

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Diabetes Melitus

2.1.1. Pengertian Diabetes Melitus

Diabetes melitus merupakan gangguan metabolik serius yang ditandai dengan penurunan sekresi dan sensitivitas insulin. Enzim seperti α -amilase dan α -glukosidase berperan dalam pencernaan polisakarida dengan memecah ikatan alfa. α -Glukosidase khususnya memecah polisakarida setelah makan, yang meningkatkan kadar gula darah (hiperglikemia). Hiperglikemia dapat merusak sistem tubuh, terutama pembuluh darah dan saraf, serta menghasilkan radikal bebas yang menyebabkan stres oksidatif atau inflamasi. Terapi seperti inhibitor α -amilase, α -glukosidase, dan antioksidan yang efektif dalam mencegah diabetes dan stres oksidatif (Gaurav *et al.*, 2023).

Diabetes Melitus adalah kondisi degeneratif yang sangat erat kaitannya dengan pola makan. Jenis, jumlah, dan komposisi makanan yang dikonsumsi setiap hari disebut sebagai pola makan. Pola makan mencakup variasi jenis makanan, jumlah, serta waktu konsumsi. Kebiasaan makan yang tidak sehat dapat meningkatkan kadar glukosa darah dan risiko terkena diabetes mellitus. Gaya hidup masyarakat Indonesia yang semakin mengikuti pola hidup Barat telah menyebabkan pola makan tinggi kalori, lemak, dan kolesterol, terutama dari makanan cepat saji, yang meningkatkan risiko diabetes. Selain itu, seiring bertambahnya usia, metabolisme karbohidrat dan pelepasan insulin berubah, yang pada akhirnya memengaruhi kadar glukosa darah (Susanti *et al.*, 2024).

Diabetes melitus berada pada peringkat ke-7 sebagai 10 penyakit yang menyebabkan kematian di dunia. Menurut International Diabetes Federation (IDF), prevalensi diabetes melitus secara global pada tahun 2021 mencapai sekitar 537 juta orang dewasa dan lansia, atau sekitar 10,5%. Sedangkan di Indonesia, jumlah penderita diabetes melitus pada tahun 2021 mencapai 19,5 juta, sehingga menempatkan negara ini di peringkat kelima dunia untuk jumlah kasus terbanyak. IDF memperkirakan jumlah penderita akan meningkat menjadi 578 juta pada tahun 2030 dan 700 juta pada tahun 2045 (IDF, 2021).

2.1.2. Patofisiologi Diabetes Melitus

Patofisiologi diabetes mellitus berkaitan dengan pengaturan jumlah glukosa yang diambil dan dilepaskan oleh hati serta digunakan oleh jaringan perifer. Proses ini bergantung pada keseimbangan fisiologis beberapa hormon yang memengaruhi kadar glukosa darah. Insulin, yang diproduksi oleh sel-sel beta di pulau Langerhans pankreas, berfungsi menurunkan kadar glukosa darah. Sementara itu, hormon seperti glukagon, yang disekresikan oleh korteks adrenal, dan hormon pertumbuhan (growth hormone) meningkatkan kadar glukosa darah. Kedua jenis hormon ini bekerja sebagai mekanisme pengatur yang saling berlawanan untuk mencegah gangguan akibat pengaruh insulin (Price dan Wilson, 2016).

Diabetes tipe II disebabkan oleh dua masalah utama, yaitu resistensi insulin dan gangguan sekresi insulin. Normalnya, insulin berikatan dengan reseptor sel untuk memproses glukosa, tetapi pada kondisi ini, insulin tidak efektif sehingga gula darah meningkat. Kerusakan utama terjadi pada otot, hati, dan sel β pankreas, yang kesulitan memenuhi kebutuhan insulin. Selain itu, organ lain seperti jaringan

lemak, saluran pencernaan, sel α pankreas, ginjal, dan otak juga berkontribusi. Jaringan lemak meningkatkan lipolisis, saluran pencernaan kekurangan incretin, sel α memproduksi glukagon berlebih, ginjal menyerap glukosa berlebih, dan otak resisten terhadap insulin. Gangguan ini bersama-sama memperburuk metabolisme glukosa pada diabetes tipe II (Aini dan Aridiana, 2016; ADA, 2018; Soelistijo *et al.*, 2021).

2.1.3. Klasifikasi Diabetes Melitus

Diabetes tipe 1 disebabkan oleh kerusakan sel β akibat autoimun, yang biasanya mengakibatkan kekurangan insulin secara absolut. Salah satu bentuk diabetes tipe 1 adalah diabetes autoimun laten yang muncul pada masa dewasa. Diabetes tipe 2 terjadi karena penurunan sekresi insulin oleh sel β secara progresif, yang sering kali terjadi bersamaan dengan resistensi insulin. Selain itu, ada juga jenis diabetes lain yang disebabkan oleh faktor-faktor tertentu, seperti sindrom diabetes monogenik (contohnya diabetes neonatal dan diabetes yang muncul pada usia muda), penyakit pankreas eksokrin (seperti fibrosis kistik dan pankreatitis), serta diabetes yang dipicu oleh penggunaan obat-obatan atau bahan kimia, seperti glukokortikoid, pengobatan HIV/AIDS, atau setelah transplantasi organ. Di sisi lain, diabetes gestasional adalah diabetes yang didiagnosis pada trimester kedua atau ketiga kehamilan pada wanita yang sebelumnya tidak menunjukkan gejala diabetes (Care dan Suppl, 2021).

2.1.4. Faktor Resiko Diabetes Melitus

Diabetes melitus tipe 2 dipengaruhi oleh beberapa faktor risiko, antara lain usia, aktivitas fisik, paparan asap, indeks massa tubuh (IMT), tekanan darah, stres, gaya hidup, riwayat keluarga, kadar kolesterol HDL, kadar trigliserida, riwayat

diabetes gestasional, gangguan glukosa, dan kelainan lainnya. Menurut penelitian (Lestari *et al.*, 2021) diabetes tipe 1 lebih banyak dipengaruhi oleh faktor genetik, lingkungan, dan usia, sedangkan diabetes tipe 2 lebih terkait dengan gaya hidup dan obesitas.

2.1.5. Kelompok Obat Antidiabetes

Menurut Adi (2019), terapi farmakologis diabetes dilakukan bersama dengan pengaturan pola makan dan aktivitas fisik sebagai bagian dari gaya hidup sehat. Terapi farmakologis diabetes ini terdiri dari obat antidiabetes oral dan suntik.

1. Obat antidiabetes oral

Berdasarkan mekanismenya, obat antidiabetes oral terbagi menjadi lima kelompok :

a. Pemicu Sekresi Insulin (Insulin Secretagogue)

- ✓ Sulfonilurea : Merangsang sel beta pankreas untuk meningkatkan produksi insulin. Efek sampingnya meliputi hipoglikemia dan peningkatan berat badan. Penggunaan pada lansia atau pasien dengan gangguan hati atau ginjal perlu kehati-hatian.
- ✓ Glinid : Serupa dengan sulfonilurea tetapi bekerja pada reseptor berbeda, efektif meningkatkan insulin fase pertama dan mengatasi hiperglikemia setelah makan. Efek sampingnya hipoglikemia, dan obat ini tidak lagi tersedia di Indonesia.

b. Peningkat Sensitivitas Insulin

- ✓ Metformin : Menurunkan produksi glukosa hati dan meningkatkan ambilan glukosa di jaringan perifer, pilihan pertama untuk DM tipe

2. Tidak diberikan pada pasien dengan LFG < 30 mL/menit/1,73

m² atau gangguan hati berat. Efek sampingnya termasuk gangguan pencernaan, seperti dispepsia dan diare.

- ✓ Tiazolidinedion (TZD) : Merangsang reseptor PPAR-gamma untuk meningkatkan ambilan glukosa di jaringan perifer, tetapi dapat menyebabkan retensi cairan. Tidak dianjurkan untuk pasien gagal jantung kelas III-IV, dan perlu pemantauan fungsi hati. Contoh obatnya adalah pioglitazone.

c. Penghambat α -Glukosidase

Menghambat enzim α -glukosidase di saluran pencernaan untuk mengurangi penyerapan glukosa di usus halus, dengan efek samping berupa penumpukan gas. Contohnya acarbose. Tidak direkomendasikan untuk pasien dengan LFG ≤ 30 mL/menit/1,73 m² atau gangguan hati berat.

