat tanda dan gejala DM. Individu dengan kadar glukosa plasma puasa ≥ 126 mg/dl (7,0 mmol/L), glukosa plasma dua jam setelah makan ≥ 200 mg/dl (11,1 mmol/L), HbA_{1c} $\geq 6,5\%$ (48 mmol/mol) atau glukosa darah acak ≥ 200 mg/dl (11,1 mmol/L), dengan adanya tanda maupun gejala DM, maka dianggap memiliki DM. Diagnosa dapat ditegakkan apabila minimal uji pada salah satu kriteria diulang sebanyak dua kali atau uji dilakukan dengan dua kriteria memiliki nilai diatas ambang batas normal kadar glukosa atau HbA_{1c} yang ditetapkan (ADA, 2019).

2.1.5 Tinjauan Tentang Terapi Diabetes Melitus

Penatalaksanaan terapi pada DM memiliki tujuan untuk menghilangkan gejala, meningkatkan kualitas hidup pasien, mengurangi adanya resiko komplikasi akut maupun kronis serta menurunkan morbiditas dan mortalitas dari DM. Terdapat

tiga komponen utama dalam terapi DM, yakni diet nutrisi, penggunaan obat-obatan (insulin dan OAD) dan olahraga.

a. Terapi Non-Farmakologi

1) Diet

Diet nutrisi atau pengaturan pola makan memiliki peran penting dalam pengobatan DM. Diet yang dianjurkan yakni makanan dengan komposisi seimbang antara karbohidrat protein dan lemak (DiPiro, 2015). Diet dengan penurunan 5% berat badan mampu menurunkan kadar HbA_{1c} sebanyak 0,6%, setiap kilogram penurunan berat badan berhubungan dengan 3-4 bulan tambahan waktu harapan hidup. Pilihan jenis makanan juga diperhatikan, dianjurkan mengkonsumsi makanan yang berserat. Hal ini diharapkan penyerapan lemak akan dihambat sehingga dapat menurunkan resiko masukan kalori berlebih (Muchid dkk, 2005).

2) Olahraga

Olahraga atau aktivitas fisik turut mendukung terhadap keberhasilan terapi secara non-farmakologi. Olahraga secara teratur mampu menurunkan dan menjaga kadar glukosa darah tetap normal. Olahraga yang dianjurkan yakni kurang lebih 150 menit/minggu dengan intensitas sedang (50-70% denyut jantung maksimal), tiga hari dalam seminggu dengan tidak lebih dari dua hari antara tiap aktivitas. Latihan aerobik dapat meningkatkan sensitivitas dari insulin, sedikit mampu meningkatkan kontrol glikemik, mengurangi resiko terjadinya penyakit kardiovaskular dan berkontribusi dalam penurunan berat badan (DiPiro, 2015).

b. Terapi Farmakologi

Terapi farmakologi dapat dilakukan dengan menggunakan OAD dan insulin. Terapi insulin dapat diklasifikasikan berdasarkan lama kerjanya menjadi 5 golongan, yakni :

- 1) *Rapid-acting insulin* (insulin aspart, insulin lispro, insulin glulisin, inhaled insulin)
- 2) *Short-acting insulin*
- 3) *Intermediate-acting insulin (nph)*
- 4) *Long acting insulin* (insulin glargine, insulin detemir, insulin degludec)
- 5) *Premixed insulin*

Terdapat sembilan golongan OAD yang disetujui untuk digunakan pada pasien DM, yakni:

1) Biguanida

Golongan obat ini dibagi menjadi tiga jenis yakni fenformin, buformin dan metformin. Metformin merupakan satu-satunya dari golongan ini yang masih digunakan sebagai obat hiperglikemik oral. Mekanisme dari metformin yaitu menghambat glukoneogenesis dan meningkatkan penggunaan glukosa di jaringan. Obat ini akan bekerja secara efektif apabila terdapat insulin endogen. Efek samping dari obat ini adalah mual, muntah, diare, nyeri perut, anoreksia, penurunan penyerapan vitamin B₁₂, eritema, pruritus, urtikaria dan hepatitis, rasa logam, asidosis laktat (IONI, 2015).

2) Sulfonilurea

Sulfonilurea mampu menurunkan kadar glukosa darah dengan meningkatkan sekresi insulin dari sel β -pankreas, menyebabkan saluran kalium sensitif ATP akan tertutup dan terjadi depolarisasi membran. Saluran kalsium terbuka dan memungkinkan kalsium untuk masuk ke dalam sel. Meningkatnya kalsium intraseluler menyebabkan translokasi granula sekretori ke permukaan sel dan eksositosis granula insulin (Tripathi 2019). Golongan sulfonilurea terdiri dari generasi pertama (klorpropamida, tolazamida, tolbutamid dan asetoheksamid) yang cenderung memiliki potensi lebih rendah dibandingkan dengan generasi kedua (gluburida, glipizida, glikazida, glimepirida, dan glikuidon). Efek samping yang umum terjadi pada penggunaan obat golongan ini adalah ataksia, depresi, hipoestesi, insomnia, nyeri paresthesia, kantuk, sakit kepala, diaforesis, pruritus, hipoglikemik, diare, perut kembung, dan muntah (Ganesan & Sultan 2019).

3) Meglitinida

Meglitinida mampu meningkatkan sintesis dan sekresi dari insulin dengan cara berikatan di sisi benzamido pada reseptor sulfonilurea, sehingga akan menghambat kanal kalium sensitif *Adenosine triphosphate* (ATP), hal ini mengakibatkan terbukanya kanal kalium dan terjadi peningkatan kalsium intraseluler (Tripathi 2019). Contoh dari golongan ini adalah nateglinide dan repaglinide (Pamela dkk, 2019). Efek samping yang mungkin terjadi setelah

penggunaan repaglinide adalah gangguan pada saluran cerna, sedangkan penggunaan nateglinide dapat menyebabkan infeksi pada saluran nafas bagian atas (Muchid dkk, 2005).

4) Tiazolidindion (TZD)

Contoh dari golongan TZD adalah rosiglitazon, pioglitazon dan troglitazon, dimana penggunaan troglitazon telah ditarik dari pasaran. TZD bekerja dengan berikatan pada reseptor *peroxisome proliferator activator receptor- γ* (PPAR- γ) di otot, jaringan lemak dan hati untuk menurunkan resistensi insulin (Krentz 2005). Efek samping dari TZD adalah edema, hipoglikemia, gagal jantung, sakit kepala, patah tulang, mialgia, sinusitis, dan faringitis (Ganesan & sultan 2019).

5) Inhibitor *Dipeptidyl Peptidase* (DPP-4)

Gliptin merupakan obat yang termasuk dalam inhibitor DPP-4, termasuk di dalamnya adalah sitagliptin, vildagliptin, saxagliptin, linagliptin dan alogliptin. Inhibitor DPP-4 menghambat perjalanan glukosa darah setelah makan. Penghambatan terhadap enzim DPP-4 dapat memperpanjang waktu paruh *glucagone like peptide-1* (GLP-1) dan *gastric inhibitory polypeptide* (GIP). Kedua hormon tersebut merupakan hormon inkretin yang mampu meningkatkan sekresi insulin, menghambat glukagon dan memperlambat proses pengosongan lambung (Tripathi 2019). Efek samping dari obat ini yaitu mual dan muntah yang biasa muncul pada awal pengobatan. Gangguan fungsi kekebalan dan infeksi saluran pernapasan pernah dilaporkan terjadi pada beberapa pengguna obat ini. Obat golongan ini dikontraindikasikan pada pasien yang memiliki riwayat penyakit pankreatitis, penyakit ginjal dan penyakit hati berat (Ahmed dkk., 2012)

6) Inhibitor *Sodium-Glucose Cotransporters 2* (SGLT2)

Inhibitor SGLT2 telah disetujui oleh *Food and Drug Administration* (FDA) yakni canagliflozin, dapagliflozin, dan empagliflozin. Proses reabsorpsi glukosa dari urin dalam tubulus proksimal difasilitasi oleh SGLT, dengan menghambat SGLT2 maka proses reabsorpsi glukosa di tubulus proksimal akan menurun dan kadar glukosa plasma berkurang sehingga terjadi glukosuria (DiPiro, 2015). Efek samping yang mungkin timbul dari obat ini adalah dislipidemia, peningkatan produksi urin, disuria, influenza, patah tulang dan gangguan ginjal (Ganesan &

Sultan, 2019).

7) Agonis dopamin

Bromokriptin mesilat merupakan agonis dopamin yang penggunaannya telah disetujui oleh FDA untuk pengobatan pada DM tipe 2. Rendahnya kadar dopamin pada hipotalamus akan mengurangi aktivitas simpatik. Efek ini meningkatkan sensitivitas insulin di hati dan menurunkan output dari glukosa hepatic (DiPiro, 2015). Efek samping yang umum terjadi adalah hipotensi, pusing, pingsan, mual, mengantuk, sakit kepala, dan eksaserbasi gangguan psikotik (Koda-Kimble, 2013).

8) *Bile Acid Sequestrants*

Kolesevelam merupakan salah satu obat golongan *Bile Acid Sequestrants* yang telah disetujui penggunaannya oleh FDA. Obat ini digunakan sebagai terapi tambahan dan meningkatkan kontrol dari glukosa pada pasien DM tipe 2. Obat ini ditemukan efektif dalam menurunkan kadar kolesterol darah LDL (*low density lipoprotein*), mengurangi morbiditas dan mortalitas penyakit kardiovaskular namun memiliki efek yang minim dalam penurunan kadar glukosa (Ahmed dkk., 2012). Efek samping dari penggunaan obat ini adalah gangguan pada saluran cerna, gangguan pada neuromuskular rangka, serta faringitis (Lecy dkk, 2009).

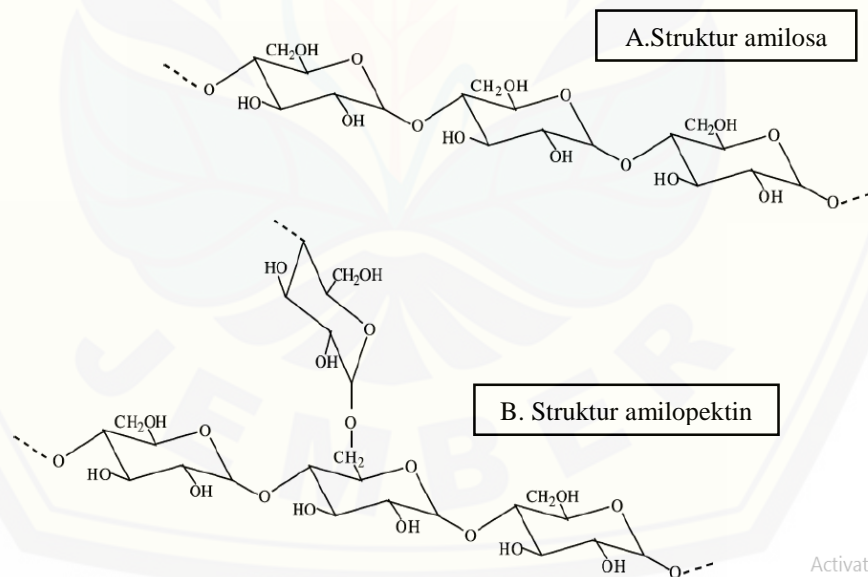
9) Inhibitor α -glukosidase

Inhibitor α -glukosidase memiliki mekanisme menghambat absorpsi dari glukosa pada umumnya digunakan untuk mengendalikan hiperglikemia *postprandial*. Inhibitor α -glukosidase secara kompetitif menghambat enzim maltase, isomaltase, sukrase dan glukoamilase di usus halus serta memperlambat pemecahan sukrosa dan karbohidrat kompleks. Hal ini mengakibatkan penundaan pada absorpsi karbohidrat sehingga memberikan waktu bagi pankreas untuk mengeluarkan insulin yang digunakan dalam regulasi glukosa. Inhibitor α -glukosidase juga menghambat enzim α -amilase, inhibisi kedua enzim ini efektif mampu mengurangi pencernaan dan absorpsi karbohidrat, sehingga mampu mengurangi peningkatan kadar glukosa *postprandial* pada penderita DM (Muchid dkk, 2005). Efek samping yang banyak terjadi akibat pemakaian dari obat ini adalah

diare, nyeri perut, lebih banyak flatus dan peningkatan transaminase (Lecy dkk, 2009).

2.2 Digesti dan Absorpsi Karbohidrat

Pati merupakan polimer dari glukosa yang dihubungkan dengan Cl oksigen, dikenal dengan ikatan glikosida. Pada akhir rantai polimer terdapat aldehida, yang dikenal sebagai ujung pereduksi (Maarel dkk, 2002). Pada pati terdapat dua polimer glukosa yaitu amilosa dan amilopektin. Amilosa (15-25% dari pati) merupakan polimer linear yang terdiri dari 6000 unit glukosa dengan ikatan glikosidik α -(1,4), sedangkan amilopektin (75-85% dari pati) terdiri dari α -(1,4) pendek yang terikat dengan rantai linear dari 10-60 unit glukosa dan α -(1,6), terikat dengan rantai samping yang terdiri dari 15-45 unit glukosa. Amilosa terbentuk dari granul yang terikat pada pati sintase yang dapat memperpanjang malto-oligosakarida. Pati sintase yang dapat larut bertanggung jawab untuk sintesis unit rantai amilopektin. (Souza & Magalhaes, 2010).