Acarbose dan miglitol merupakan inhibitor α -glukosidase yang bekerja dengan menghambat enzim di usus halus yang memecah karbohidrat kompleks, sehingga memperlambat penyerapan karbohidrat dan menurunkan kadar glukosa darah postprandial sebanyak 40–50 mg/dL (2,2–2,8 mmol/L). Namun, penggunaan obat ini sering kali terbatas karena tingginya insiden efek samping gastrointestinal, seperti perut kembung (42%–74%), ketidaknyamanan perut (12%–19%), dan diare (29%–31%). Untuk mengurangi risiko efek samping tersebut, pemberian dosis awal yang rendah diikuti dengan peningkatan dosis secara bertahap dianjurkan. Inhibitor α -glukosidase dikontraindikasikan pada pasien dengan penyakit usus kronis, termasuk penyakit radang usus, serta tidak disarankan bagi

pasien dengan kadar kreatinin serum (SCr) lebih dari 2 mg/dL (177 μ mol/L) (Chisholm-Burns *et al.*, 2019).

d. Penghambat Dipeptidyl Peptidase-4 (DPP-4)

Menghambat enzim DPP-4, mempertahankan kadar GLP-1 dan GIP aktif dalam darah, yang memperbaiki toleransi glukosa, meningkatkan respons insulin, dan mengurangi sekresi glukagon. Contoh obat: vildagliptin, linagliptin, sitagliptin, saxagliptin, dan alogliptin.

e. Penghambat Sodium Glucose co-Transporter 2 (SGLT-2)

Menghambat reabsorpsi glukosa di ginjal dan meningkatkan ekskresinya melalui urin, membantu menurunkan berat badan dan tekanan darah. Efek sampingnya meliputi risiko infeksi saluran kemih dan genital. Tidak dianjurkan pada LFG < 45 mL/menit karena risiko ketoasidosis.

2. Obat antidiabetes suntik

Obat antidiabetes suntik mencakup insulin, agonis GLP-1, dan kombinasi keduanya, sebagai berikut:

a. Insulin

Insulin diberikan jika HbA1c $\geq$ 7,5% meskipun sudah menggunakan dua obat antidiabetes, HbA1c > 9%, terjadi penurunan berat badan cepat, hiperglikemia berat, atau krisis hiperglikemia. Digunakan juga dalam kondisi gagal terapi dengan kombinasi obat oral, stres berat, kehamilan dengan diabetes tak terkontrol, gangguan ginjal atau hati berat, kontraindikasi obat oral, dan kondisi perioperatif.

b. Agonis GLP-1

Agonis GLP-1 meniru hormon inkretin untuk meningkatkan sekresi insulin, mengurangi berat badan, menekan pelepasan glukagon, dan menghambat nafsu makan. Efek samping meliputi mual dan muntah. Contoh obatnya adalah liraglutide dan exenatide.

3. Terapi Kombinasi

Kombinasi dapat mencakup dua obat oral dengan mekanisme berbeda atau insulin basal. Dosis insulin basal biasanya 6-10 unit dan disesuaikan berdasarkan glukosa puasa. Jika kontrol glukosa belum tercapai, kombinasi insulin basal dan prandial dapat diberikan.

4. Kombinasi Insulin Basal dengan Agonis GLP-1

Kombinasi ini menurunkan glukosa darah puasa (oleh insulin basal) dan postprandial (oleh agonis GLP-1), menurunkan HbA1c, risiko hipoglikemia, dan berat badan. Kombinasi yang umum adalah Ideglira (insulin degludeg dan liraglutide) dan IGlarLixi (insulin glargine dan lixisenitide).

Jika HbA1c belum tercapai dengan agonis GLP-1 dan obat oral, insulin basal dapat ditambahkan hingga glukosa puasa mencapai 80-130 mg/dL dan HbA1c < 7%.

2.2. Glukosa Postprandial

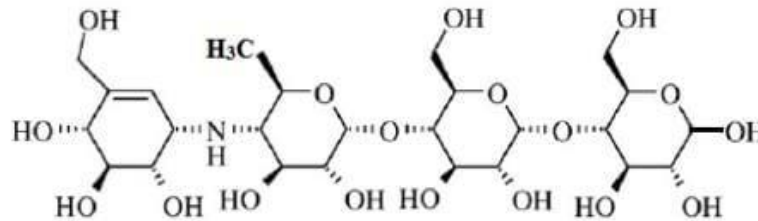
Glukosa postprandial adalah peningkatan kadar gula darah yang terjadi segera setelah makan, yang dimulai sekitar 10-20 menit setelah makan, mencapai puncaknya dalam 30 menit hingga 1 jam, dan kembali ke kadar normal dalam 2-5 jam. Peningkatan glukosa darah postprandial berkontribusi terhadap

perkembangan aterosklerosis, karena ketidakseimbangan antara radikal bebas dan sistem pertahanan antioksidan dapat menyebabkan stres oksidatif, yang berperan dalam perkembangan penyakit degeneratif. Hiperglikemia memicu disfungsi endotel melalui induksi stres oksidatif sebagai mediator utama, dengan hiperglikemia postprandial yang meningkatkan produksi superoksida berlebih oleh rantai transport elektron mitokondria di sel endotel melalui aktivasi NAD(P)H oksidase. Peningkatan glukosa ini menyebabkan kerusakan pembuluh darah yang melibatkan pembentukan produk akhir glikasi, perubahan aktivasi protein kinase, dan faktor nuklir kappa B (NF- κ B), yang semuanya merupakan tahap awal aterosklerosis dan indikator sensitif terhadap risiko perkembangan penyakit ini. Peningkatan superoksida di pembuluh darah mendorong produksi radikal bebas lebih lanjut dan meningkatkan oksidasi LDL selama hiperlipidemia postprandial. Lipoprotein densitas rendah (LDL) yang terperangkap di endotel dioksidasi oleh radikal bebas yang diproduksi oleh endotel atau monosit, terutama pada tahap awal aterosklerosis, dan LDL yang teroksidasi dapat menonaktifkan oksida nitrat serta bersifat sitotoksik, yang menjadi awal terbentuknya aterosklerosis (Morabito *et al.*, 2014).

2.3. Acarbose

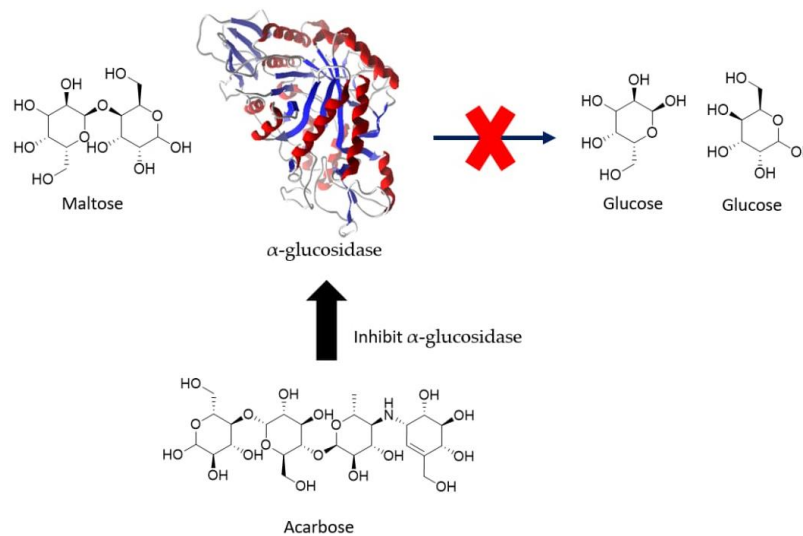
Acarbose adalah terapi farmakologis yang menarik untuk diteliti karena mekanismenya yang menghambat kerja enzim α -glukosidase dan α -amilase pankreas. Obat ini biasanya diberikan dengan dosis awal 50 mg yang kemudian dapat dinaikkan secara bertahap hingga 150-600 mg per hari, disarankan untuk dikonsumsi bersama segelas penuh air pada suapan pertama sarapan atau makan (Budianto dan Hairullah, 2017). Dalam penelitian ini, acarbose digunakan sebagai

pembandingan terhadap ekstrak etanol sayuran yang diuji untuk menurunkan kadar glukosa darah.



Gambar 1. Struktur Kimia Acarbose
Sumber : (Depkes RI, 1995)

Acarbose dihasilkan dari galur *Actinoplanes utahensis* tertentu, mengandung tidak kurang dari 95,0% dan tidak lebih dari 102,0%, $C_{25}H_{43}NO_{18}$, dihitung terhadap zat anhidrat (Depkes RI, 1995). Acarbose (berat molekul 645,6 kDa) adalah suatu senyawa yang larut dalam air dan memiliki pKa 5,1. Senyawa ini mirip dengan oligosakarida dari pencernaan pati (Gambar 1), tetapi memiliki perbedaan utama pada penambahan gula amino pada unit α -D-glukopiranos. Ikatan karbon-nitrogen pada acarbose tidak bisa diputus oleh enzim pencernaan karbohidrat di usus halus, sehingga acarbose bertindak sebagai penghambat kompetitif dan reversibel untuk enzim α -glukosidase. Enzim α -glukosidase berfungsi memecah karbohidrat, seperti pati dan sukrosa, menjadi glukosa di usus halus (Campbell *et al.*, 1996). Acarbose dapat menurunkan kadar gula darah postprandial (setelah makan) melalui mekanisme penghambatan enzim α -glukosidase. Penghambatan ini mencegah α -glukosidase mengubah karbohidrat kompleks menjadi monosakarida, seperti yang diilustrasikan pada Gambar 2.