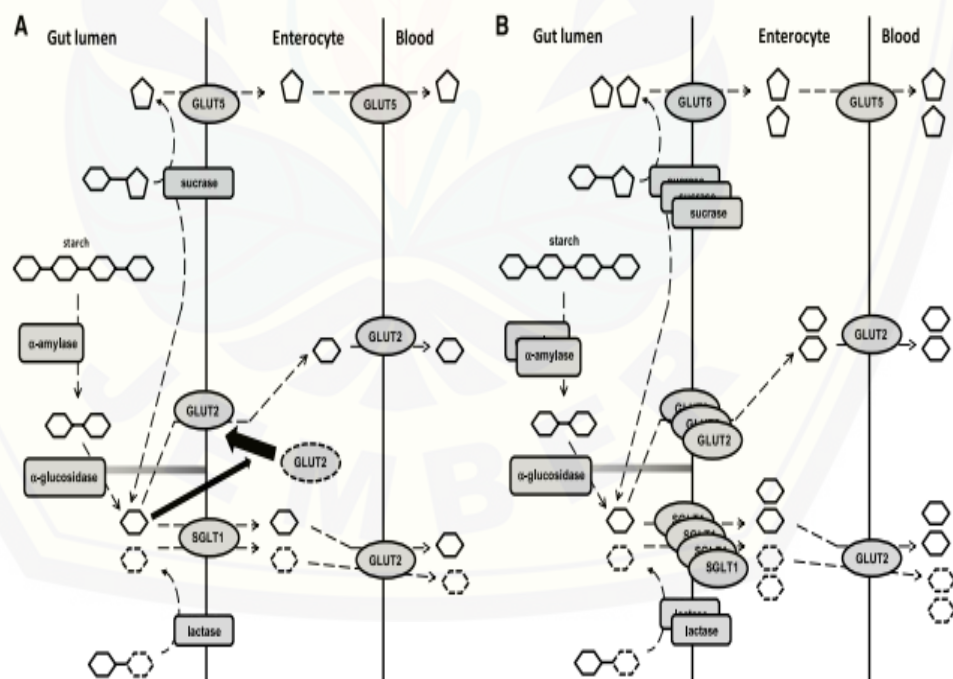


Gambar 2.1 Dua jenis polimer glukosa yang terdapat dalam pati : (A) amilosa dan (B) amilopektin (Souza & Magalhaes, 2010)

Proses pencernaan pati dimulai di dalam rongga mulut melalui sekresi α -amilase saliva (ptyalin) yang menghidrolisis ikatan α -1,4 dari pati atau amilum dan mengubahnya menjadi maltosa. Amilase pankreas atau amilopsin di usus halus

yang mencerna 60% pati. Enzim laktase pada epitel usus akan mendegradasi maltosa menjadi karbohidrat 6 karbon. Laktosa akan didegradasi menjadi glukosa dan galaktosa, sukrase didegradasi sukrosa dan fruktosa (Mac dkk, 2009). Maltrase akan didegradasi menjadi dua molekul glukosa (Dasthy dkk, 2013).

Glukosa merupakan produk utama dari pati dan disakarida, memiliki sifat sangat hidrofilik sehingga tidak dapat melewati membran biologis tanpa bantuan. Glukosa diabsorpsi dan bergerak antar jaringan menggunakan transporter, terutama terdiri dari *glucose transporter* (GLUT) dan *sodium glucose cotransporter* (SGLT) (Scheepers, 2004). GLUT2 merupakan transporter fasilitatif yang bertanggung jawab pada proses penyerapan glukosa di usus. Setelah glukosa diabsorpsi ke dalam darah melalui usus, glukosa akan masuk ke sel sel β GLUT2. Selanjutnya proses fosforilasi glukosa akan merangsang sekresi dari insulin. Insulin yang mencapai sel otot dan adiposa menyebabkan relokasi GLUT4 ke membran sel dan memfasilitasi pengambilan glukosa ke dalam jaringan (Williamson, 2013).



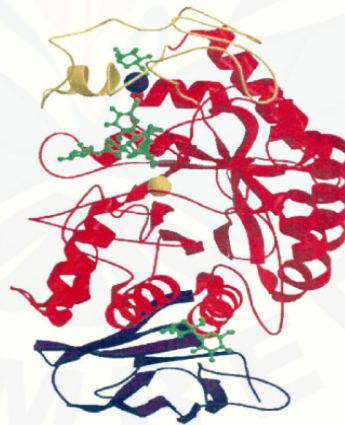
Gambar 2.2 Mekanisme absorpsi glukosa pada kondisi normal (A) dan kondisi DM (B) (Williamson, 2013).

Pada individu dengan kondisi DM, pankreas tidak menghasilkan cukup insulin, sehingga insulin yang ada tidak cukup efektif digunakan oleh tubuh. Pada kondisi tersebut proses *uptake* glukosa oleh sel target berkurang sehingga glukosa pada darah akan meningkat (Moini 2019). Pada kondisi DM banyak enzim dan transporter yang lebih responsif terhadap *uptake* glukosa di usus, sehingga terjadi peningkatan regulasi (Gambar 2.2 B). Protein SGLT1 mengalami peningkatan hingga empat kali lipat pada duodenum DM tipe 2, mRNA enzim sukrase dan laktase akan meningkat dua hingga tiga kali lipat, mRNA pada GLUT2 juga akan mengalami peningkatan hingga tiga kali lipat. Enzim α -amilase mengalami peningkatan pada kondisi DM. Peningkatan regulasi enzim dan transporter akan berkontribusi pada kondisi gangguan toleransi glukosa, sehingga menyebabkan eksaserbasi kontrol glukosa yang buruk pada DM (Aydin, 2007).

2.3 Enzim α -Amilase

α -Amilase (α -1,4-glukan-4-glukanohidrolase) merupakan produk utama yang di sekresi oleh pankreas (5-6%) dan saliva, berperan dalam proses pencernaan pati dan glikogen. α -Amilase merupakan salah satu enzim pemecah karbohidrat yang tergolong dalam *calcium metalloenzymes* karena dilengkapi dengan logam Ca yang berguna sebagai stabilisator, katalisator serta aktifator dari sisi alosterik enzim (Sales dkk, 2012). α -Amilase berperan awal dalam proses pemecahan polisakarida pada ikatan α -1,4 glikosida menjadi senyawa yang lebih sederhana yakni oligosakarida. Oligosakarida yang terbentuk akan dipecah oleh enzim lainnya (α -glukosidase) pada ikatan α -1,6-glikosida menjadi monosakarida (glukosa) untuk selanjutnya dapat diabsorpsi dengan bantuan transporter glukosa (Sim dkk., 2010). Berdasarkan hal tersebut maka enzim α -amilase berperan dalam menentukan pencernaan dan absorpsi glukosa dalam darah, khususnya pada pasien DM (Williamson, 2013). α -Amilase merupakan *endo-acting* enzim yang artinya memutus ikatan secara acak pada pati dari dalam, bukan pada ujung terminal. Hasil dari pemutusan ikatan adalah maltotriosa, maltosa dan amilosa sedangkan glukosa dan limit *dextrin* yang dihasilkan dari amilopektin (Ompusunggu dkk., 2013)

Enzim α -Amilase tersusun oleh protein yang memiliki struktur tiga dimensi yang dapat mengikat substrat oleh aksi spesifik dari kelompok katalitik, yang mampu menyebabkan kerusakan ikatan glikosidik. Enzim α -amilase pada manusia tersusun dari 512 asam amino satu rantai oligosakarida dengan berat molekul 57,6 kDa. Protein dalam enzim terdiri dari tiga domain yakni A, B, dan C (Gambar 2.3). Domain A ditandai dengan warna merah merupakan domain terbesar dengan barel khas yang berbentuk super struktur (β/α). Domain B ditandai dengan adanya warna kuning, yang berada diantara domain A dan C dan menempel pada domain A dengan ikatan disulfida. Domain C ditandai dengan warna biru yang memiliki struktur lembaran β , terhubung ke domain A oleh rantai polipeptida sederhana. Sisi aktif enzim ditandai dengan warna hijau rantai panjang yang terletak di bagian akhir gugus karboksil domain A dan B. Situs pengikatan substrat terdiri atas 5 subsitus dengan situs katalitik di subsitus 3. Terdapat ion kalsium yang ditandai dengan bola warna biru dan ion klorida yang ditandai dengan bola warna kuning. Ion kalsium pada enzim ini berperan sebagai stabilisator dan *activator allosteric* (Souza & Magalhaes, 2010).



Gambar 2.3 Struktur α -amilase Domain A ditunjukkan dengan warna merah, domain B warna kuning, dan domain C warna biru. Di pusat katalitik, ion kalsium ditampilkan dengan bentuk bola biru dan ion klorida dengan bentuk bola kuning. Struktur hijau terikat ke situs aktif dan ke permukaan situs pengikatan (Souza & Magalhaes, 2010).

Enzim α -amilase mengkatalisis proses hidrolisis pati melalui mekanisme perpindahan ganda. Mekanisme tersebut melibatkan pembentukan dan hidrolisis ikatan kovalen enzim β *glycosyl intermediate* dengan menggunakan situs aktif asam

karboksilat (Rydberg dkk, 2002). Asp197, Glu233, dan Asp300 digunakan sebagai residu katalitik. Asp197 digunakan sebagai nukleofil yang menyerang substrat pada pusat anomer gula, sehingga membentuk ikatan kovalen reaksi intermediet. Pada tahap ini reduksi ujung substrat akan memotong kerangka gula. Tahap kedua molekul air menyerang pusat anomerik dan memutus ikatan kovalen antara Asp197 dan substrat, mengikat gugus hidroksil ke pusat anomer. Kedua tahap tersebut Glu233 dan Asp300 secara individu atau kolektif bertindak sebagai katalis asam atau basa (Sales dkk, 2012).

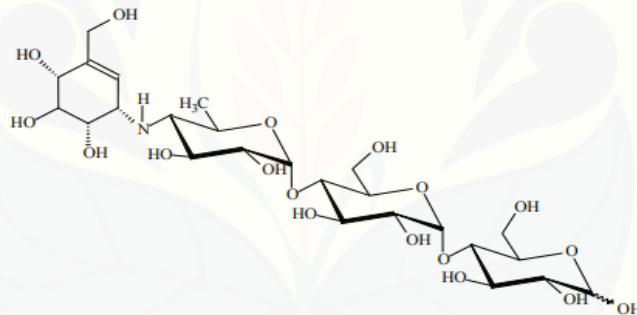
2.4 Inhibitor Enzim α -Amilase

Inhibitor enzim merupakan suatu senyawa atau zat yang dapat menghalangi aktivitas kerja enzim tersebut. Inhibitor enzim dapat dibedakan berdasarkan sifat kestabilan penghambatan menjadi dua jenis yakni inhibitor *reversible* dan inhibitor *irreversible* (Sumardjo, 2009). Inhibitor *irreversible* merupakan inhibitor yang berikatan secara kovalen atau non kovalen stabil dengan situs aktif dari enzim, mampu menyebabkan kerusakan pada beberapa gugus fungsi di sisi katalitik enzim. Inhibitor *reversible* merupakan inhibitor yang bekerja dengan mengikat sisi aktif enzim dan dapat dipisahkan kembali dari ikatannya, pada inhibitor ini reaksi kimia yang terjadi secara dua arah atau bolak-balik. Pada inhibitor *reversible* dapat diklasifikasikan menjadi inhibisi kompetitif, nonkompetitif atau unkompetitif (Sharma, 2012).

Pendekatan terapeutik pada pengobatan DM tipe 2 salah satunya dengan menurunkan glukosa darah *postprandial*, yakni dengan menghambat absorpsi glukosa melalui penghambatan pada enzim penghidrolisis karbohidrat. Adanya penghambatan terhadap enzim penghidrolisis karbohidrat yaitu α -amilase dan α -glukosidase akan berdampak pada penurunan dan penundaan dari absorpsi glukosa di dalam tubuh (Ishnava & Motisariya, 2018). Enzim α -amilase dapat dihambat oleh obat golongan inhibitor α -glukosidase (Muchid dkk, 2005). Terdapat dua golongan inhibitor α -glukosidase yang telah disetujui oleh FDA yaitu akarbose dan miglitol (DiPiro, 2015).

2.5 Akarbose

Akarbose salah satu OAD yang memiliki sasaran pada pencegahan hiperglikemia *postprandial*. Akarbose diindikasikan untuk menurunkan kadar glukosa darah pada pasien DM tipe 2 dengan kadar HbA_{1c} mendekati target, kadar glukosa plasma puasa mendekati normal namun memiliki kadar glukosa *postprandial* tinggi (Lecy dkk, 2009; DiPiro, 2015). Akarbose secara kompetitif dan *reversible* akan menghambat α -glukosidase, terutama glucoamilase dan sukrase di usus halus sehingga proses pencernaan kompleks karbohidrat akan ditunda, proses penyerapan glukosa yang terhambat akan menurunkan hiperglikemia *postprandial* (Tripathi, 2019). Akarbose mampu mengurangi konsentrasi glukosa *postprandial* 40-50 mg/dL (Manaf, 2010). Efek samping penggunaan akarbose adalah gangguan pada gastrointestinal, diare, lebih banyak flatus, rasa kurang nyaman pada perut dan peningkatan transamin (Lecy dkk, 2009).



Gambar 2.4 Struktur Kimia Akarbose (Sales dkk, 2012).