Gambar 2. Mekanisme Acarbose Menghambat kerja enzim.
Sumber : (Gendokesumo *et al.*, 2022)

2.4. Karbohidrat

Karbohidrat merupakan sumber energi utama bagi tubuh manusia, menyediakan 4 kalori energi pangan per gram. Selain itu, karbohidrat memiliki peran yang signifikan dalam menentukan karakteristik bahan makanan, seperti rasa, warna, dan tekstur. Dalam tubuh, karbohidrat berfungsi untuk mencegah terjadinya ketosis, mengurangi pemecahan protein secara berlebihan, mencegah kehilangan mineral, serta membantu dalam metabolisme lemak dan protein. Karbohidrat terdiri dari tiga kategori, yaitu monosakarida, disakarida, dan polisakarida, yang masing-masing memiliki struktur senyawa yang berbeda (Fitri *et al.*, 2020).

Karbohidrat adalah senyawa organik yang terdiri dari atom karbon (C), hidrogen (H), dan oksigen (O), dengan unsur hidrogen dan oksigen umumnya memiliki perbandingan yang menghasilkan H_2O . Dalam tubuh, karbohidrat dapat dibentuk dari beberapa asam amino dan sebagian komponen lemak gliserol.

Namun, sebagian besar karbohidrat diperoleh dari konsumsi bahan makanan harian, terutama yang bersumber dari tumbuhan (Ananda, 2024).

2.4.1. Klasifikasi Karbohidrat

Karbohidrat terbagi menjadi empat kategori utama, yaitu monosakarida, disakarida, oligosakarida, dan polisakarida (Firani, 2017).

- a) Monosakarida merupakan jenis karbohidrat paling sederhana yang tidak dapat dipecah lebih lanjut menjadi karbohidrat yang lebih kecil melalui proses hidrolisis. Berdasarkan jumlah atom karbon yang dikandungnya, monosakarida dibagi menjadi beberapa jenis: triosa (mengandung 3 atom karbon), tetrosa (4 atom karbon), pentosa (5 atom karbon), heksosa (6 atom karbon), dan heptosa (7 atom karbon).

Selain itu, berdasarkan jenis gugus karbonilnya, karbohidrat terbagi menjadi dua golongan, yaitu aldosa dan ketosa. Aldosa memiliki gugus karbonil terminal ($\text{O}=\text{CH}$), yang dikenal sebagai gugus aldehid, sementara ketosa memiliki gugus karbonil ($\text{C}=\text{O}$) yang terletak di tengah-tengah dan berikatan dengan atom karbon lain, yang disebut sebagai gugus keton.

- b) Disakarida adalah hasil dari penggabungan dua unit monosakarida yang terikat melalui ikatan glikosidik. Contoh disakarida meliputi laktosa (gabungan glukosa dan galaktosa), maltosa (dua unit glukosa), dan sukrosa (gabungan glukosa dan fruktosa).
- c) Oligosakarida, di sisi lain, terbentuk dari tiga hingga sepuluh unit monosakarida.
- d) Polisakarida terdiri dari lebih dari sepuluh unit monosakarida. Contoh polisakarida termasuk amilum, glikogen, dan dekstrin. Selain amilum dan

dekstrin, bahan makanan tertentu juga mengandung jenis polisakarida lain yang dikenal sebagai polisakarida non-amilum, yang tidak dapat dicerna oleh enzim dalam tubuh manusia dan berfungsi sebagai komponen utama serat makanan. Contoh polisakarida ini meliputi selulosa dan inulin.

2.4.2. Proses Pencernaan Karbohidrat

Polisakarida dalam makanan sebagian besar terdiri dari amilum, yang dicerna oleh berbagai enzim dalam sistem pencernaan. Proses pencernaan karbohidrat ini melibatkan enzim α -amilase dari kelenjar ludah, α -amilase yang disekresikan oleh pankreas, serta enzim-enzim di usus halus seperti maltase, isomaltase, laktase, dan sukrase. Pencernaan amilum dimulai di rongga mulut, di mana α -amilase dari saliva menguraikan amilum menjadi polisakarida yang lebih kecil, yaitu α -dekstrin. Enzim ini bekerja optimal pada pH sekitar 7, sehingga aktivitasnya berhenti saat makanan mencapai lambung, karena pH lambung yang rendah (sekitar 1-4) akibat asam klorida (HCl) yang dihasilkan oleh sel parietal lambung (Firani, 2017).

Pencernaan karbohidrat dilanjutkan di duodenum, tempat α -dekstrin dihidrolisis oleh α -amilase dari pankreas menjadi disakarida (maltosa), trisakarida (maltotriosa), dan oligosakarida yang lebih kecil, termasuk cabang isomaltosa yang terhubung oleh ikatan α -1,6 glikosidik. Sekresi α -amilase pankreas ini disertai dengan bikarbonat yang berfungsi menetralkan asam klorida dari lambung. Di mukosa usus halus, enzim glukosidase yang menempel pada mikrovili sel epitel melanjutkan pencernaan oligosakarida, trisakarida, dan disakarida hingga menjadi monosakarida, yaitu glukosa, fruktosa, dan galaktosa (Firani, 2017).

2.5. Sampel Penelitian

Konsumsi sayuran sangat penting untuk pola makan yang seimbang. Hal ini karena sayur mengandung vitamin, mineral, serat, dan metabolit sekunder yang diperlukan tubuh (Arbie, 2015).

2.5.1. Pepaya (*Carica papaya* L.)

a) Klasifikasi

Menurut Hamzah (2014), dalam klasifikasi botani, tanaman pepaya (*Carica papaya* L.) termasuk dalam famili *Caricaceae*. Famili ini terdiri atas empat genus, yaitu *Carica*, *Jarilla*, *Jacaranda*, dan *Cylicomorpha*. Tiga genus pertama berasal dari wilayah tropis di Amerika, sementara genus *Cylicomorpha* berasal dari Afrika. Dari 24 spesies dalam genus *Carica*, salah satunya adalah tanaman pepaya. Pepaya diklasifikasikan sebagai berikut :

Famili : *Caricaceae*

Genus : *Carica*

Spesies : *Carica papaya* L.



Gambar 3. *Carica papaya* L.
Sumber : Dokumentasi pribadi

b) Morfologi

Carica papaya L. merupakan tumbuhan berbentuk semak menyerupai pohon dengan batang lurus, bulat, dan berongga di bagian dalam. Batangnya memiliki bekas daun pada permukaan luar serta dapat bercabang atau tidak. Tinggi pohon berkisar antara 2,5 hingga 10 meter. Daun berbentuk bulat atau bulat telur dengan ujung runcing, bertulang menjari, bercangap, dan berbagi menjari. Panjang tangkai daun 2,5–10 meter dengan daun berdiameter 25–75 cm. Permukaan daun bagian atas berwarna hijau tua, sedangkan bagian bawah hijau muda, licin, dan suram. Setiap tiga lingkaran batang biasanya terdapat delapan daun. Tanaman ini berasal dari Amerika dan sering ditanam sebagai pohon buah (Steenis, 1992).

c) Pemanfaatan

Salah satu bagian tanaman pepaya yang di manfaatkan sebagai sayur adalah daun muda, contoh masakannya yaitu anyang, oseng, sayur santan, dan tumis daun pepaya.

d) Metabolit Sekunder dan Bioaktivitas

Penelitian ilmiah menunjukkan bahwa daun pepaya mengandung berbagai senyawa bioaktif, termasuk glikosida, flavonoid, alkaloid, saponin, senyawa fenolik, asam amino, lipid, karbohidrat, enzim, vitamin, dan mineral dalam jumlah yang signifikan. Sebanyak tujuh jenis flavonoid telah diidentifikasi dalam daun pepaya, yaitu quercetin, kaempferol 3-rutinosida, quercetin 3-(2G-rhamnosylrutinoside), quercetin 3-rutinosida, kaempferol 3-(2G-rhamnosylrutinoside), dan myricetin 3-rhamnosida. Selain itu, beberapa senyawa fenolik yang terdapat pada daun pepaya meliputi asam kafeat, asam

protokatekuat, quercetin, 5,7-dimetil kumarin, asam p-kumarat, dan asam klorogenat (Sharma *et al.*, 2022).

Dokter tradisional di Nigeria menggunakannya untuk mengobati diabetes, sementara di Kamerun, mereka menggabungkannya dengan tanaman herbal lain untuk mengobati malaria dan infeksi jamur lainnya, dan catatan penduduk asli Australia menggunakan rebusan daun sebagai obat antikanker (Sharma *et al.*, 2022). Daun pepaya (*Carica papaya* L.) merupakan salah satu sumber antioksidan yang terbukti mengandung senyawa bioaktif seperti α -tokoferol, asam askorbat, dan flavonoid. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Maisarah *et al.* (2013), aktivitas antioksidan ekstrak metanol daun muda pepaya tercatat sebesar $7,8 \pm 0,06$ mg/mL. Hasil ini menunjukkan potensi daun pepaya muda sebagai bahan alami dengan kapasitas antioksidan yang signifikan.

2.5.2. Pare (*Momordica charantia* L.)

a) Klasifikasi

Menurut Cindy dan Rosmidah (2023), Pare (*Momordica charantia* L.) merupakan tanaman merambat yang tumbuh memanjang. Buahnya berbentuk lonjong kecil dengan permukaan berbintil-bintil halus. Ciri khas tanaman ini terletak pada buahnya yang memiliki rasa sangat pahit. Berikut adalah klasifikasi dari tanaman pare :

Famili : Curcubitaceae

Genus : *Momordica*

Spesies : *Momordica charantia* L.