Akarbose memiliki struktur yang mirip dengan oligosakarida. Senyawa ini dihasilkan dari proses fermentasi bakteri *Actinoplanes utahensis* (Tripathy dkk, 2012). Nitrogen antar molekul pada akarbose akan menempati sisi aktif dari enzim α -glukosidase dengan kekuatan afinitas yang lebih dari substrat normal. Selama akarbose terikat dengan enzim, maka proses pencernaan karbohidrat akan terhambat. Mekanisme penghambatan ini disebabkan adanya cincin sikloheksana tak jenuh dan ikatan glikosidik nitrogen yang meniru keadaan transisi untuk pemutusan enzimatik glikosidik (Sales dkk, 2012).

Salah satu alasan pemilihan akarbose sebagai kontrol positif didasarkan pada penelitian terdahulu yang telah banyak menggunakan akarbose sebagai

kontrol positif dalam pengujian aktivitas enzim α -amilase. Penggunaan kontrol positif dalam suatu pengujian dilakukan sebagai pembuktian dari kebenaran metode yang digunakan, dan sebagai pembanding, melihat potensi kekuatan dari sampel uji. Mekanisme akarbose sebagai penghambat enzim α -amilase dengan bertindak sebagai analog pada keadaan transisi untuk hidrolisis, sehingga ikatan glikosidik dalam pati akan dihambat. Didasarkan pada persamaan reaksi dan persamaan pada struktur sisi aktif dari karbohidrat dan enzim, maka diharapkan salah satu unit dari akarbose yakni acarviosine dapat menghambat α -amilase dengan mengikat dua subsitus D-glukosa pada kedua sisi gugus katalitik (Yoon & Robyt, 2003).

2.6 Uji Penghambatan Enzim α -Amilase

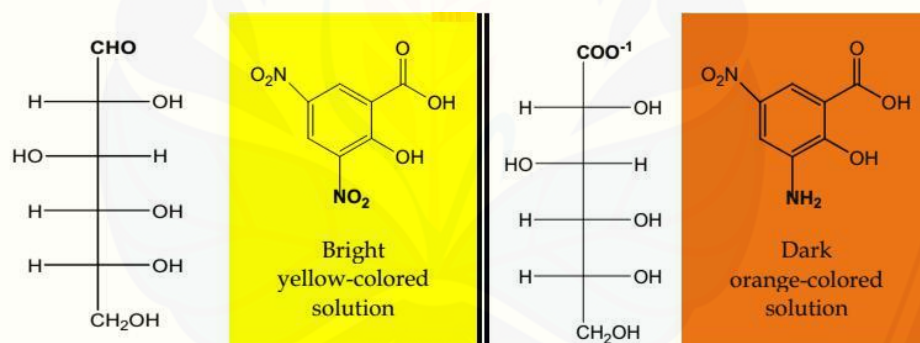
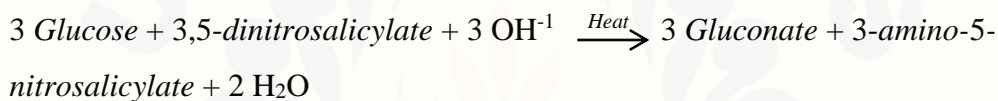
Proses uji penghambatan enzim α -Amilase secara *in vitro* dilakukan berdasarkan penurunan gula reduksi hasil dari reaksi hidrolisis pati terlarut oleh enzim α -amilase dengan adanya senyawa inhibitor. Pati yang terlarut nantinya akan dihidrolisis oleh enzim α -amilase menjadi gula reduksi oligosakarida pendek melalui pemutusan ikatan α -D-(1-4) glikosida. Akhir reaksi hidrolisis α -Amilase menghasilkan produk campuran oligosakarida, seperti maltosa, maltotriosa, dan oligosakarida bercabang dengan 6-8 unit glukosa yang mengandung baik ikatan α -1,4 maupun α -1,6 (Sales dkk, 2012).

Tiga metode uji penghambatan α -amilase yang umum digunakan adalah metode *dinitrosalicylic acid* (DNSA) (Miller dkk, 1959), *starch iodine colour assay* (Xiao dkk 2006), dan *modified starch iodine protocol* (Hossan 2009). Prinsip metode ini didasarkan pada pengukuran konsentrasi produk, yakni gula reduksi dengan reagen asam dinitrosalisilat (DNS), sedangkan untuk tiga metode lainnya didasarkan pada pengukuran konsentrasi residu substrat dengan iodine (Fuwa, 1954).

Metode DNS dilakukan dengan menambahkan sampel, dapar fosfat, larutan α -amilase, dan larutan pati (Nugraha dkk, 2018). Reaksi hidrolisis α -amilase dihentikan dengan pemanasan sehingga terjadi perubahan dari konfigurasi dari α -amilase dan menyebabkan aktivitasnya akan hilang. Setelah proses penghentian reaksi maka konsentrasi produk dari reaksi hidrolisis ditentukan dengan reagen

pewarna DNS. Reagen yang digunakan adalah larutan yang dibentuk oleh senyawa 2-hidroksi-3,5-asam dinitrobenzoat, bertindak sebagai oksidan, garam *Rochelle* (potasium sodium tartrat) yang mencegah disolusi oksigen dalam reagen dan natrium hidroksida menyediakan media yang dibutuhkan untuk reaksi redoks yang terjadi (Garriga dkk, 2017).

Metode DNS merupakan teknik kolorimetri, yang terdiri dari reaksi redoks antara 3,5-asam dinitrosalisilat dan gula reduksi pada sampel. Kekuatan dari reduksi gula berasal dari gugus karbonilnya, yang dapat dioksidasi menjadi gugus karboksil oleh zat pengoksidasi ringan, sedangkan DNS (warna kuning) akan direduksi menjadi asam 3-amino-5-nitrosalisilat (warna merah) yang dapat diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang maksimum 540 nm (Miller dkk, 1959). Reaksi reduksi oleh DNS oleh salah satu gula reduksi yaitu glukosa :



Gambar 2.5 Tahapan reaksi reduksi DNS (Timerman, 2012).

Senyawa inhibitor tertentu mampu menghambat aktivitas enzim α -amilase yang menyebabkan substrat tidak dapat bereaksi dengan enzim, sehingga produk berupa gula pereduksi tidak terbentuk. Gula pereduksi yang tidak terbentuk menyebabkan intensitas warna yang terbentuk akan menurun, sehingga absorbansi pada panjang gelombang maksimum akan menurun. Semakin kecil absorbansi maka persen penghambatannya akan semakin besar, dan semakin baik potensinya sebagai inhibitor α -amilase (Nugraha dkk, 2018). Akarbose digunakan sebagai kontrol positif pada uji penghambatan enzim α -amilase ini.

Nilai IC_{50} (*Inhibitory Concentration*) digunakan sebagai parameter penghambatan enzim α -amilase. Nilai dari IC_{50} merupakan konsentrasi ekstrak yang mengandung inhibitor α -amilase yang mampu menghambat 50% aktivitas dari α -amilase dalam kondisi pengujian. Nilai IC_{50} dapat dihitung menggunakan persamaan regresi linier dengan konsentrasi sampel sebagai sumbu x dan % inhibisi sebagai sumbu y. Persamaan regresi linier yang didapatkan yakni $y=bx+a$ (Neubig dkk., 2003).

Nilai IC_{50} dapat dihitung menggunakan rumus sebagai berikut:

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

keterangan: $a = \text{intercept}$

$b = \text{slope}$

Persentase penghambatan dihitung dengan menggunakan rumus (Nugraha dkk, 2018) :

$$\text{Penghambatan (\%)} = \frac{\text{Absorbansi kontrol negatif} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol negatif}} \times 100$$

2.7 Tinjauan Tentang Tanaman Kepel

2.7.1 Klasifikasi Tanaman Kepel

Berdasarkan ITIS (2019), klasifikasi tanaman kepel adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Viridiplantae
Infrakingdom	: Streptophyta
Superdivisi	: Embryophyta
Divisi	: Tracheophyta
Subdivisi	: Spermatophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Superordo	: Magnoliales
Ordo	: Magnoliales
Famili	: Annonaceae
Genus	: Stelechocarpus

Spesies : *Stelechocarpus burahol*.

2.7.2 Deskripsi dan Morfologi Tanaman Kepel

Tanaman kepel tersebar di daerah Asia Tenggara, mulai dari Malaysia hingga kepulauan Salomon dan dapat tumbuh pada daerah tropis dan subtropis. Tanaman kepel dapat tumbuh pada habitat hutan sekunder dataran rendah pada tanah liat yang basah, dan mampu tumbuh pada ketinggian 600 mdpl. Kepel akan tumbuh dengan baik pada kondisi tanah yang subur, memiliki drainase yang baik dengan pH 5,8-6,7 (Solikin, 2010).

Kepel merupakan salah satu jenis tanaman buah-buahan, di Indonesia kepel memiliki beberapa nama lain seperti kecindul, cindul (Jawa), simpol, burahol (Indonesia) dan turalak (Sunda) (Hidayat, 2015). Tanaman kepel merupakan salah satu jenis tanaman buah yang telah ditetapkan menjadi salah satu tanaman yang menjadi ciri khas Daerah Istimewa Yogyakarta (Haryjanto, 2012).

Ciri umum dari tanaman kepel yakni memiliki tinggi mencapai 20 m dan berdiameter 40 cm, batang tegak, bulat, berkayu, berwarna coklat hingga kehitaman, percabangan monopodial. Daun tunggal berbentuk elips hingga bulat telur dengan panjang 12-27 cm dan lebar 4-6 cm. Pangkal dan ujung daun cenderung meruncing halus, pertulangan bawah menonjol, mengkilap serta berwarna hijau. Tanaman kepel memiliki bunga majemuk berbentuk tandan yang tersebar di sekitar batang dan cabang, memiliki benang sari dan putik yang halus berwarna kuning, tangkai bunga berbentuk silindris dengan panjang 4 cm, mahkota bunga lonjong berwarna kuning. Buah dari tanaman kepel buni, bulat, kulit kasar, berwarna coklat dan berdiameter 5-6 cm, tumbuh bergerombol 1-13 buah. Biji dari buah kepel halus berbentuk ginjal dengan panjang hingga 3 cm dan berwarna hitam mengkilap. Akar tunggang berwarna putih kecoklatan (Hidayat, 2015).

2.7.3 Kandungan dan Manfaat Kepel

Tanaman kepel (*Stelechocarpus burahol*) merupakan tanaman dari keluarga Annonaceae yang memiliki potensi untuk dikembangkan menjadi kandidat bahan obat dan kosmetik (Kusmiyati, 2005). Bagian dari tanaman kepel yang dapat

dimanfaatkan adalah daun, kulit batang dan buah (Heyne, 1987). Kandungan yang dapat ditemukan pada ekstrak etanol buah kepel adalah senyawa fenol seperti flavonoid, saponin dan tanin (Isradji dkk, 2014), sedangkan pada daunnya kepel mengandung senyawa terpenoid dan fenol flavonoid (Ramadhan dkk., 2015).

Berdasarkan penelitian Ramadhan dkk (2015), daun dewasa tanaman kepel memiliki kadar flavonoid paling tinggi dibandingkan dengan daun sedang maupun daun muda. Kadungan flavonoid total dalam ekstrak etanol 70% yakni 9,3;9,9; dan 10,1 % (b/b) (Diniatik, 2015). Kandungan flavonoid pada daun kepel memiliki aktivitas sebagai antioksidan. Pada penelitian yang dilakukan oleh Rosalina (2014) aktivitas antioksidan DPPH ekstrak daun kepel dan daun jambu biji memiliki korelasi positif dengan kadar fenol pada masing-masing ekstrak, dimana nilai IC_{50} ekstrak kepel yakni 18,089 $\mu\text{g/mL}$ (Rosalina, 2014). Aktivitas antioksidan dari senyawa fenol dan flavonoid yang dimiliki oleh kepel disebabkan adanya gugus hidroksi pada struktur molekulnya (PERKI, 2017).

Daun kepel memiliki beberapa kandungan senyawa kimia yang bermanfaat bagi perkembangan pengobatan dari bahan alam. Dosis 50-400 mg/kg BB ekstrak etanol daun kepel mampu digunakan sebagai antihiperurisemia dengan efek dan potensi yang sama dengan Allupurinol (Purwatiningsih & Hakim, 2010). Pada penelitian toksisitas akut dari ekstrak etanol daun kepel pada tikus menunjukkan bahwa dengan dosis 5000 mg/kg BB belum bersifat toksik (Purwatiningsih & Nurlaila, 2016). Ekstrak etanol daun kepel dosis 200 mg/kg BB memiliki persentase penurunan kadar glukosa darah sebesar 53,45% sebanding dengan penggunaan glibenklamid pada mencit yang diinduksi aloksan (Jeany, 2018).

2.8 Tinjauan Fenol

2.8.1 Fenol

Fenol adalah golongan senyawa yang khas dengan adanya gugus hidroksil (OH) yang terikat pada cincin aromatik. Senyawa ini mayoritas berada di alam berbentuk polimer seperti proantosianin dan asam fenolat (Saan dkk, 2017). Senyawa fenol memiliki berbagai aktivitas, salah satunya dalam penghambatan

enzim α -amilase dan juga sebagai antioksidan (Moein dkk., 2017). Senyawa fenol seperti asam klorogenat dan asam kafeat memiliki aktivitas penghambatan α -amilase dengan membentuk struktur kuinon maupun lakton atau senyawa yang memiliki struktur *4-oxo-pyrane*, sehingga mampu menghambat reaksi hidrolisis α -1,4-glikosida pada pati atau karbohidrat. Senyawa fenol dapat digunakan dalam pengobatan DM tipe 2, hal ini didasarkan pada pengujian secara *in vitro*, *in vivo* maupun uji klinis pada manusia, konsumsi polifenol turunan tumbuhan dan diet kaya akan polifenol mampu meregulasi karbohidrat dan metabolisme lipid, menurunkan kondisi hiperglikemia, resistensi insulin dan stres oksidatif (Saad dkk., 2017).

2.8.2 Penetapan Kandungan Fenol Total

Penetapan kadar fenol total dilakukan menggunakan standar asam galat. Asam galat merupakan senyawa golongan fenolat yang paling sederhana, mayoritas digunakan dalam penetapan kadar fenol total. Reagen yang digunakan pada penetapan kadar fenol total adalah Folin-Ciocalteu. Reagen tersebut mengandung senyawa fosfomolibdat dan fosfotungstat yang menghasilkan reaksi reduksi dan oksidasi dengan asam galat atau sampel uji yang diduga mengandung senyawa fenol dan membentuk senyawa kuinon dan kompleks molybdenum berwarna biru dan dapat diidentifikasi dengan panjang gelombang 725 nm. Intensitas warna biru yang diperoleh akan sebanding dengan besar absorbansi dan menunjukkan kandungan fenol total dalam sampel (Singleton & Rossi, 1965). Reaksi reduksi dan oksidasi hanya dapat berlangsung pada suasana basa, oleh karena itu pada proses penetapan kadar dilakukan penambahan Na_2CO_3 (Ismail & Runtuwene, 2012).

BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah *Experimental Laboratories* untuk mengetahui aktivitas penghambatan terhadap enzim α -amilase oleh ekstrak etanol daun kepel (*Stelechocarpus burahol*) sebagai salah satu agen antidiabetes.

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Farmakologi Fakultas Farmasi Universitas Jember dimulai pada bulan September 2019 hingga bulan April 2020.

3.3 Variabel Penelitian

Variabel yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

3.1.1 Variabel Bebas

Variabel bebas yang digunakan pada penelitian ini adalah konsentrasi ekstrak daun kepel (*Stelechocarpus burahol*)

3.1.2 Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah aktivitas antidiabetes melalui inhibisi α -amilase dengan parameter nilai IC_{50}

3.1.3 Variabel Terkendali

Variabel terkontrol yang digunakan pada penelitian ini kadar fenol total dan prosedur penelitian aktivitas antidiabetes melalui inhibisi enzim α -amilase

3.4 Definisi Operasional

Definisi operasional pada penelitian ini yaitu :

- a. Aktivitas penghambatan enzim α -amilase ditunjukkan dengan parameter IC_{50} yang merupakan konsentrasi efektif ekstrak daun kepel (*Stelechocarpus burahol*) untuk menghambat 50% enzim α -amilase.

- b. Aktivitas penghambatan dikatakan sangat kuat jika memiliki nilai IC_{50} kurang dari 50 $\mu\text{l/ml}$, kuat untuk IC_{50} 50-100 $\mu\text{l/ml}$, sedang untuk IC_{50} 101-150 $\mu\text{l/ml}$, dan lemah jika 151-200 $\mu\text{l/ml}$; (Putri & Hidajati, 2015).

3.5 Bahan dan Alat Penelitian

3.5.1 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian kali ini adalah daun kepel (*Stelechocarpus burahol*) (laboratorium herbal Materia Medica Batu), enzim α -amilase (dari *porcine*, Sigma-Aldrich), akarbose (Sigma-Aldrich), akuabides, 3,5-dinitrosalisilat acid (Sigma-Aldrich), sodium potassium tartrate (Sigma-Aldrich), *potato starch* (Sigma-Aldrich), natrium hidroksida (NaOH), Sodium dihidrogen fosfat (NaH_2PO_4), dan sodium hidrogen fosfat (Na_2HPO_4), etanol 70%, asam galat, Folin-Ciocalteu.

3.5.2 Alat penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah spektrofotometer (Labomed, Inc UVD-2950), mikropipet (Socorex), tip, kuvet, alat-alat gelas, oven, neraca analitik (Ohaus), pH meter (Denver Instrument), dan *waterbath*.

3.6 Prosedur Penelitian

3.6.1 Pembuatan Ekstrak Daun Kepel (*Stelechocarpus burahol*)

Daun kepel dibersihkan dari pengotor dengan cara dicuci menggunakan air mengalir dan diangin-anginkan. Daun kepel selanjutnya dikeringkan pada udara terbuka tanpa terkena sinar matahari. Simplisia daun ditimbang dan dilakukan proses penggilingan dan pengayakan. Sejumlah 300 gram serbuk daun kepel dimaserasi selama 2x24 jam menggunakan etanol 70% sejumlah 1,5 liter. Ampas yang diperoleh dilakukan remaserasi menggunakan etanol 70% sebanyak 1,2 liter. Hasil maserat dan endapan dipisahkan dengan hati-hati. Hasil maserat yang didapatkan diuapkan dengan *rotavapor* pada suhu 50⁰ C hingga didapatkan ekstrak kental yang selanjutnya dilakukan penghilangan sisa pelarut menggunakan oven

suhu 40⁰c. Ekstrak kental yang didapatkan disimpan dalam wadah tertutup (Jeany, 2018).

3.6.2 Penetapan Kadar Fenol Total

Penetapan kadar fenol total pada ekstrak kental daun kepel (*Stelechocarpus burahol*) mengacu pada prosedur yang dilakukan oleh Ridlo (2018) dengan menggunakan reagen Folin-Ciocalteu sebagai berikut:

a. Pembuatan larutan standar baku asam galat

Larutan standart asam galat dibuat dengan menimbang sejumlah 25 mg asam galat yang dilarutkan dalam 25 ml metanol 98% dalam labu ukur 25 ml ad tanda batas sehingga didapatkan konsentrasi 1000 µg/mL. Larutan tersebut diencerkan hingga didapatkan konsentrasi 20, 40, 50, 60, 80, 100, 120, 150, 180 dan 200 µg/mL.

b. Pembuatan larutan uji

Ekstrak etanol daun kepel ditimbang sejumlah 25 mg dilarutkan menggunakan 10 ml etanol hingga diperoleh konsentrasi 2500 µg/ml. Larutan uji tersebut dipipet sebanyak 2 ml ke dalam labu ukur 10 ml, kemudian ditambahkan dengan etanol sampai tanda batas sehingga diperoleh konsentrasi larutan uji sebesar 500 µg/ml.

c. Pembuatan kurva baku asam galat

Larutan standar baku asam galat konsentrasi 20, 40, 50, 60, 80, 100, 120, 150, 180 dan 200 µg/mL masing-masing diambil sejumlah 100 µl dan ditambahkan dengan 500 µl reagen Folin-Ciocalteu yang telah dilakukan pengenceran dalam akuades (1:10 v/v). Campuran larutan tersebut didiamkan selama 6 menit dan ditambahkan dengan 400 µl Na₂CO₃ 7,5%. Campuran tersebut dikocok hingga homogen dan diinkubasi selama 30 menit. Pengukuran absorbansi dilakukan pada panjang gelombang 628 nm dengan menggunakan blanko yang terdiri dari semua reagen tanpa adanya larutan ekstrak.

d. Penetapan kandungan fenol total larutan uji

Larutan uji ekstrak sebanyak 100 µl, ditambahkan dengan 500 µl reagen Folin-Ciocalteu yang telah dilakukan pengenceran dalam akuades (1:10 v/v). Campuran larutan tersebut didiamkan selama 6 menit dan ditambahkan dengan 400

$\mu\text{l Na}_2\text{CO}_3$ 7,5%. Campuran tersebut dikocok hingga homogen dan diinkubasi selama 30 menit. Pengukuran absorbansi pada panjang gelombang 628 nm. Pada setiap masing-masing larutan uji dibuat dalam tiga kali replikasi.

e. Perhitungan kadar fenol

Kadar fenol total dinyatakan dalam miligram asam galat ekuivalen per gram ekstrak (mg GAE/g ekstrak) yang diperoleh dengan menggunakan nilai absorbansi masing-masing konsentrasi larutan uji dalam persamaan regresi larutan standar baku asam galat. Pada setiap masing-masing larutan uji dibuat dalam tiga kali replikasi untuk mendapatkan kadar fenol total.

3.6.3 Pembuatan Larutan dan Reagen

a. Larutan dapar fosfat pH 6,9

Larutan ini disiapkan dengan mencampurkan sebanyak 255 ml NaH_2PO_4 0,1 M (6,90 gram dalam 50 ml akuabides) dan 245 ml Na_2HPO_4 (15,84 gram dalam 600 ml akuabides) (Mohan, 2003).

b. Larutan Natrium Hidroksida (NaOH) 2 M

Larutan ini dibuat dengan menimbang 0,8 gram NaOH dan dilarutkan pada akuabides 10 ml pada labu ukur ad tanda batas.

c. Larutan substrat 1%

Larutan ini dibuat dengan menimbang 0,1 gram pati dan dilarutkan pada dapar fosfat pH 6,9 dalam labu ukur sebanyak 10 ml ad tanda batas. Larutan tersebut selanjutnya dipanaskan selama ± 5 menit hingga larutan jernih.

d. Larutan enzim α -amilase

Larutan ini dibuat dengan menimbang enzim sejumlah 6,25 mg dan dilarutkan dalam dapar fosfat pH 6,9 ad 10 ml pada labu ukur hingga didapatkan konsentrasi 10 U/ml, kemudian dilakukan pengenceran dengan menggunakan dapar fosfat pH 6,9 hingga didapatkan konsentrasi enzim 0,5 U/ml.

e. Reagen DNS

Reagen DNS dibuat dengan melarutkan sebanyak 30 gram sodium potassium tartrat dalam 20 ml NaOH 2M kemudian dipanaskan hingga larut (larutan 1). Larutan dua diperoleh dengan melarutkan 1,065 gram asam 3,5

dinitrosalisilat dalam 50 ml akuabides. Kedua larutan tersebut dicampur dan ditambahkan akuabides hingga diperoleh volume larutan sebanyak 100 ml. Kedua campuran tersebut di saring menggunakan kertas saring (Bhutkar & Bhise 2012).

f. Larutan Akarbose

Pembuatan larutan akarbose merujuk pada penelitian Sya'bani (2016), dilakukan dengan menimbang 5 mg akarbose dan dilarutkan dalam dapar fosfat pH 6,9 pada labu ukur sejumlah 10 ml hingga didapatkan konsentrasi 500 $\mu\text{g/ml}$. Dari konsentrasi tersebut dilakukan pengenceran hingga diperoleh konsentrasi 5, 10, 25, 50 dan 100 $\mu\text{g/mL}$.

g. Larutan sampel

Larutan sampel dibuat dengan menimbang 100 mg ekstrak daun kepel (*Stelechocarpus burahol*), selanjutnya dilarutkan dalam 10 ml dapar fosfat pH 6,9 dalam labu ukur hingga diperoleh konsentrasi 10,000 $\mu\text{g/mL}$. Dari konsentrasi tersebut dilakukan pengenceran hingga diperoleh beberapa konsentrasi antara 400-3200 $\mu\text{g/mL}$.

3.6.4 Uji Aktivitas Inhibisi Enzim α -amilase

Pengujian aktivitas penghambatan enzim α -amilase menggunakan metode yang merujuk pada penelitian Sya'bani (2016) yang telah dilakukan modifikasi. Proses pengujian dilakukan pada kontrol negatif (larutan tanpa larutan sampel atau standar), larutan kontrol positif (dengan akarbose), dan larutan sampel (dengan ekstrak). Panjang gelombang yang terpilih yakni 540 nm (Wahyudi, 2015), konsentrasi substrat terpilih 1%, dan waktu inkubasi terpilih yakni 15 menit. Konsentrasi enzim terpilih yaitu 2 U/ml, konsentrasi sampel yang terpilih yaitu 50; 100; 200; 300; 400; dan 500 $\mu\text{g/mL}$, konsentrasi akarbose yang terpilih yaitu 1; 2,5; 5; 10; 20; 30; 40 dan 50 $\mu\text{g/mL}$ (Sya'bani, 2016)

Kontrol negatif (C^-) dibuat dengan mencampurkan 60 μl dapar fosfat pH 6,9 dan 90 μl larutan enzim ke dalam tabung reaksi. Kontrol positif (C^+) dibuat dengan mencampurkan 60 μl akarbose dan 90 μl larutan enzim ke dalam tabung reaksi. Sampel (S) dibuat dengan mencampurkan 60 μl sampel ekstrak daun kepel dengan berbagai konsentrasi dan 90 μl larutan enzim ke dalam tabung reaksi. Masing-

masing tabung reaksi divortex dan dilakukan inkubasi selama 15 menit dalam *waterbath* pada suhu 37⁰ C. 150 µl pati 1% ditambahkan pada masing-masing tabung reaksi dan divortex kemudian diinkubasi kembali dalam *waterbath* pada suhu 37⁰ C selama 15 menit. Campuran tersebut dididihkan selama kurang lebih 1 menit dan didinginkan menggunakan air mengalir hingga suhu kamar. Penentuan total gula pereduksi yang dihasilkan dilakukan dengan menambahkan 150 µl DNS dan divortex serta dididihkan selama 15 menit, kemudian didinginkan dengan air mengalir hingga suhu kamar. Masing-masing larutan diencerkan dengan menambahkan 1350 µl akuabides dan divortex. Campuran larutan ini dipindahkan kedalam kuvet untuk selanjutnya dianalisis menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 540 nm. Pada masing-masing larutan uji terdapat blanko namun tanpa adanya penambahan enzim. Setiap pengujian dilakukan pada tiga kali replikasi. Sistem reaksi pengujian enzim ditampilkan pada Tabel 3.1.