Gambar 4. *Momordica charantia* L.

Sumber : Dokumentasi pribadi

b) Morfologi

Pada bunga, terdapat dua jenis kelamin, yaitu bunga jantan dan bunga betina, yang dapat dibedakan. Batang tanaman pare berwarna hijau, memiliki ruas-ruas, berusuk lima, dan panjangnya sekitar 2–3 meter. Daunnya berbentuk menjari dengan panjang 10–20 cm dan lebar 16 cm. Buah pare berbentuk bulat agak memanjang, berukuran sekitar 18 cm, dengan panjang mencapai 27 cm. Biji berwarna coklat, berbentuk kotak agak lonjong, dan pada buah yang sudah tua, biji tersebut diselubungi oleh pembungkus berwarna merah. Sistem akar pare terdiri atas akar tunggang dan akar serabut (Cindy dan Rosmidah, 2023).

c) Pemanfaatan

Salah satu bagian tanaman pare yang di manfaatkan sebagai sayur adalah buah, contoh masakannya yaitu kukus, oseng, sayur santan, tumis, sambal tanak, sambal dan gulai pare.

d) Metabolit Sekunder dan Bioaktivitas

Buah pare (*Momordica charantia* L.) mengandung senyawa aktif seperti charantin dan polipeptida-P yang berpotensi sebagai antidiabetes. Penelitian

menunjukkan buah pare memiliki aktivitas antidiabetik, baik dalam bentuk ekstrak maupun non-ekstrak, serta dapat diberikan secara tunggal atau kombinasi. Efek antihiperglikemia buah pare meliputi penurunan kadar glukosa darah, peningkatan sensitivitas dan kadar insulin, normalisasi HbA1c, perbaikan profil lipid, serta pengurangan stres oksidatif. Buah pare mengandung charantin, polipeptida-P, insulin, dan lektin yang berperan dalam menurunkan kadar glukosa darah. Selain itu, kandungan antioksidan seperti saponin, flavonoid, polifenol, dan vitamin C membantu melawan radikal bebas yang berpotensi merusak sel Leydig akibat diabetes. Efek hipoglikemik buah pare dicapai melalui penghambatan glukoneogenesis di hati, perlindungan sel beta pankreas, dan peningkatan sensitivitas insulin (Kusuma dan Maesaroh, 2020).

2.5.3. Rebung (*Gigantochloa atter* (Hassk.) Kurz ex Munro)

a) Klasifikasi

Bambu termasuk dalam famili Poaceae (rumput-rumputan) dan sering disebut sebagai Giant Grass (rumput raksasa). Bambu tumbuh berumpun dan terdiri atas sejumlah batang (buluh) yang berkembang secara bertahap, dimulai dari rebung, batang muda, hingga mencapai kematangan pada usia 3–4 tahun (Resti *et al.*, 2018). Berikut adalah klasifikasi dari bambu paring :

Famili : Poaceae

Genus : *Gigantochloa*

Spesies : *Gigantochloa atter* (Hassk.) Kurz ex Munro

(Daud *et al.*, 2018)



Gambar 5. *Gigantochloa atter* (Hassk.) Kurz ex Munro
Sumber : Dokumentasi pribadi

b) Morfologi

Batang hijau tua, tinggi 12-20 m; permukaan ruas mengkilap halus, panjang 37-48 cm, diameter 9-10 cm, lingkaran 32-34 cm, ketebalan dinding 9-16 mm, lebar rongga 6,5-7,5 cm, nodus cokelat kehitaman dengan akar lutut; miang cokelat tua. Ranting 6-15 buah. Rebung hijau kehitaman, panjang 33-150 cm, lingkaran 11-34 cm, diameter 5-9 cm; pelepah rebung hijau kekuningan, tepi hijau kecokelatan, posisi daun tegak lurus, miang hitam. Pelepah buluh banyak, berbentuk kerucut, berwarna cokelat muda, tinggi 32-38 cm, lebar 30-38 cm; kuping bercuping membulat, panjang kuping 5-6,5 mm, bulu kejur hitam, panjang bulu kejur 2-4 mm; panjang ligula 3-5 mm; panjang daun pelepah buluh 15-18 cm, posisi terlekok balik, miang cokelat tua, rata, banyak. Daun 34-38 cm, lebar 5-6 cm, pangkal tumpul, tepi melengkung keluar, jenis permukaan tidak berbulu, bagian atas hijau tua, halus berserat alur, bagian bawah hijau muda. halus; kuping 0,3-1 mm, bulu kejur 3-6 mm, ligula 1-2 mm, tepi bergerigi, tangkai kuning kecokelatan, pelepah hijau, tepi pelepah kuning. Ekologi dan persebaran habitat berada di ketinggian 729-751mdpl,

suhu udara 28-28,5 °C, dengan kelembapan udara 72-78%. Kondisi tanah gembur dan terdapat aliran sungai (Sa'diyah dan Indah, 2023).

c) Pemanfaatan

Bagian tanaman bambu yang di manfaatkan sebagai sayur adalah rebung, contoh masakannya yaitu sayur santan, tumis, dan gulai.

d) Metabolit Sekunder dan Bioktivitas

Penelitian mengenai metabolit sekunder dan bioaktivitas dari rebung bambu paring (*Gigantochloa atter*) masih terbatas, meskipun beberapa studi telah dilakukan pada bagian lain dari tanaman ini. Secara umum, tanaman bambu diketahui mengandung berbagai metabolit sekunder seperti flavonoid, alkaloid, saponin, dan tanin, yang berperan dalam aktivitas biologis seperti antioksidan, antiinflamasi, dan antimikroba (Sujarwanta, 2021). Salah satu penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun bambu paring memiliki potensi aktivitas antioksidan. Studi ini mengamati efek ekstrak terhadap kadar malondialdehida (MDA) pada tikus yang diinduksi parasetamol, dan hasilnya menunjukkan bahwa pemberian ekstrak dengan dosis 10 mg/ml dan 20 mg/ml dapat menurunkan kadar MDA secara signifikan dibandingkan kelompok kontrol positif. Temuan ini mengindikasikan potensi manfaat antioksidan yang dapat mendukung penggunaan daun bambu paring sebagai agen terapeutik (Airlangga *et al.*, 2015).

Selain itu, penelitian dari Noviawati, (2012) menyatakan bahwa ekstrak tunas bambu paring (*Gigantochloa ater* Kurz) berpengaruh terhadap penurunan kadar kolesterol pada tikus putih (*Rattus norvegicus* L.) strain Wistar. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak dengan dosis

0,15 gram/hari (kelompok P3) menghasilkan penurunan kadar kolesterol tertinggi sebesar 30,6 mg/dl dibandingkan kelompok lainnya. Selain ekstrak, jus tunas bambu paring dengan dosis 6,48 gram/hari (kelompok P4) juga mampu menurunkan kadar kolesterol hingga 25,4 mg/dl. Hasil ini memperkuat bukti bahwa tunas bambu paring memiliki potensi sebagai agen hipokolesterolemik, yang dapat dikembangkan lebih lanjut untuk aplikasi klinis. Penelitian lanjutan diperlukan untuk mengetahui lebih dalam mekanisme kerja dan potensi bioaktivitas metabolit sekunder dari rebung bambu paring.

2.5.4. Pakis (*Diplazium esculentum* (Retz.) Sw.)

a) Klasifikasi

Menurut Semwal *et al.* (2021), *Diplazium esculentum* (Retz.) Sw. yang lebih dikenal sebagai pakis sayur, merupakan tumbuhan liar yang tumbuh subur di daerah perbukitan. Tanaman ini juga sering dijumpai di tepi sungai atau pada tebing-tebing yang memiliki kondisi lembap dan terlindung dari paparan sinar matahari langsung. Klasifikasi Ilmiah Tumbuhan Pakis Sayur :

Famili : Athyriaceae

Genus : Diplazium

Spesies : *D. esculentum*

Nama binomial : *Diplazium esculentum* (Retz.) Sw.



Gambar 6. *Diplazium esculentum* (Retz.) Sw
Sumber : Dokumentasi pribadi

b) Morfologi

Pakis sayur dapat dikenali melalui karakteristik morfologinya, yaitu rimpang yang tertutup oleh sisik atau bulu halus (*rufous*) dan memiliki tinggi sekitar 50 cm. Daunnya berbentuk menyirip ganda dengan tangkai daun berwarna kecokelatan. Panjang daun majemuk tanaman ini dapat mencapai 1,5 meter, sedangkan panjang daun sekunder sekitar 8 cm dengan lebar 2 cm (Semwal *et al.*, 2021).

c) Pemanfaatan

Bagian tanaman pakis yang di manfaatkan sebagai sayur adalah daun muda, contoh masakannya yaitu gulai, sambal tanak, sayur santan, tumis pakis.

d) Metabolit Sekunder dan Bioktivitas

Tanaman ini diketahui mengandung berbagai senyawa bioaktif, antara lain alkaloid, flavonoid, glikosida, senyawa fenolik, tanin, terpenoid, steroid, karbohidrat, dan lemak. Penelitian lain juga mengungkapkan, bahwa minyak atsiri yang diisolasi dari daun *Diplazium esculentum* mengandung senyawa

volatil utama, yaitu β -pinene (17,2%), α -pinene (10,5%), *caryophyllene oxide* (7,5%), *sabinene* (6,1%), dan 1,8-cineole (5,8%). Kandungan fitokimia dalam daun pakis sayur ini memberikan potensi aktivitas antioksidan yang signifikan (Semwal *et al.*, 2021).

Secara tradisional, *Diplazium esculentum* digunakan untuk mengobati berbagai penyakit, seperti diabetes, cacar, asma, diare, rematik, disentri, sakit kepala, demam, luka, nyeri, campak, hipertensi, konstipasi, oligospermia, patah tulang, pembengkakan kelenjar, serta berbagai gangguan kulit lainnya. Selain itu, bagian pucuk muda dari tanaman ini banyak dikonsumsi sebagai sayuran, sehingga dikenal luas dengan nama pakis sayur atau paku sayur di kalangan masyarakat (Semwal *et al.*, 2021).

2.5.5. Oyong/pitulo (*Luffa acutangula* L.) Roxb.

a) Klasifikasi

Menurut Herbarium Bogoriense (2015), taksonomi buah oyong/pitulo adalah sebagai berikut:

Famili: Cucurbitaceae

Genus: *Luffa*

Spesies : *Luffa acutangula* (L.) Roxb.



Gambar 7. *Luffa acutangula* (L.) Roxb.

Sumber : Dokumentasi pribadi

b) Morfologi

oyong/pitulo merupakan tumbuhan yang berasal dari India dan telah menyebar ke berbagai negara beriklim tropis. Tumbuhan ini memiliki batang lunak berbentuk segi lima, tumbuh secara merambat atau menjalar dengan sulur sebagai alat untuk merambat. Sulur tumbuh dari ketiak daun, berbentuk spiral, dan memiliki bulu yang lebih panjang dibandingkan bulu pada batang. Daun oyong/pitulo berwarna hijau tua, berbentuk lonjong dengan pangkal menyerupai jantung, ujung meruncing, serta permukaan kasar. Panjang daun berkisar antara 10–25 cm, dengan tangkai sepanjang 5–10 cm, dan tulang daun yang menonjol di permukaan bawah. Bunganya berkelamin satu (monoecus), yakni bunga jantan dan betina terdapat dalam satu tanaman, berwarna kuning, serta dapat melakukan penyerbukan sendiri (self-pollination) maupun penyerbukan silang (cross-pollination). Buah oyong/pitulo berbentuk bulat panjang dengan pangkal kecil, berukuran panjang 15–60 cm, lebar 5–12 cm, dan diameter 5–8 cm. Setiap buah mengandung banyak biji dengan ukuran 11–13 mm × 7–9 mm, serta kulit biji

yang keras. Buah yang telah tua berwarna hijau kecokelatan hingga kuning kecokelatan, dengan kulit biji berwarna hitam dan keras. Buah yang tua juga mengandung serat kasar yang sering dimanfaatkan sebagai spons (Rukmana, 2000; Stephens, 2012).

c) Pemanfaatan

Bagian tanaman oyong/pitulo yang di manfaatkan sebagai sayur adalah buah muda, contoh masakannya yaitu kukus, gulai, sayur santan, tumis oyong/pitulo.

d) Metabolit Sekunder dan Bioktivitas

Buah oyong/pitulo mengandung berbagai senyawa kimia, antara lain karbohidrat, karoten, lemak, protein, serta asam amino seperti alanin, arginin, glisin, sistein, asam glutamat, hidrosiprolin, leusin, serin, dan triptofan. Selain itu, gambas juga mengandung senyawa flavonoid dan saponin. Pada bagian bijinya terdapat minyak yang mengandung asam lemak, seperti asam palmitat, asam stearat, dan asam miristat (Sari, 2015). Flavonoid merupakan senyawa yang berfungsi sebagai antioksidan dengan kemampuan menghambat penggumpalan trombosit, merangsang produksi nitrogen monoksida untuk melebarkan pembuluh darah, serta menghambat pertumbuhan sel kanker. Selain itu, flavonoid juga memiliki sifat farmakologis lain, seperti antioksidan, hepatoprotektif yang mampu menghambat pertumbuhan jamur serta bakteri, antitrombotik, antiinflamasi, dan antivirus (Winarsi, 2007).

2.6. Ekstraksi

2.6.1. Pengertian ekstraksi

Ekstraksi merupakan proses pemisahan senyawa dari simplisia dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Metode pemisahan ekstraksi menggunakan prinsip kelarutan *like dissolve like* dimana suatu pelarut polar akan melarutkan senyawa polar dan pelarut non polar akan melarutkan senyawa non polar (Kiswandono, 2011).

Tujuan ekstraksi yaitu untuk menarik atau memisahkan senyawa dari simplisia atau campurannya. Pemilihan metode dilakukan dengan memperhatikan senyawa, pelarut yang digunakan serta alat yang tersedia. Metode ekstraksi yang umum digunakan adalah maserasi dan refluks (Hanani, 2017).

2.6.2. Metode ekstraksi

a) Cara dingin

1. Meserasi

Maserasi adalah metode ekstraksi menggunakan pelarut pada suhu ruang, dengan atau tanpa pengadukan, yang melibatkan perendaman bahan selama 24 jam dan kadang disertai penggantian pelarut baru. Proses ini juga dapat dilakukan dengan pengadukan terus-menerus (maserasi kinetik). Metode ini cocok untuk senyawa yang tidak tahan panas, dengan alat yang sederhana, murah, dan mudah didapat. Namun, maserasi memiliki kelemahan, seperti waktu ekstraksi yang lama, kebutuhan pelarut yang banyak, serta keterbatasan dalam mengekstrak senyawa dengan kelarutan rendah pada suhu ruang (Sarker, S.D., et al., 2006).

2. Perkolasi

Perkolasi adalah metode ekstraksi di mana bahan disusun dalam lapisan dan dialiri pelarut baru secara terus-menerus hingga semua senyawa terlarut, biasanya pada suhu ruang. Prosesnya melibatkan perendaman awal, lalu pelarut dialirkan hingga tidak ada perubahan warna, yang menandakan ekstraksi selesai. Metode ini tidak memerlukan pemisahan padatan dari ekstrak, tetapi membutuhkan banyak pelarut, waktu lama, dan kontak bahan dengan pelarut yang tidak selalu merata (Sarker, S.D., et al., 2006).

b) Cara panas

1. Soxhletasi

Ekstraksi soxhlet digunakan jika senyawa target memiliki kelarutan terbatas dalam pelarut, sementara pengotor tidak larut. Jika kelarutannya tinggi, penyaringan sederhana cukup. Metode ini efisien karena pelarut secara kontinu mengalir dan merendam sampel, membawa senyawa terlarut ke labu penampung. Namun, metode ini tidak cocok untuk senyawa termolabil karena risiko degradasi akibat pemanasan lama (Endang, 2015).

2. Refluks

Ekstraksi refluks adalah metode ekstraksi menggunakan pelarut pada titik didihnya dengan bantuan kondensor. Biasanya, proses ini diulang 3–5 kali pada rafinat pertama. Keunggulannya adalah mampu mengekstrak padatan bertekstur kasar dan tahan panas. Namun, metode ini memerlukan pelarut dalam jumlah besar (Irawan, 2010).

3. Dekokta

Dekokta merupakan metode untuk mengambil zat aktif tanaman dengan cara dipanaskan selama 30 menit terhitung mulai suhu mencapai 90°C sambil diaduk kemudian dilakukan penyaringan untuk mendapatkan larutan dekokta. Metode ini menghasilkan ekstrak yang tidak stabil dan mudah mengendap sehingga tidak boleh disimpan lebih dari 24 jam. Kelebihan metode dekokta adalah cara pembuatannya sangat mudah dan waktu pengerjaan relatif singkat sehingga mudah untuk diterapkan di rumah (BPOM, 2010).

4. Infusa

Infusa sama dengan dekokta perbedaannya hanya pada waktu, untuk infusa 15 menit dan untuk dekokta 30 menit (BPOM, 2010).

5. Destilasi

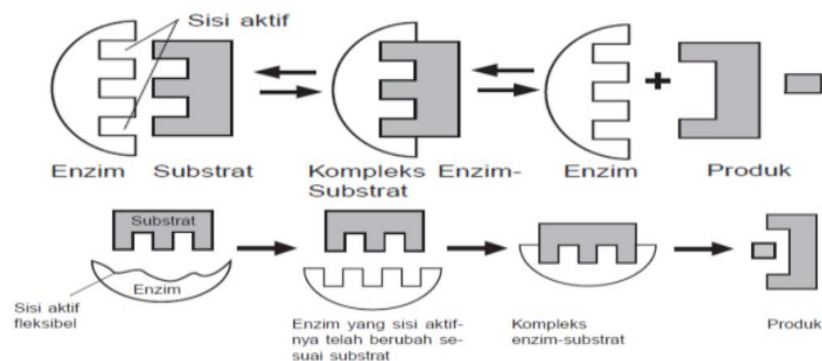
Destilasi adalah metode pemisahan campuran berdasarkan perbedaan titik didih cairan pada suhu dan tekanan tertentu, dengan cara menguapkan campuran, kemudian mendinginkannya untuk mengembunkan komponen-komponennya. Metode ini efektif untuk memisahkan zat dengan titik didih yang berbeda, tidak memerlukan bahan kimia tambahan, dan sering digunakan dalam industri. Namun, destilasi kurang efisien untuk memisahkan zat dengan perbedaan titik didih yang sangat kecil, memerlukan energi yang cukup besar, dan dapat memakan waktu tergantung pada sifat campuran yang dipisahkan (Yuliwati *et al.*, 2022).