Tabel 3.1 Sistem Pengujian Enzim α -Amilase (Sya'bani, 2016).

Larutan	Volume (µl)					
	S0	S1	C ⁻ ₀	C ⁻ ₁	C ⁺ ₀	C ⁺ ₁
Sampel	60	60	-	-	-	-
Akarbose	-	-	-	-	60	60
Enzim	90	-	90	-	90	-
Dapar fosfat pH 6,8	-	90	60	150	-	90
	Vortex dan diinkubasi 37°C, 15 menit					
Substrat	150	150	150	150	150	150
	rtex dan diinkubasi 37°C, 15 menit menit dan didinginkan dengan air mengalir					
	150	150	150	150	150	150
	Vortex, dididihkan 15 menit, dan didinginkan dengan air mengalir					
Akuades	1350	1350	1350	1350	1350	1350
	Vortex, kemudian ukur absorbansi pada panjang gelombang 540 nm					

S₀= Sampel (ekstrak) , S₁=Blanko sampel (ekstrak), C⁻₀= Kontrol negatif, C⁻₁= Blanko kontrol negatif, C⁺₀= Kontrol positif (akarbose), C⁺₁= Blanko kontrol positif

Nilai penghambatan enzim α -amilase pada masing-masing ekstrak dihitung dengan persamaan berikut (Nugraha dkk., 2018):

$$\text{Penghambatan (\%)} = \frac{G-H}{G} \times 100\%$$

Keterangan:

G = Absorbansi kontrol negatif

H = Absorbansi larutan uji yang digunakan

Nilai IC_{50} dihitung berdasarkan persamaan regresi linier dengan konsentrasi sampel sebagai sumbu x dan % inhibisi sebagai sumbu y. Sehingga diperoleh persamaan regresi $y=bx+a$. Persamaan tersebut digunakan untuk menghitung nilai IC_{50} .

Nilai IC_{50} dapat dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut :

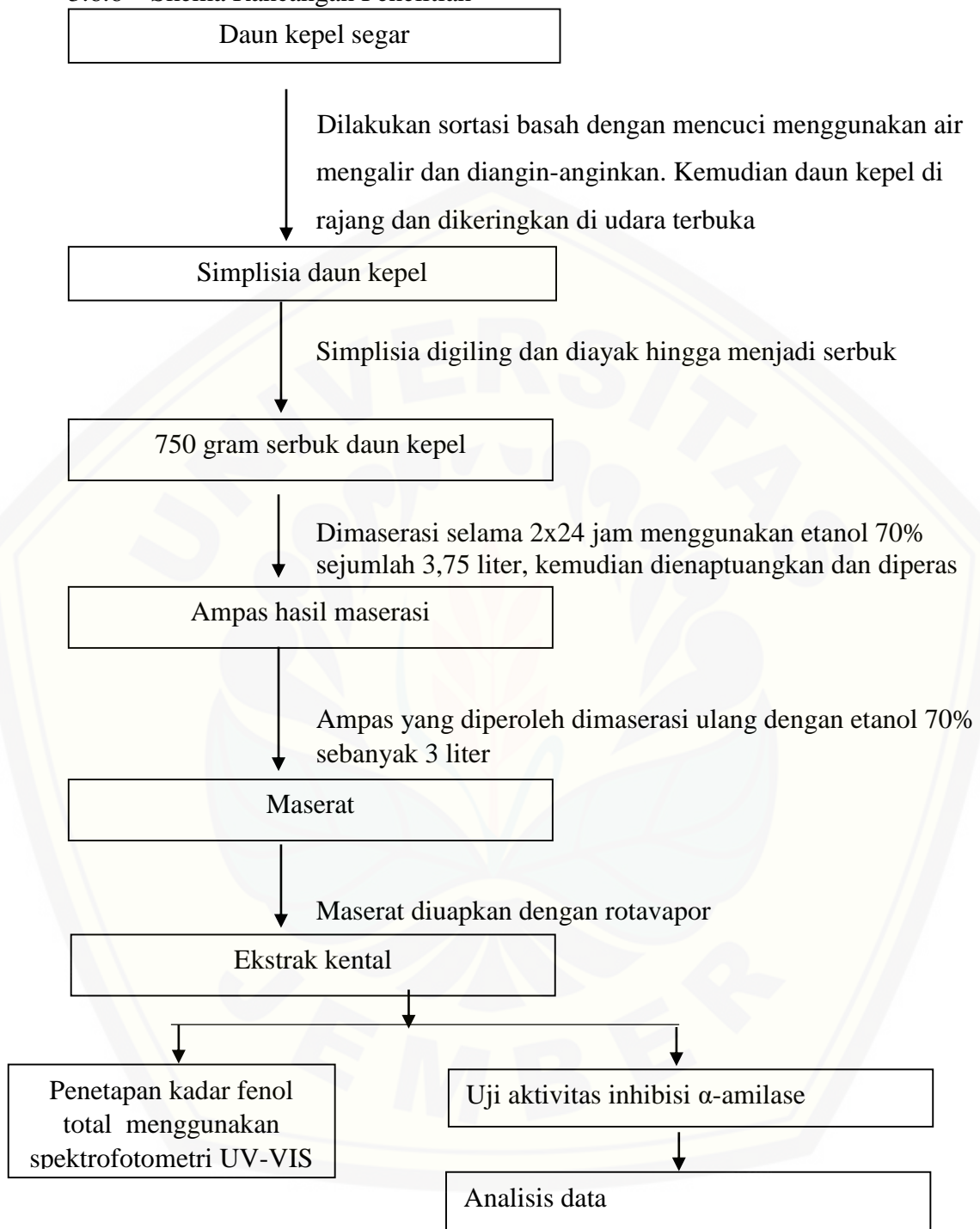
$$IC_{50} = \frac{50-a}{b}$$

3.6.5 Analisis Data

Data akan ditampilkan dalam rerata \pm SD. Data IC_{50} yang diperoleh dari hasil penelitian akan dilakukan analisis, diuji normalitas menggunakan Shapiro-Wilk sebagai syarat uji analisis *independent* T-test untuk melihat perbedaan IC_{50} ekstrak daun kepel dengan kontrol positif akarbose. Perbedaan yang signifikan ditunjukkan berdasarkan nilai signifikansi $p<0,05$ dengan tingkat kepercayaan 95%. (Dahlan, 2004)

Apabila data yang diperoleh tidak normal dan homogen pengujian dapat dilakukan dengan menggunakan uji non-parametrik misalnya adalah uji *Kruskal Wallis*. Apabila didapatkan nilai $p<0,05$, maka dapat dilanjutkan dengan analisis *Post Hoc* yaitu uji *Mann-Whitney*.

3.6.6 Skema Rancangan Penelitian



Gambar 2.6 Skema Rancangan Penelitian

BAB 5 PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, didapatkan kesimpulan sebagai berikut :

1. Ekstrak etanol daun kepel memiliki aktivitas penghambatan terhadap enzim α -amilase dengan nilai IC_{50} sebesar $439,975 \pm 2,613 \mu\text{g/ml}$
2. Ekstrak etanol daun kepel memiliki aktivitas penghambatan terhadap enzim α -amilase lebih rendah dibandingkan dengan kontrol positif akarbose dengan nilai IC_{50} sebesar $41,429 \pm 0,428 \mu\text{g/ml}$

5.2 Saran

Berdasarkan penelitian ini, perlu dilakukan pengujian lebih lanjut terkait senyawa aktif dalam daun kepel yang berperan dalam aktivitas penghambatan enzim α -amilase tersebut.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad, A. R., S. Afrianty, D. Ratulangi, A. Malik, dan J. R. M. Sm. 2015. Penetapan kadar fenolik dan flavonoid total ekstrak metanol buah dan daun patikala (*etlingera elatior* (jack) r.m.sm). *Pharm Sci Res.* 2(1):1–10.
- Ahmed SS., A. M.Z., L. T.R., B. H.A., dan M. Ali T.M. 2012. Update on Pharmacotherapy For Type 2 Diabetes. *KYAMC Journal.* 3(1):250–261.
- Alfian, R. dan H. Susanti. 2012. Penetapan kadar fenol kelopak bunga rosella merah (*hibiscus sabdariffa* linn) dengan variasi tempat tumbuh secara spektrofotometrinolik total ekstrak meta. *Jurnal Ilmiah Kefarmasian.* 2(1):73–80.
- Asgar, A. 2013. International journal of food properties anti-diabetic potential of phenolic compounds : a review. (March):37–41.
- American Diabetes Assosiation. 2018. *Standard of Medical Care in Diabetes*
- American Diabetes Assosiation. 2019. Standards of Medical Care in Diabetes. *Diabetes Care.* 42(1):S1–S159.
- Anisa, R. 2014. Korelasi Kandungan Fenolat dan Flavonoid Terhadap Aktivitas Penangkap Radikal Ekstrak Daun Kepel (*stelechocarpus burahol*) dan Daun Jambu Biji (*psidium guajava l.*) Dengan Metode DPPH dan FTC. Skripsi. Surakarta: Universitas Muhammadiyah Surakarta
- Aydin. 2007. A Comparison of Ghrelin, Glucose, Alpha-Amylase and Protein Levels in Saliva From Diabetics. (February 2007):28–35.
- Balfour, J. A., D. Mctavish, J. D. Dean, M. R. Infirmiry, U. R. Fiilsh, M. Klinik, K. D. C. Kiel, dan F. Republic. 1993. An Update of its Pharmacology and Therapeutic Use in Diabetes Mellitus Acarbose.
- Baron, A. D. 1998. *Postprandial Hyperglycaemia and h -Glucosidase Inhibitors.* Elsevier
- Baynest, H. W. 2015. Classification, Pathophysiology, Diagnosis and Management of Diabetes Mellitus. *Journal of Diabetes and Metabolism.* 6 (5): 541.
- Chang, R. 2006. *Kimia Dasar: Konsep-konsep Inti Edisi Ketiga.* Jakarta: Penerbit Erlangga.
- Cho, N. H., J. E. Shaw, S. Karuranga, Y. Huang, J. D. Rocha, A. W. Ohlogge, dan B. Malanda. 2018. IDF diabetes atlas : Global Estimates of Diabetes Prevalence for 2017 and Projections for 2045. *Diabetes Research and Clinical Practice.* 138:271–281.

- Copeland, R. A. 2000. Implementation of a Continuous, Enzyme-Coupled Fluorescence Assay for High-Throughput Analysis of Glutamate-Producing Enzymes. 387:382–387.
- Dahlan, M. S. 2004. Statistika untuk Kedokteran dan Kesehatan: Uji Hipotesis dengan menggunakan SPSS Seri 1: Evidence Based Medicine. Jakarta: Arkans Entertainment and Education in Harmony.
- Dasthy dkk. 2013. A Quick Look at Biochemistry :Carbohydrate Metabolism. *Clinical Biochemistry*. 46(15):1339–1352.
- Depkes RI. 1995. *Materia Medika Indonesia*. Jilid VI. Jakarta: Departemen Kesehatan RI.
- De Souza, P. M. dan P. de O. e Magalhães. 2010. Application of Microbial α -amylase in Industry - a review. *Brazilian Journal of Microbiology*. 41(4):850–861.
- Decroli dkk. 2019. *Diabetes Melitus Tipe 2*. padang: pusat penerbitan bagian ilmu penyakit dalam.
- Diniatik, 2015. Penentuan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanolik Daun Kepel (*Stelechocarpus burahol* (Bl.) Hook f. & Th.) Dengan Metode Spektrofotometri. *Kartika-Jurnal Ilmiah Farmasi*. Vol.3(1): 1-5
- Dipiro, J. T., R. L. Talbert, G. C. Yee, G. R. Matzke, B. G. Wells, dan M. L. Posey. 2008. *Pharmacotherapy : A Pathophysiologic Approach*. Edisi 7. Washington, D.C.: The McGraw-Hill Companies, Inc.
- DiPiro, et al. 2015. *Pharmacotherapy A Pathophysiologic Approach*. Edisi 10th. McGraw-Hill Companies, Inc.
- Forbes, J. M., & Cooper, M. E. (2013). Mechanisms of Diabetic Complications. *Physiological Reviews*. 93(1), 137–188.
- Funke, I. dan M. M.F. 2005. Effeect of Different Phenolic Compounds on α -amylase Activity : Screening by Microplate-Reader Based Kinetic Assay. 60
- Ganesan, K., & S. Sultan. 2019. *Oral Hypoglycemic Medications*. Treasure Island: StatPearls Publishing.
- Gardner, D. G. dan D. Shoback. 2011. *Greenspan ' s Basic & Clinical Endocrinology*. Edisi 9. The McGraw-Hill Companies, Inc.
- Garriga, M., M. Almaraz, dan A. Marchiaro. 2017. Actas de ingeniería determination of reducing sugars in extracts of undaria pinnatifida (harvey) algae by uv-visible spectrophotometry (dns method) determinación de azúcares reductores en extractos de alga undaria pinnatifida (harvey) por

- espectrofotometría uv-visible (método dns). *Actas de Ingenieria* 173–179.
- Gonçalves, S. dan A. Romano. 2017. Inhibitory properties of phenolic compounds against enzymes linked with human diseases. *Phenolic Compounds - Biological Activity*. 40(5):100–120.
- Hall, J. E. 2016. *Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology*. Edisi 13th. Philadelphia: Elsevier.
- Hara, Y. dan M. Honda. 2014. The inhibition of α -amylase by tea polyphenols. 1369(1990)
- Harborne, J.B., 1987. *Phytochemical Methods: A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis*. London: Chapman and Hall.
- Haryjanto, L. 2012. Konservasi Kepel (*Stelechocarpus burahol* (blume) hook.f & thomson): Jenis yang Telah Langka. 11–18.
- Hashim, A., Khan, M. S., Khan, M. S., Baig, M. H., & Ahmad, S. 2013. Antioxidant and α -Amylase Inhibitory Property of *Phyllanthus virgatus* L.: An In vitro and Molecular Interaction Study. *BioMed Research International*, 2013.
- Hidayat, A. 2011. Fraksionasi Golongan Flavonoid Dari Daun Kepel (*Stelechocarpus Burahol*) Yang Berpotensi Sebagai Antibakteri. Skripsi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Pertanian Bogor.
- International Diabetes Federation. 2017. *Idf Diabetes Atlas*. Edisi 8 Th. International Diabetes Federation.
- Integrated Taxonomic Information System. 2019. *Stelechocarpus burahol*. [Diakses pada 5 april 2020].
- Informatorium Obat Nasional Indonesia 2015 (IONI 2015). 2015. Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan. Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Ishnava, K. dan D. Motisariya. 2018. In-vitro Study on α -Amylase Inhibitory Activity of Selected Ethnobotanical Plant Extracts and Its Herbal Formulations. *International Journal of Pharmacognosy and Chinese Medicine*. 2(3):1–11.
- Ismail, J. dan max. R. J. Runtuwene. 2012. PENENTUAN total fenolik dan uji aktivitas antioksidan pada biji dan kulit buah pinang yaki (*areca vestiaria giseke*) total phenolic compounds and antioxidant activity of the seed and skin of pinang yaki (*areca vestiaria giseke*) fruits
- Jeany, L. 2018. Uji Aktivitas Antidiabetes Ekstrak Etanol Daun Kepel (*Stelechocarpus Burahol*) Pada Mencit Yang Diinduksi Aloksan. Universitas

Jember.

Karadeniz, F. K., H. S. Burdurlu, N. Koca, dan Y. Soyer. 2005. Antioxidant Activity of Selected Fruits and Vegetables Grown in. 29:297–303.

Kementrian kesehatan RI. 2018. Hasil Utama Riskesdas 2018

Kemit, N., I. W. R. Widarta, dan K. Nocianitri. 2017. Pengaruh jenis pelarut dan waktu maserasi terhadap kandungan senyawa flavonoid dan aktivitas antioksidan ekstrak daun alpukat (*persea americana mill*). *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Pangan (Itepa)*. 5(2):130–141.

Koda-Kimble, M. A., L. Y. Young, B. K. Alldredge, R. L. Corelli, B. J. Guglielmo, W. A. Kradsjan, dan B. R. Williams. 2013. *Applied Therapeutics 9th Edition*. Edisi 9 th. Philadelphia: Wolters kluwer. 9. *Lippincott Williams & Wilkins*.

Lebovitz, H. E. . 1997. *Alpha-Glucosidase Inhibitors. Endocrinology and Metabolism Clinics of North America*

Lecy C.F., Armstrong L.L., Goldman M.P., L. L. L. 2009. *Drug Information Handbook, 17th Edition*. American Pharmacists Association. 2009.

Maarel, M. J. E. C., B. V. D. Veen, J. C. M. Uitdehaag, H. Leemhuis, L. Dijkhuizen. 2002. Properties and applications of starch-converting enzymes of the α -amylase family. *Journal of Biotechnology*. 94:137–155

Mac, D.O., J. G. Chediack, E. Caviedes-Vidal. 2008. Isolation of epithelial cells, villi and crypts from small intestine of pigeons (*Columba livia*). *Biocell*. 32:219–27.

Manaf, A. 2010. Targeting Postprandial Hyperglycaemia: Evidence for Cardiovascular Benefits With Acarbose Intervention .

Manurung, H., W. Kustiawan, I. W. Kusuma, dan Marjenah. 2017. Total Flavonoid Content and Antioxidant Activity of Tabat Barito (*Ficus deltoidea jack*) on Different Plant Organs and Ages. *Journal of Medicinal Plants Studies*. 5(6):120–125.

Miller dkk. 1959. Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar. (III)

Moein, S., E. Pimoradloo, M. Moein, dan M. Vessal. 2017. Evaluation of Antioxidant Potentials and α -Amylase Inhibition of Different Fractions of Labiatae Plants Extracts : as a Model of Antidiabetic Compounds Properties.

Mohan, C. 2003: Buffer: A Guide for The Preparation and Use of Buffers in Biological System. Berlin:Merck.

- Muchid, A., F. Umar, M. N. Ginting, C. Basri, R. Wahyuni, R. Helmi, dan S. N. Istiqomah. 2005. Pharmaceutical care untuk penyakit diabetes mellitus. *Departemen Kesehatan RI*. 1–89
- Neubig, R. R., M. Spedding, T. Kenakin, dan A. Christopoulos. 2003. International union of pharmacology committee on receptor nomenclature and drug classification . xxxviii . update on terms and symbols in quantitative pharmacology. 55(4):597–606.
- Nugraha, M. R., A. N. Hasanah, F. Farmasi, dan U. Padjadjaran. 2018. Metode pengujian aktivitas antidiabetes. 16:28–34.
- Olokoba, dkk. 2012. Type 2 diabetes mellitus: a review of current trends. 27(4):269–273.
- Ompusunggu, S., R. Silaban, 2013. Kajian Biomedik Enzim Amilase dan Pemanfaatannya dalam Industri. Universitas Negeri Medan
- Pamela, D. S., H. Pahlemy, A. Fitriansyah, S. Suratini, B. D. Jerubu, C. R. Khristanti, dan A. 2019. *Pedoman Pelayanan Kefarmasian Pada Diabetes Melitus*. Kementrian Kesehatan Republik Indonesia.
- Pandey, A. dan S. Tripathi. 2014. Concept of Standardization, Extraction and Pre Phytochemical Screening Strategies for Herbal Drug. 2(5):115–119.
- PERKI. 2017. *Panduan Tatalaksana Dislipidemia*. Perhimpunan Dokter Spesialis Kardiovaskular Indonesia.
- Piparo, E. Lo, H. Scheib, N. Frei, G. Williamson, M. Grigorov, dan C. J. Chou. 2008. Flavonoids for controlling starch digestion : structural requirements for inhibiting human α -amylase. 3555–3561.
- Proenca, C., M. Freitas, D. Ribeiro, S. M. Tomé, E. F. T. Oliveira, M. F. Viegas, A. N. Araújo, M. J. Ramos, A. M. S. Silva, P. A. Fernandes, dan E. Fernandes. 2019. Evaluation of a flavonoids library for inhibition of pancreatic α -amylase towards a structure–activity relationship. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*. 34(1):577–588.
- Prangdimurti, E., dan A.R. Julian. 2013. Inhibisi Alfa-amilase dan Alfa-glukosidase Teh Hijau Dipengaruhi oleh Cara Penyeduhan dan Proses Pencernaan. *Prosiding Seminar Nasional PATPI*: 29-37.
- Purwatiingsih dan Nurlaila. 2016. EFFECT of the kepel leaves extract (*stelechocarpus burahol* [bl .] hook . f . & th .) on sprague-dawley rats : an acute toxicity study. 9(1):1–4.
- Purwatiningsih dan arief rahmann Hakim. 2010. Antihyperuricemic activity of the kepel [*stelechocarpus burahol* (bl.) hook. f. & th.] leaves extract and xanthine oxidase inhibitory study. 2(2):123–127.

- Putra, R. Joddy, S. Putra, A. Achmad, dan H. R. P. 2017. Kejadian efek samping potensial terapi obat anti diabetes pasien diabetes melitus berdasarkan algoritma naranjo potential side effects of anti-diabetic drug therapy in diabetes mellitus patients based on naranjo algorithm. 2(2):45–50.
- Ramadhan, B. C., S. Arifin, dan M. Ghulamahdi. 2015. Potensi Kadar Bioaktif yang Terdapat pada Daun Kepel (*stelechocarpus burahol*) potential bioactive content of kepel leaves (*stelechocarpus burahol*). (2010):99–108.
- Ridlo, M. 2018. Skrining Fitokimia, Penetapan Kadar Fenol Total, dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak etanol Daun Benalu (*Dendrophthoe pentandra* L.) Pada Inang Mangga. Jember: Universitas Jember.
- Rydberg et al. 2002. Mechanistic Analyses of Catalysis in Human Pancreatic α -Amylase : Detailed Kinetic and Structural Studies of Mutants of Three Conserved Carboxylic Acids †. 4492–4502.
- Sales, P. M., L. A. Souza, P. Simeoni, O. Magalhães, dan D. Silveira. 2012. α -amylase inhibitors: a Review of Raw Material and Isolated Compounds From Plant Source. *Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 15(1):141–183.
- Scheepers, A., H. G. Joost, A. Schurmann. 2004. The Glucose Transporter Families SGLT and GLUT: Molecular Basis of Normal and Aberrant Function. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition*. 28:364–371.
- Setiawan, B. dan E. Suhartono. 2005. Stres Oksidatif dan Peran Antioksidan pada Diabetes Melitus. *Majalah Kedokteran Indonesia*. 55(2):86–91.
- Sharma, R. 2012. Enzyme inhibition: mechanisms and scope. *Enzyme inhibition and bioapplications*. 3–36.
- Sim, L., C. Willemsma, S. Mohan, H. Y. Naim, B. M. Pinto, dan D. R. Rose. 2010. Structural Basis for Substrate Selectivity in Human Maltase-Glucoamylase and Sucrase-Isomaltase. 285(23):17763–17770.
- Singleton, v dan rossi. 1965. Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagent. 1980.
- Souza & Magalhaes. 2010. Application of microbial α -amylase in industry – a review paula monteiro de souza; pérola de oliveira e magalhães departamento de ciências farmacêuticas, faculdade de ciências da saúde, universidade de brásília, brásília, df, brasil. 850–861.
- Sumardjo, D. 2009. *Pengantar Kimia: Buku Panduan Mahasiswa Kedokteran Dan Program Strata I Fakultas Bioeksakta*. Jakarta: EGC.
- Sya'bani, A.A.K. 2015. Uji Aktivitas Inhibitor Amilase Ekstrak Teh Hitam dan Teh

Hijau Sebagai Agen Antidiabetes. Skripsi. Jember: Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Takahama, U. dan S. Hirota. 2018. Interactions of flavonoids with α -amylase and starch slowing down its digestion. *Food and Function*. 9(2):677–687.

Timerman, A. P. 2012. The isolation of invertase from baker 's yeast – an introduction to protein purification strategies

Tiwari, P., B. Kumar, K. Mandeep, K. Gurpreet, dan H. Kaur. 2011. Phytochemical screening and extraction: a review. 1(1)

Tripathi, K. & B. Saboo. 2019. *RSSDI: Sadikot's International Textbook of Diabetes*. India: Jaypee Brother Medical Publisher (P) Ltd.

Wahyudi, Lilik D. 2015. Potensi Ekstrak Fenolik Tanaman Obat Taman Nasional Meru Betiri: Bidara Upas (*Merreimia mammosa*) dan Kayu Kuning (*Arcangelisia flava*) sebagai Antidiabetik dan Antioksidan. Tidak Diterbitkan. Skripsi. Jember: Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Walker & Whittlesea, 2012. 2012. *Clinical Pharmacy and Therapeutics*. Edinburg: Elsevier.

Widowati, W., P. Penelitian, I. Kedokteran, U. K. Maranatha, S. Wood, dan E. Extract. 2011. Uji fitokimia dan potensi antioksidan ekstrak etanol kayu secang (caesalpinia sappan l .) phytochemical assay and antioxidant potency of. (65):23–31.

Williamson, G. 2013. Possible effects of dietary polyphenols on sugar absorption and digestion. *Molecular Nutrition and Food Research*. 57(1):48–57.

Yoon, S. dan J. F. Robyt. 2003. Study of the inhibition of four alpha amylases by acarbose and its 4 iv - a -maltohexaosyl and 4 iv - a -maltododecaosyl analogues. 338:1969–1980.

LAMPIRAN

A. Perhitungan Penyiapan Bahan

A.1 Perhitungan Rendemen Ekstrak Daun Kepel

Berat simplisia yang ditimbang = 300 gram

Berat ekstrak yang diperoleh = 39,73 gram

$$\begin{aligned} \text{Persen Rendemen} &= \frac{\text{Berat ekstrak yang diperoleh}}{\text{Berat simplisia yang ditimbang}} \times 100\% \\ &= \frac{39,73 \text{ gram}}{300 \text{ gram}} \times 100\% \\ &= 13,24 \% \end{aligned}$$

A.2 Penetapan Aktivitas Penghambatan Enzim α -Amilase

1.1 larutan dapar fosfat pH 6,9

a. Larutan NaH_2PO_4 0,1 M

$$\text{Rumus : } M = \frac{g}{\text{BM}} \times \frac{1000}{\text{ml}}$$

$$g = \frac{M \times \text{BM} \times \text{ml}}{1000}$$

$$g = \frac{0,1 \times 119,98 \times 500}{1000} = 6,9 \text{ gram dalam 500 ml aquades}$$

b. Larutan hidrogen fosfat (Na_2HPO_4) 0,1 M

$$\text{Rumus : } M = \frac{g}{\text{BM}} \times \frac{1000}{\text{ml}}$$

$$g = \frac{M \times \text{BM} \times \text{ml}}{1000}$$

$$g = \frac{0,1 \times 141,96 \times 500}{1000} = 15,84 \text{ gram dalam 500 ml aquades}$$

1.2 Larutan Pati 1%

$$\text{Rumus : } \frac{1 \text{ g}}{100 \text{ ml}} = \frac{x}{50 \text{ ml}}$$

$$x = 0,5 \text{ gram dalam 50 ml dapar}$$

1.3 Larutan 96 Mm 3,5-dinitrosalisilat acid (DNS)

kalium natrium tartrat sebanyak 30 gram dilarutkan dalam 20 mL NaOH kemudian dipanaskan hingga larut sempurna. Kemudian sebanyak 1,095 gram DNSA (asam 3,5-dinitrosalisilat) dilarutkan dalam 50 mL akuabides. Kedua larutan tersebut dicampurkan dan ditambahkan akuabides hingga volume mencapai 100 mL.