6. Digesti

Digesti adalah metode maserasi dengan pemanasan ringan (40–50°C) yang dapat mempercepat pelarutan senyawa. Kelebihannya, pemanasan meningkatkan kemampuan pelarut, mengurangi kekentalan, dan mempercepat proses ekstraksi dengan mengurangi lapisan batas. Namun, kekurangannya adalah risiko kerusakan senyawa yang sensitif terhadap panas dan kemungkinan perubahan kimia pada zat yang diekstraksi jika suhu terlalu tinggi (I Gusti, 2010).

2.7. Enzim

Enzim adalah biokatalis yang berperan sebagai katalis dalam proses biologis. Secara umum, enzim meningkatkan kecepatan, selektivitas, dan pengendalian reaksi dalam tubuh (Supriyatna, 2015). Sebagai katalis, enzim mempercepat reaksi kimia hingga 10^8 hingga 10^{11} kali lebih cepat dibandingkan reaksi tanpa katalis (Marks, 2014). Enzim bekerja dengan cara berikatan dengan molekul substrat untuk menghasilkan senyawa melalui reaksi kimia organik yang membutuhkan energi aktivasi lebih rendah. Hal ini akan mempercepat reaksi kimia, karena reaksi kimia yang memerlukan energi aktivasi lebih tinggi cenderung berlangsung lebih lama (Putri *et al.*, 2024).



Ilustrasi cara kerja enzim gembok kunci (atas) dan ketepatan induksi (bawah)

Gambar 8. Cara Kerja Enzim dalam Tubuh

Sumber : (Putri *et al.*, 2024)

Cara kerja enzim sangat kompleks dan melibatkan tahapan yang berurutan untuk mendukung proses metabolisme. Berikut adalah dua teori utama tentang cara kerja enzim (Putri *et al.*, 2024) :

1. Teori Gembok dan Kunci (*Lock and Key Theory*)

Teori ini dikemukakan oleh Emil Fischer pada tahun 1894. Dalam teori ini, enzim berikatan dengan substrat karena bentuk enzim dan substrat yang saling cocok, seperti kunci dan gembok.

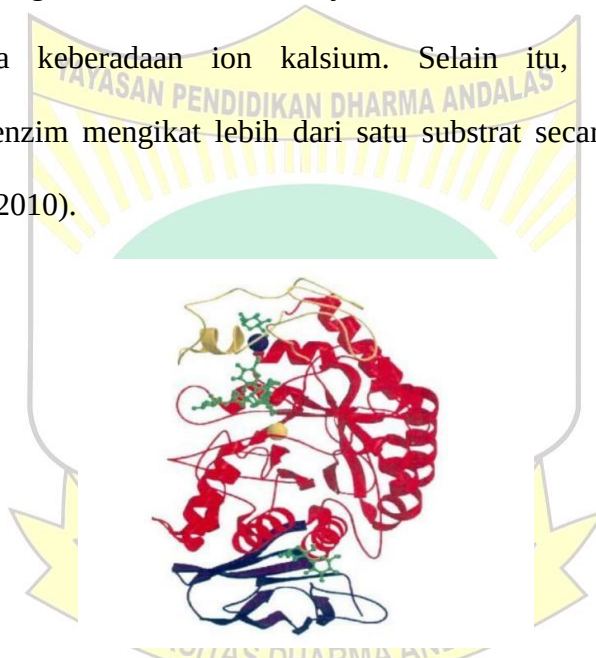
2. Teori Ketepatan Induksi (*Induced Fit Theory*)

Teori ini menyatakan bahwa enzim adalah protein katalitik yang menurunkan energi aktivasi reaksi kimia, mempercepat proses tanpa mengubah reaksi itu sendiri. Enzim dapat menyesuaikan bentuknya saat berikatan dengan substrat, sehingga lebih efisien dalam mempercepat reaksi, dan sangat penting untuk menjaga kestabilan suhu tubuh.

2.7.1. Enzim α -Amilase

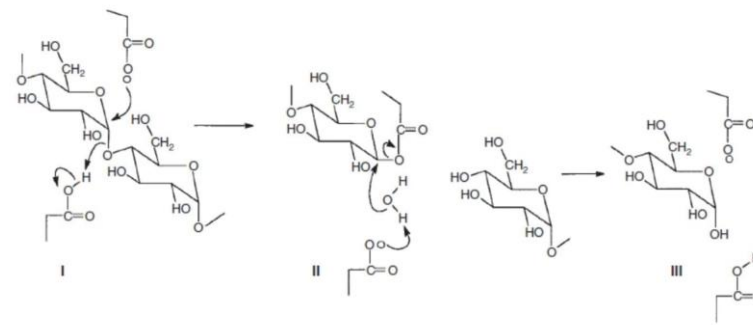
Enzim α -amilase, dengan nama kimia *endo-1,4- α -D-glucan glucohydrolase* (EC 3.2.1.1), adalah enzim ekstraseluler yang mampu memutus ikatan 1,4- α -D-glikosidik pada rantai linier amilosa secara acak dari bagian dalam, sehingga

dikategorikan sebagai endoenzim. Enzim ini terdiri dari tiga domain, yaitu domain A, B, dan C. Domain A, yang merupakan struktur terbesar berbentuk super barrel (β/α)₈, terhubung dengan domain B melalui ikatan disulfida. Domain B terletak di antara domain A dan C, sementara domain C memiliki struktur lembaran β yang terhubung ke domain A melalui rantai polipeptida sederhana. Sisi aktif enzim berada di ujung gugus karboksil domain A dan B, dengan ion kalsium sebagai stabilisator dan aktivator alosterik serta ion klorida yang turut berperan dalam fungsi enzim. Sebagai *calcium metalloenzyme*, aktivitas enzim α -amilase sangat bergantung pada keberadaan ion kalsium. Selain itu, sifat alosteriknya memungkinkan enzim mengikat lebih dari satu substrat secara simultan (Souza and Magalhaes, 2010).



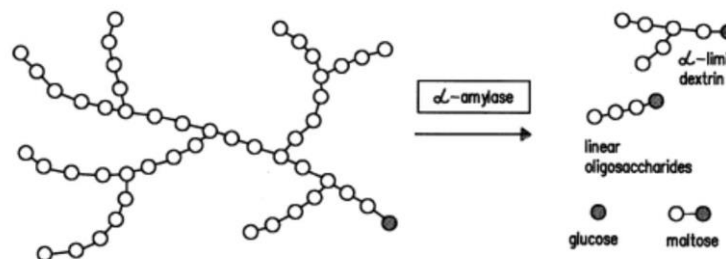
Gambar 9. Ilustrasi 3D Enzim α -Amilase
Sumber : (Souza and Magalhaes, 2010)

Enzim α -amilase umumnya memecah karbohidrat rantai panjang melalui mekanisme endoamilase, meskipun beberapa jenisnya bekerja sebagai eksoamilase, bergantung pada sumber enzim. Produk pemecahan oleh enzim ini meliputi dekstrin, limit dekstrin, oligosakarida, dan turunan siklodekstrin. Dekstrin adalah oligosakarida kompleks ($C_6H_{10}O_3$) yang merupakan produk antara dari penguraian pati menjadi glukosa, sedangkan limit dekstrin adalah oligosakarida dengan rantai lebih pendek (Souza and Magalhaes, 2010).



Gambar 10. Mekanisme SN2 pemutusan ikatan α -1,4-glikosidik oleh enzim α -amilase

Sumber : (Bemiller and Whistler , 2009).



Gambar 11. Hidrolisis pati oleh enzim α -amilase

Catatan : (•) residu α -D-glukosa pereduksi; (°) residu α -D-glukosa nonpereduksi

Sumber : (Horvathova *et al.*,2000)

Situs aktif α -amilase, tempat pengikatan substrat, terletak pada celah di antara ujung karboksil domain A dan B. Ion kalsium (Ca^{2+}) di antara domain A dan B berfungsi menstabilkan struktur tiga dimensi serta bertindak sebagai aktivator alosterik. Pengikatan analog substrat menunjukkan bahwa asam amino Asp206, Glu230, dan Asp297 berperan dalam katalisis. Mekanisme kerja α -amilase terdiri dari dua tahap. Tahap pertama melibatkan degradasi amilosa menjadi maltosa dan maltotriosa secara acak yang berlangsung sangat cepat dan menyebabkan penurunan viskositas larutan. Tahap kedua menghasilkan glukosa dan maltosa sebagai produk akhir, yang prosesnya lebih teratur. Pada molekul amilopektin, α -amilase memecahnya menjadi glukosa, maltosa, α -limit dekstrin, serta oligosakarida dengan empat atau lebih unit glukosa yang memiliki ikatan α -1,6-glikosidik (Ariandi, 2016).

2.7.2. Metode Pengujian Aktivitas Inhibitor Enzim α -Amilase

a) Metode DNS (3,5-Dinitrosalicylic Acid)

Metode DNS (3,5-Dinitrosalicylic Acid) digunakan untuk mengukur aktivitas enzim dengan memanfaatkan pembentukan gula pereduksi, seperti maltosa, yang dihasilkan dari hidrolisis pati oleh α -amilase. Reaksi ini menghasilkan senyawa berwarna yang dapat dianalisis menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 540 nm. Keunggulan metode ini terletak pada kesederhanaannya dan kemampuan memberikan hasil kuantitatif yang akurat. Selain itu, metode DNS juga dikenal memiliki sensitivitas tinggi, reproduibilitas yang baik, dan kemampuan untuk menggunakan pembanding, yang memungkinkan pengukuran komparatif antara sampel dan standar. Meskipun demikian, kekurangannya termasuk biaya reagen yang relatif tinggi, ketergantungan pada pengukuran absorbansi yang tepat, serta kebutuhan akan kondisi inkubasi yang terkontrol dengan baik agar hasilnya valid (Prahesti *et al.*, 2018).

b) Metode Iodin

Aktivitas α -amilase dapat diukur menggunakan metode Fuwa, yang didasarkan pada pengurangan jumlah substrat pati yang terhidrolisis, menghasilkan kompleks berwarna biru setelah penambahan iodin. Warna biru ini menyerap cahaya monokromatis pada panjang gelombang maksimum (λ_{maks}) 600 nm. Metode Fuwa dianggap sebagai salah satu yang paling spesifik dalam mengukur aktivitas enzim amilase karena waktu reaksi yang relatif singkat, yaitu hanya 10 menit inkubasi, serta penggunaan pati sebagai substrat reaksi. Kelebihan berupa kesederhanaan prosedur, kecepatan, dan

biaya yang relatif rendah, serta kemampuannya untuk mendeteksi perubahan warna akibat pengikatan iodin pada pati yang terhidrolisis. Namun, metode ini memiliki kekurangan, antara lain ketergantungan pada kondisi reaksi yang tepat, seperti pH dan suhu, yang dapat memengaruhi hasil, serta keterbatasan dalam akurasi dan kuantifikasi karena perubahan warna yang dihasilkan tidak selalu linier dengan jumlah pati yang terhidrolisis. Selain itu, gangguan dari komponen lain dalam sampel juga dapat memengaruhi keakuratan pengukuran (Fuwa, 1954).

c) Metode Nelson-Somogyi (NS)

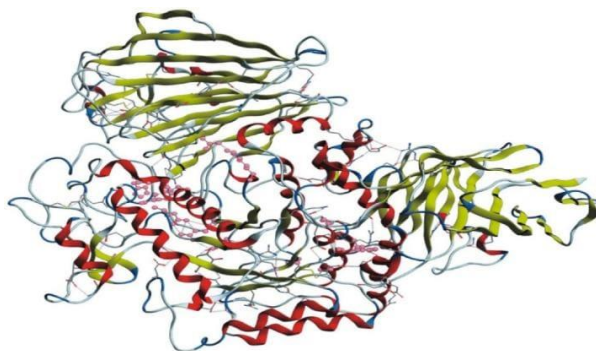
Metode uji ini dilakukan dengan mereaksikan enzim dan substrat alami dalam buffer fosfat pH 6, 0,1 M, yang kemudian diinkubasi pada suhu 70 °C selama 15 menit. Setelah inkubasi, larutan glukosa induk dan pereaksi Nelson ditambahkan, dan campuran diinkubasi lebih lanjut pada suhu 100 °C selama 20 menit. Setelah inkubasi, larutan didiamkan pada suhu ruang selama 20 menit, kemudian ditambahkan arsen molibdat dan diencerkan dengan akuades sebelum disentrifugasi. Supernatan yang dihasilkan kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang 540 nm, dengan perlakuan yang sama dilakukan pada blanko dan standar (t_0 NS), tetapi tanpa inkubasi. Kelebihan dari metode ini terletak pada kesederhanaan prosedur dan waktu inkubasi yang relatif singkat, serta kemampuannya untuk mengukur aktivitas enzim dengan akurat melalui perubahan absorbansi yang dihasilkan. Selain itu, metode ini memungkinkan deteksi yang sensitif terhadap perubahan konsentrasi produk yang dihasilkan, yakni glukosa. Namun, metode ini juga memiliki kekurangan, antara lain penggunaan suhu yang tinggi (70 °C dan 100 °C) yang

dapat menyebabkan ketidakaturan dalam reaksi jika tidak terkontrol dengan baik. Selain itu, metode ini memerlukan sejumlah reagen kimia spesifik yang berpotensi mahal, serta tahap penyentrifugasian yang dapat mempengaruhi keakuratan pengukuran jika tidak dilakukan dengan tepat (Pratiwi *et al.*, 2018).

2.7.3. Enzim α -Glukosidase

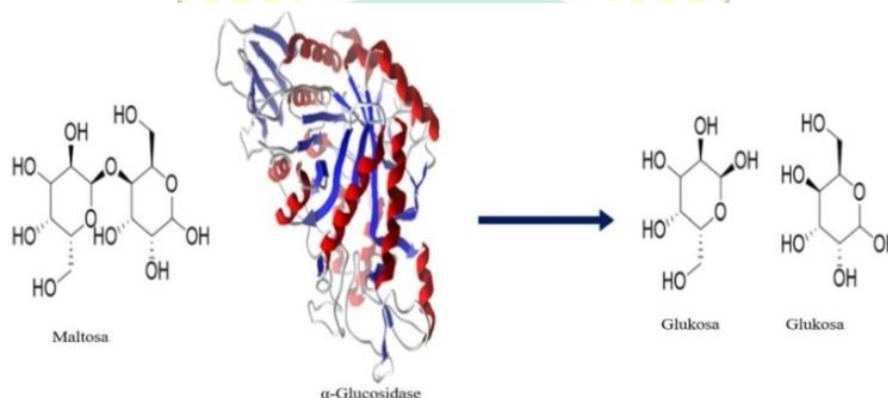
α -glukosidase (EC 3.2.1.20) adalah enzim yang berfungsi memecah ikatan glikosida alfa 1-4 pada karbohidrat, menghasilkan glukosa di usus halus (Simamora *et al.*, 2019). Enzim pencernaan α -glukosidase memiliki peran yang signifikan dalam proses pencernaan karbohidrat sekaligus berkontribusi dalam biosintesis glikoprotein. Beberapa jenis α -glukosidase tidak hanya mampu menghidrolisis oligosakarida dan senyawa α -glikosida sintetik dengan ikatan α -glikosidik, tetapi juga dapat menguraikan α -glukan, seperti glikogen dan pati yang larut dalam air (Rahman *et al.*, 2019).

α -glukosidase merupakan enzim yang berperan dalam mengkatalisis pemutusan ikatan glikosidik pada oligosakarida, dengan aktivitas yang sangat spesifik bergantung pada jumlah, posisi, atau konfigurasi gugus hidroksil dalam molekul gula. Aktivitas enzim ini memiliki peran penting dalam berbagai proses biokimia, termasuk degradasi polisakarida menjadi monosakarida, yang kemudian dapat diserap dan dimanfaatkan oleh organisme. Pada penderita diabetes, kondisi hiperglikemia, yaitu kadar gula darah yang melebihi batas normal, dapat diatasi dengan menghambat kerja enzim α -glukosidase, sehingga jumlah monosakarida yang diserap oleh usus berkurang (Febrinda *et al.*, 2013).



Gambar 12. Struktur α -glukosidase yang dimodelkan 3D.
Sumber : (Rahman *et al.*, 2019)

Menurut Murray *et al.*, (2003), enzim α -glukosidase berperan dalam pemecahan disakarida, seperti maltosa, isomaltosa, dan fruktosa, menjadi monosakarida berupa glukosa. Proses ini berkontribusi pada peningkatan kadar glukosa dalam darah.