1.4 Larutan Natrium Hidroksida (NaOH) 2 M

Rumus : $g = Mr \times M \times V$

$$g = 40 \frac{\text{g}}{\text{mol}} \times 2\text{M} \times 0,0025 \text{ ml}$$

$$g = 2 \text{ gram dalam } 25 \text{ ml akuades}$$

1.5 Pengenceran Larutan Enzim

Rumus larutan enzim stok :

$$\frac{16 \text{ U}}{1 \text{ mg}} \times \frac{x}{10 \text{ ml}} = 10 \text{ U/ml}$$

X = 6,25 mg dalam 10 ml dapar (ditimbang 6,25 mg enzim kemudian dilarutkan dalam 10 ml dapar dengan labu ukur)

Pengenceran larutan enzim :

$$2 \text{ U/ml} \rightarrow \frac{2 \text{ U/ml} \times 5 \text{ ml}}{10 \text{ U/ml}} = 1 \text{ ml}$$

1.6 Larutan Akarbose

1) $\frac{5 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 = 500 \mu\text{g/ml}$ (ditimbang 5 mg enzim kemudian dilarutkan dalam 10 ml dapar menggunakan labu ukur).

2) $\frac{1 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 500 \mu\text{g/ml} = 50 \mu\text{g/ml}$ (dipipet 1 ml larutan enzim 500 $\mu\text{g/ml}$ kemudian ditambahkan hingga 10 ml dapardalam labu ukur).

3) $\frac{100 \mu\text{l}}{1 \text{ ml}} \times 50 \mu\text{g/ml} = 5 \mu\text{g/ml}$

4) $\frac{200 \mu\text{l}}{1 \text{ ml}} \times 50 \mu\text{g/ml} = 10 \mu\text{g/ml}$

5) $\frac{500 \mu\text{l}}{1 \text{ ml}} \times 50 \mu\text{g/ml} = 25 \mu\text{g/ml}$

$$6) \frac{100 \mu\text{l}}{1 \text{ ml}} \times 500 \mu\text{g/ml} = 100 \mu\text{g/ml}$$

1.7 Larutan Sampel Ekstrak Daun Kepel

$$1) \frac{10,1 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 = 1010 \mu\text{g/ml} \text{ (ditimbang 10 mg ekstrak, dilarutkan dalam 10 ml dapar dalam labu ukur).}$$

$$2) \frac{50 \mu\text{l}}{1 \text{ ml}} \times 1010 \mu\text{g/ml} = 50,5 \mu\text{g/ml}$$

$$3) \frac{100 \mu\text{l}}{1 \text{ ml}} \times 1010 \mu\text{g/ml} = 101 \mu\text{g/ml}$$

$$4) \frac{200 \mu\text{l}}{1 \text{ ml}} \times 1010 \mu\text{g/ml} = 202 \mu\text{g/ml}$$

$$5) \frac{300 \mu\text{l}}{1 \text{ ml}} \times 1010 \mu\text{g/ml} = 303 \mu\text{g/ml}$$

$$6) \frac{400 \mu\text{l}}{1 \text{ ml}} \times 1010 \mu\text{g/ml} = 404 \mu\text{g/ml}$$

$$7) \frac{500 \mu\text{l}}{1 \text{ ml}} \times 1010 \mu\text{g/ml} = 505 \mu\text{g/ml}$$

A.3 Penetapan Kandungan Fenol Total

1.1 Pembuatan Folin Ciocalteu (1:10)

2 mL Folin Ciocalteu dilarutkan dalam 10 mL akuabides

1.2 Pembuatan Na_2CO_3 7,5 %

$$\text{Na}_2\text{CO}_3 \text{ 7,5 \%} = \frac{1,875 \text{ gram}}{25 \text{ ml}}$$

Larutan Na_2CO_3 7,5 % = 1,875 gram Na_2CO_3 dala 25 mL akuabides

1.3 Pembuatan Larutan Standar Asam Galat

Penimbangan standar asam galat = 25 mg

$$\text{Konsentrasi standar asam galat} = \frac{25 \text{ mg}}{25 \text{ ml}} \times 1000 = 1000 \mu\text{g/mL}$$

$$= \frac{3 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 1000 = 300 \mu\text{g/mL}$$

Pengenceran standar asam galat:

- $\frac{0,5 \text{ ml}}{25 \text{ ml}} \times 1000 = 20 \mu\text{g/mL}$
- $\frac{1 \text{ ml}}{25 \text{ ml}} \times 1000 = 40 \mu\text{g/mL}$

- $\frac{0,5 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 1000 = 50 \text{ } \mu\text{g/mL}$
- $\frac{3 \text{ ml}}{50 \text{ ml}} \times 1000 = 60 \text{ } \mu\text{g/mL}$
- $\frac{1 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 1000 = 100 \text{ } \mu\text{g/mL}$
- $\frac{3 \text{ ml}}{25 \text{ ml}} \times 1000 = 120 \text{ } \mu\text{g/mL}$
- $\frac{5 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 300 = 150 \text{ } \mu\text{g/mL}$
- $\frac{4 \text{ ml}}{25 \text{ ml}} \times 1000 = 160 \text{ } \mu\text{g/mL}$
- $\frac{3 \text{ ml}}{5 \text{ ml}} \times 300 = 180 \text{ } \mu\text{g/mL}$
- $\frac{1 \text{ ml}}{5 \text{ ml}} \times 1000 = 200 \text{ } \mu\text{g/mL}$

1.4 Pembuatan Larutan Sampel Ekstrak Daun Kepel

Penimbangan ekstrak = 25,1 mg

Konsentrasi ekstrak = $\frac{25,1 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 = 2510 \text{ } \mu\text{g/mL}$

B. Hasil Uji Aktivitas**B.1 Hasil Uji Aktivitas Inhibisi Enzim α -Amilase**

$$\text{Inhibisi (\%)} = \frac{\text{Absorbansi kontrol negatif} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol negatif}} \times 100\%$$

$$\text{IC}_{50} = \frac{50-a}{b}$$

a. Akarbose

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbansi			% Inhibisi			Rata-rata	IC ₅₀ ($\mu\text{g/ml}$)		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	% Inhibisi	R1	R2	R3
C ⁻	1,132	1,130	1,134							
5	0,760	0,765	0,769	32,862	32,420	32,067	32,449	41,415	41,008	41,864
10	0,690	0,698	0,695	39,045	38,339	38,067	38,662			
25	0,590	0,585	0,587	47,875	48,321	48,144	48,113	Rata-rata IC ₅₀		
50	0,498	0,487	0,495	56,007	56,978	56,272	56,419	$\mu\text{g/ml}$	SD	CV
100	0,359	0,355	0,360	68,285	68,639	68,197	68,373	41,429	0,428	1.033

Keterangan : C⁻=kontrol negatif

Ekstrak Daun Kepel	Persamaan Regresi	Nilai Koefisien Korelasi (r)
Replikasi 1	$y=0,349x + 35,546$	0,969
Replikasi 2	$y=0,359x + 35,278$	0,964
Replikasi 3	$y=0,354x + 35,180$	0,963

Perhitungan IC_{50} :

$$\text{Replikasi 1} \rightarrow IC_{50} = \frac{50 - 35,546}{0,349} = 41,415 \mu\text{g/mL}$$

$$\text{Replikasi 2} \rightarrow IC_{50} = \frac{50 - 35,278}{0,359} = 41,008 \mu\text{g/mL}$$

$$\text{Replikasi 3} \rightarrow IC_{50} = \frac{50 - 35,180}{0,354} = 41,864 \mu\text{g/mL}$$

b. Ekstrak Daun Kepel

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbansi			% Inhibisi			Rata-rata	IC ₅₀ ($\mu\text{g/ml}$)		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	% Inhibisi	R1	R2	R3
C ⁻	0,963	0,962	0,964							
50	0,702	0,711	0,698	27,102	26,168	27,518	26,929	438,983	442,940	438,003
100	0,663	0,683	0,661	31,152	29,075	31,360	30,529			
200	0,613	0,621	0,609	36,344	35,514	36,760	36,206	Rata-rata IC ₅₀		
300	0,578	0,580	0,575	39,979	39,771	40,290	38,836	$\mu\text{g/ml}$	SD	CV
400	0,524	0,529	0,528	45,586	45,067	45,171	45,274	439,975	2,613	0,594
500	0,422	0,425	0,421	56,178	55,867	56,282	56,212			

Keterangan : C⁻=kontrol negatif

Ekstrak Daun Kepel	Persamaan Regresi	Nilai Koefisien Korelasi (r)
Replikasi 1	$y=0,059x + 24,100$	0,985
Replikasi 2	$y=0,061x + 22,582$	0,988
Replikasi 3	$y=0,058x + 24,552$	0,982

Perhitungan IC_{50} :

$$\text{Replikasi 1} \rightarrow IC_{50} = \frac{50 - 24,100}{0,059} = 438,983 \mu\text{g/mL}$$

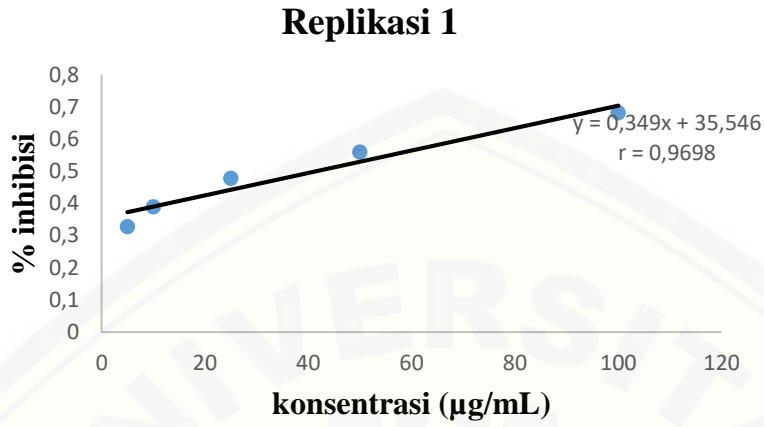
$$\text{Replikasi 2} \rightarrow IC_{50} = \frac{50 - 22,582}{0,061} = 442,940 \mu\text{g/mL}$$

$$\text{Replikasi 3} \rightarrow IC_{50} = \frac{50 - 24,552}{0,058} = 438,003 \mu\text{g/mL}$$

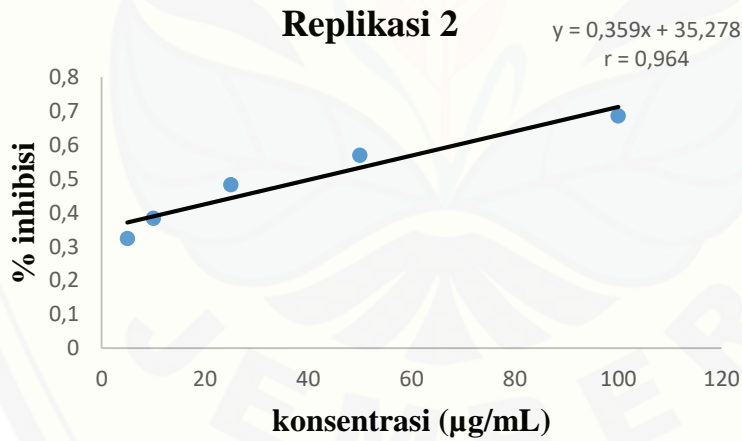
B.2 Kurva Konsentrasi Sampel Vs % Inhibisi akarbose dan ekstrak daun kepel

a. Akarbose

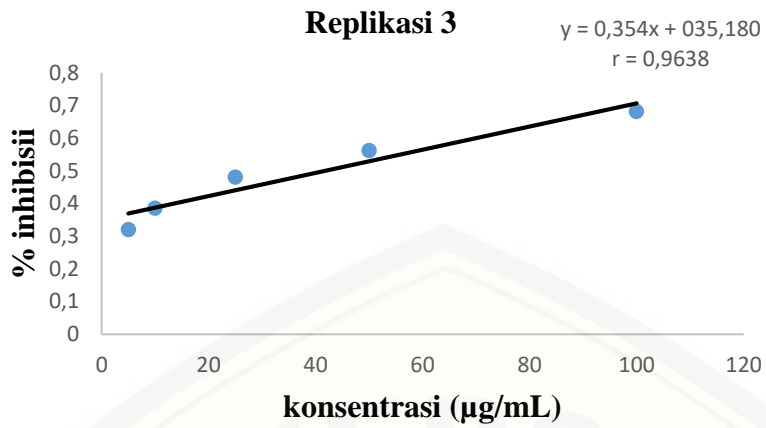
- Replikasi 1



- Replikasi 2

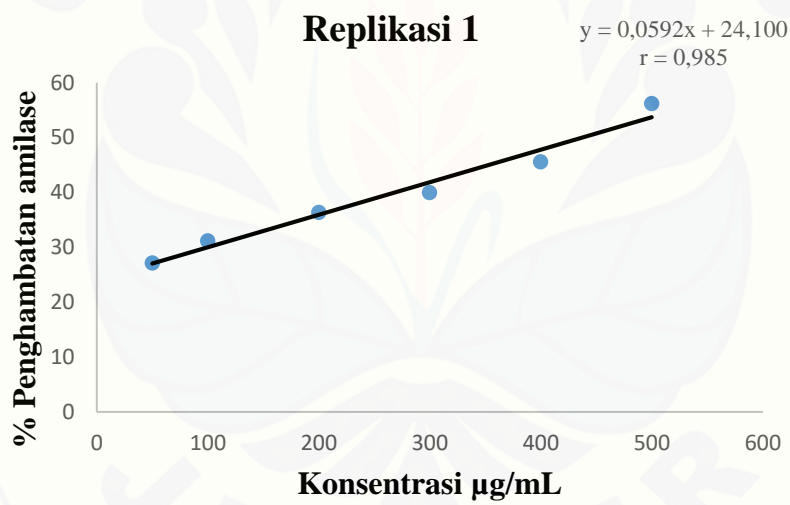


- Replikasi 3

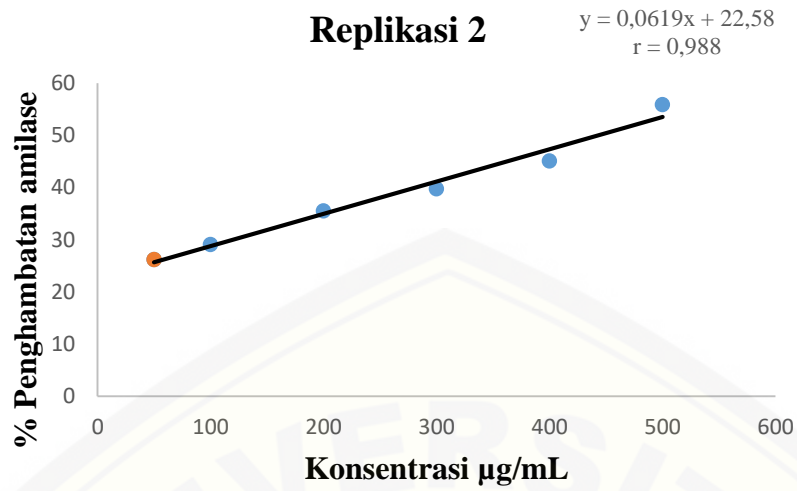


- b. Ekstrak Daun Kepel

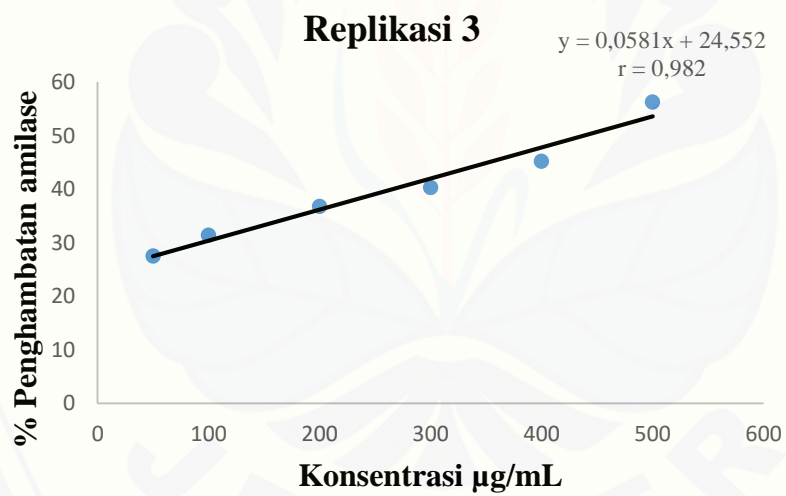
- Replikasi 1



- Replikasi 2



- Replikasi 3

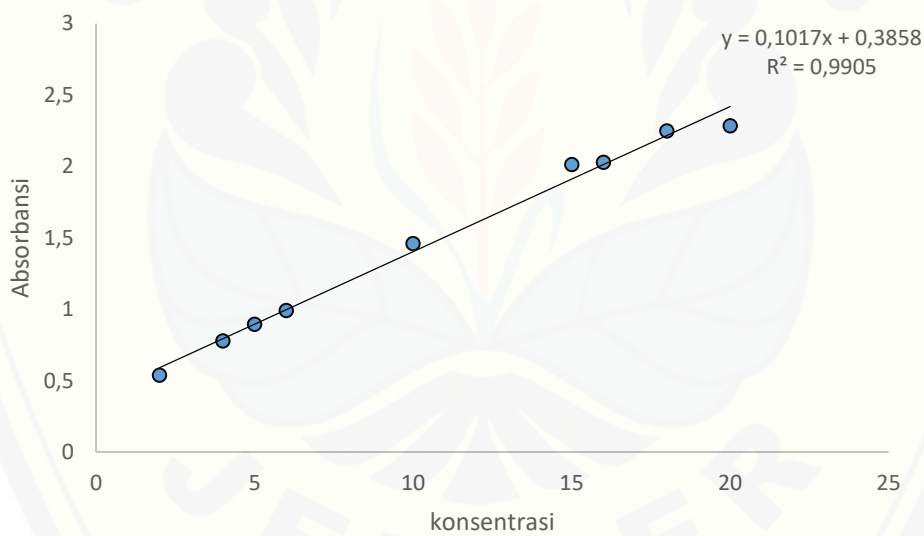


C. Hasil Penetapan Kandungan Fenol total

C.1 Data Konsentrasi dan Absorbansi Standar Asam Galat

Konsentrasi μg/mL	Konsentrasi dalam kuvet μg/mL	Rata-rata Absorbansi
20	2	0,539
40	4	0,779
50	5	0,895
60	6	0,990
100	10	1,459
150	15	2,013
160	16	2,029
180	18	2,248
200	20	2,284

C.2 Regresi Linier Rata-rata dari Tiap Replikasi Standar Asam Galat



C.3 Kandungan Fenol Total dalam Ekstrak Daun Kepel

Replikasi	Absorbansi	Kadar Fenol (mg GAE/g Ekstrak)	Rata-rata Kadar Fenol ± SD
-----------	------------	-----------------------------------	-------------------------------

1	1,453	209,601	
2	1,460	210,398	210,279 ± 0,627
3	1,458	209,166	

C.4 Perhitungan kandungan fenol total dalam ekstrak:

Replikasi 1 → $y = 0,1017x + 0,3858$

$$x = 10,523$$

Jumlah fenol dalam kuvet = $10,523 \mu\text{g/mL} \times 1 \text{ mL} = 10,523 \mu\text{g}$

$$\begin{aligned} \text{Jumlah fenol dalam larutan ekstrak} &= \frac{10000}{100} \times 10,523 \mu\text{g} = 1052,310 \mu\text{g} \\ &= \frac{10 \text{ ml}}{2 \text{ ml}} \times 1052,310 \mu\text{g} \\ &= 5261,553 \mu\text{g} = 5,261 \text{ mg} \end{aligned}$$

$$\text{Jumlah fenol dalam penimbangan ekstrak (mg GAE/g ekstrak)} = \frac{5,621 \text{ mg}}{0,0251 \text{ gram}}$$

Jumlah fenol dalam penimbangan ekstrak = 209,601 mg GAE/g ekstrak

Replikasi 2 → $y = 0,1017x + 0,3858$

$$x = 10,562$$

Jumlah fenol dalam kuvet = $10,562 \mu\text{g/mL} \times 1 \text{ mL} = 10,562 \mu\text{g}$

$$\begin{aligned} \text{Jumlah fenol dalam larutan ekstrak} &= \frac{10000}{100} \times 10,562 \mu\text{g} = 1056,243 \mu\text{g} \\ &= \frac{10 \text{ ml}}{2 \text{ ml}} \times 1056,243 \mu\text{g} \\ &= 5281,219 \mu\text{g} = 5,281 \text{ mg} \end{aligned}$$

$$\text{Jumlah fenol dalam penimbangan ekstrak (mg GAE/g ekstrak)} = \frac{5,281 \text{ mg}}{0,0251 \text{ gram}}$$

Jumlah fenol dalam penimbangan ekstrak = 210,398 mg GAE/g ekstrak

Replikasi 3 → $y = 0,1017x + 0,3858$

$$x = 10,542$$

Jumlah fenol dalam kuvet = $10,523 \mu\text{g/mL} \times 1 \text{ mL} = 10,542 \mu\text{g}$

$$\begin{aligned} \text{Jumlah fenol dalam larutan ekstrak} &= \frac{10000}{100} \times 10,542 \mu\text{g} = 1054,277 \mu\text{g} \\ &= \frac{10 \text{ ml}}{2 \text{ ml}} \times 1054,277 \mu\text{g} = 5,271 \mu\text{g} = 5,271 \end{aligned}$$

mg

$$\text{Jumlah fenol dalam penimbangan ekstrak (mg GAE/g ekstrak)} = \frac{5,271 \text{ mg}}{0,0250 \text{ gram}}$$

Jumlah fenol dalam penimbangan ekstrak = 210,84 mg GAE/g ekstrak



D. Data Analisis Statistik T-Test**D.1 Tes Normalitas****Tests of Normality**

	Sampel	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
IC50	Akarbose	,180	3	.	,999	3	,946
	Daun Kepel	,233	3	.	,979	3	,723

a. Lilliefors Significance Correction



D.2 Hasil Analisis T-test

Group Statistics


	SAMPEL	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
IC50	AKARBOSE	3	41,42900	,428172	,247205
	DAUN KEPEL	3	439,97533	2,613816	1,509088

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
IC50	Equal variances assumed	8,286	,045	-260,624	4	,000	-398,546333	1,529201	-402,792076	-394,300591
	Equal variances not assumed			-260,624	2,107	,000	-398,546333	1,529201	-404,815216	-392,277451

E. Dokumentasi

E.1 Hasil determinasi daun kepel



PEMERINTAH PROVINSI JAWA TIMUR
DINAS KESEHATAN
UPT LABORATORIUM HERBAL MATERIA MEDICA BATU
Jalan Lahor No.87 Telp. (0341) 593396
KOTA BATU 65313

Nomor : 074/ 265A/ 102.7/ 2020
Sifat : Biasa
Perihal : **Determinasi Tanaman Kepel**

Memenuhi permohonan saudara :

Nama / NIM : FINOLA CALYSTA YAKAIN / 162210101007
MONIKA TRI WULANDARI / 162210101077
Fakultas : FARMASI, UNIVERSITAS JEMBER

1. Perihal determinasi tanaman kepel

Kingdom	: Plantae (Tumbuhan)
Subkingdom	: Tracheobionta (Tumbuhan berpembuluh)
Super Divisi	: Spermatophyta (Menghasilkan biji)
Divisi	: Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)
Kelas	: Magnoliopsida (berkeping dua / dikotil)
Sub Kelas	: Magnoliidae
Ordo	: Magnoliales
Famili	: Annonaceae
Genus	: <i>Stelechocarpus</i>
Spesies	: <i>Stelechocarpus burahol</i> (Bl.) Hook.f. & Th.
Nama daerah	: Burahol (Sunda), kepel (Jawa).
Kunci Determinasi	: 1b-2b-3b-4b-12b-13b-14b-17b-18b-19b-20b-21b-22b-23b-24b-25b-26b-27a-28b-29b-30b-31a-32a-33b-35a-36d-37b-38b-39b-41b-42b-44b-45b-46c-50b-51b-53b-54b-56b-57b-58b-59d-72b-73b-74a-75b-76a-77a-78a-79b-80a-81b-86b-87a-88b-89b-91c-95a-96b-1b-10a-11a-1.

2. Morfologi : Habitus: Pohon, tinggi ± 12 m. Batang: Tegak, bulat, berkayu, percabangan monopodial, coklat. Daun: Tunggal, lonjong, panjang 8-20 cm, lebar 4-6 cm, ujung dan pangkal meruncing, halus, pertulangan bawah menonjol, mengkilat, hijau. Bunga: Majemuk, bentuk tandan, tersebar di batang dan cabang, tangkai silindris, panjang ± 4 cm, benang sari dan putik halus, kuning, mahkota lonjong, kuning. Buah: Buni, bulat, kulit kasar, diameter ± 5 cm, coklat. Biji: Bentuk ginjal, halus, hitam mengkilat. Akar: Tunggang, putih kotor.

3. Bagian yang digunakan : Daun.


4. Penggunaan : Penelitian (Skripsi).

5. Daftar Pustaka

- Backer, C.A. & Bakhuizen Van Den Brink, R.C. 1963. *Flora of Java (Spermatophytes Only)*, Vol 1. N.V.P. Noordhoff, Groningen.

Demikian surat keterangan determinasi ini kami buat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Batu, 18 Maret 2020
An. Kepala UPT Lab. Herbal Materia Medica Batu
Kepala Seksi Pelayanan Laboratorium Herbal,


Fitriah Rahmawati, S.Farm., Apt.
NIP. 19900430 201403 2 002

E.2 Dokumentasi Penelitian



Ekstrak Daun Kepel



Sampel yang digunakan



Enzim α -amilase



Konsentrasi Akarbose yang digunakan



Proses Inkubasi dalam Inkubator



Proses Pemanasan



Proses pemanasan setelah ditambahkan reagen DNS



Sampel dalam kuvet untuk selanjutnya diukur absorbansi menggunakan spektrofotometer