Gambar 13. Mekanisme α -Glucosidase Memecah Disakarida
Sumber : (Murray *et al.*, 2003)

2.7.4. Metode Pengujian Aktivitas Inhibitor Enzim α -Glukosidase

a) Metode saheli *et al.*

Uji aktivitas penghambatan enzim α -glukosidase dilakukan berdasarkan metode Salehi *et al.* (2013) absorbansi diukur menggunakan microplate reader pada panjang gelombang 405 nm, dengan pengujian dilakukan tiga kali untuk meningkatkan akurasi. Kelebihan metode ini adalah sensitivitasnya yang tinggi dalam mendeteksi aktivitas penghambatan enzim melalui perubahan

absorbansi serta kemampuannya untuk menguji banyak sampel secara bersamaan, namun kekurangannya meliputi kebutuhan bahan kimia spesifik dan mahal, seperti p-nitrophenyl- α -D-glukopiranosida dan DMSO, serta peralatan khusus seperti microplate reader, yang tidak selalu tersedia di semua laboratorium (Saranani *et al.*, 2023).

b) Metode sancheti *et al.*

Pengujian aktivitas penghambatan enzim α -glukosidase dilakukan dengan modifikasi metode Sancheti *et al.* (2009), menggunakan microwell 96-well yang berisi 50 μ L buffer fosfat 0,1 M pH 7,0, 25 μ L substrat p-NPG 0,5 mM, 10 μ L larutan sampel, dan 25 μ L larutan enzim, diinkubasi pada suhu 37 °C selama 30 menit, kemudian dihentikan dengan penambahan 100 μ L larutan Na₂CO₃ 0,2 M. Absorbansi diukur pada panjang gelombang 410 nm. Metode ini efektif mengukur aktivitas penghambatan enzim melalui nilai IC₅₀, namun memerlukan bahan dan peralatan khusus yang dapat membatasi penggunaannya di laboratorium dengan fasilitas terbatas (Akhmad *et al.*, 2022).

c) Metode Maryam *et al.*

Aktivitas penghambatan diuji menggunakan alat ELISA (*Enzyme-Linked Immunosorbant Assay*) reader yang diukur pada panjang gelombang 405 nm dengan pembanding akarbosa. ELISA reader memiliki kelebihan yaitu dalam teknik pengerjaan yang relatif cepat, sensitivitas tinggi, serta hasil yang lebih akurat walaupun larutan uji yang digunakan dalam jumlah sangat kecil (Maryam *et al.*, 2023).

2.8. Antioksidan

2.8.1. Pengertian Antioksidan

Antioksidan merupakan senyawa kimia yang secara alami terdapat dalam tubuh manusia dan berfungsi untuk mendonorkan atom hidrogen kepada radikal bebas, sehingga menghentikan reaksi berantai dan mengubah radikal bebas menjadi bentuk yang lebih stabil. Berdasarkan sumbernya, antioksidan dapat dibedakan menjadi dua kategori, yaitu antioksidan alami dan antioksidan sintetis, yang keduanya berperan dalam mengatasi pembentukan radikal bebas (Anugrah *et al.*, 2021).

Antioksidan alami adalah senyawa yang secara alami terdapat dalam tubuh manusia dan berfungsi sebagai bagian dari mekanisme pertahanan tubuh yang normal. Contoh antioksidan alami yang ada di dalam tubuh antara lain Superoxide Dismutase, Glutathione Peroxidase, dan Catalase. Selain itu, antioksidan alami juga dapat diperoleh dari asupan luar tubuh, seperti alfa tokoferol (vitamin E), asam askorbat (vitamin C), glutathione, dan ubiquinon (Anugrah *et al.*, 2021).

Antioksidan sintetis adalah senyawa antioksidan yang dihasilkan melalui proses sintesis kimia. Contoh senyawa ini meliputi Butyl Hydroxy Anisole (BHA), Butyl Hydroxy Toluene (BHT), Tert-Butyl Hydroquinone (TBHQ), dan Propyl Gallate. Mekanisme kerja antioksidan mencakup beberapa proses, seperti menangkap radikal bebas, menghambat inisiasi rantai reaksi, mencegah dekomposisi peroksida, menghambat kelanjutan abstraksi hidrogen, meningkatkan daya reduksi, dan mengikat katalis ion logam transisi (Anugrah *et al.*, 2021).

2.8.2. Radikal Bebas

Radikal bebas adalah senyawa asing yang masuk ke dalam tubuh dan berpotensi merusak sistem imunitas. Menurut Amin *et al.* (2013), radikal bebas dapat dihasilkan melalui berbagai proses kimia kompleks dalam tubuh, serta dipicu oleh polusi lingkungan, paparan radiasi, zat-zat kimia beracun, konsumsi makanan cepat saji, dan makanan yang digoreng pada suhu tinggi. Jika jumlah radikal bebas berlebihan, hal ini dapat menyebabkan efek patologis dengan menyerang komponen tubuh yang rentan, seperti lipid dan protein, yang kemudian berkontribusi pada munculnya berbagai penyakit degeneratif. Oleh karena itu, pembentukan radikal bebas perlu dicegah atau diminimalkan dengan penggunaan antioksidan.

Radikal bebas merujuk pada kelompok senyawa yang sangat reaktif akibat keberadaan elektron tidak berpasangan pada orbital terluarnya. Senyawa ini mencakup *reactive oxygen species* (ROS), seperti radikal hidroksil ($-OH$), anion superoksida (O_2^-), dan hidrogen peroksida (H_2O_2), serta *reactive nitrogen species* (RNS) yang meliputi nitrit oksida (NO) dan peroksinitrit ($ONOO^-$) (Puertollano *et al.*, 2011).

Radikal bebas dapat dihasilkan melalui aktivitas metabolisme seluler maupun sebagai mekanisme sistem kekebalan tubuh untuk melawan patogen. Sebagai contoh, O_2^- berperan penting dalam eliminasi mikroorganisme intraseluler oleh fagosit aktif. Semua kelas utama biomolekul rentan terhadap kerusakan yang diakibatkan oleh radikal bebas, termasuk pemutusan untai DNA yang berpotensi menyebabkan kesalahan dalam proses perbaikan dan berujung pada pembentukan sel tumor.

Selain itu, lipid rantai panjang, terutama asam lemak tak jenuh ganda dengan ikatan rangkap, lebih rentan terhadap serangan radikal bebas, yang dapat memicu kerusakan oksidatif lipid atau peroksidasi lipid. Peroksidasi lipid merupakan salah satu konsekuensi utama dari stres oksidatif, di mana ROS bereaksi dengan ikatan rangkap lipid tak jenuh ganda, menghasilkan peroksida lipid yang tidak stabil dan berpotensi menyebabkan kematian sel (Carrera-Quintanar *et al.*, 2020).

Stres oksidatif didefinisikan sebagai kerusakan oksidatif yang terjadi akibat ketidakseimbangan antara radikal bebas dan antioksidan dalam tubuh. Pada tubuh yang sehat, rasio antara prooksidan dan antioksidan terjaga dengan baik. Namun, setiap pergeseran rasio yang lebih condong ke arah prooksidan dapat memicu stres oksidatif. Tingkat keparahan stres oksidatif dapat bervariasi dari ringan hingga berat, bergantung pada derajat ketidakseimbangannya. Kondisi ini menjadi faktor penyebab berbagai penyakit, termasuk gangguan kardiovaskular, neurologis, ginjal, diabetes, hipertensi, penyakit kulit, gangguan pernapasan, gangguan hati, penyakit jantung, alzheimer, tumor ganas, peradangan, parkinson, penuaan, dan berbagai jenis infeksi virus (Khadim and Al-Fartusie, 2021).

Menurut Fadlilah dan Lestari (2023), kondisi masyarakat saat ini menunjukkan tren yang mengkhawatirkan, ditandai dengan memburuknya kondisi lingkungan serta perubahan pola konsumsi pangan. Perubahan ini meliputi pergeseran dari pola konsumsi pangan tradisional yang kaya akan pati (karbohidrat kompleks) dan serat, menuju pola konsumsi modern yang tinggi kandungan protein, lemak, gula, dan garam, namun rendah serat. Pergeseran tersebut berkontribusi pada meningkatnya proses oksidasi dalam tubuh, yang pada akhirnya memicu berbagai penyakit degeneratif. Penyakit-penyakit tersebut

meliputi kegemukan dan obesitas, penyakit jantung koroner, hipertensi, diabetes mellitus, hingga kanker, dengan jumlah penderitanya yang terus meningkat.

2.8.3. Metode Pengujian Aktivitas Antioksidan

Metode pengujian aktivitas antioksidan pada tumbuhan dan makanan umumnya dapat dilakukan menggunakan berbagai metode, seperti *2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl* (DPPH) yang berbasis reaksi radikal bebas, *Ferric Reducing Antioxidant Power* (FRAP) yang melibatkan mekanisme reduksi-oksidasi, kapasitas antioksidan pereduksi ion tembaga (CUPRAC), *Oxygen Radical Absorbance Capacity* (ORACFL), *cellular antioxidant activity* (CAA), dan *2,2-azinobis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid* (ABTS). Beragam metode ini menghasilkan data yang bervariasi, yang disebabkan oleh perbedaan struktur kimia senyawa antioksidan, jenis radikal bebas yang digunakan, serta sifat fisikokimia dari sampel yang diuji. Oleh karena itu, sangat penting untuk memilih metode yang paling sesuai dan selektif dalam menganalisis aktivitas antioksidan, terutama untuk jenis sampel tertentu (Maesaroh *et al.*, 2018).

Berdasarkan hasil tinjauan oleh Nugraheni *et al.*, (2024), metode DPPH menjadi salah satu metode yang paling sering digunakan. Hal ini disebabkan oleh proses pengukuran yang cepat, sederhana, serta biaya yang relatif terjangkau untuk menilai aktivitas antioksidan. Prinsip metode DPPH didasarkan pada reaksi radikal DPPH dengan atom hidrogen yang disumbangkan oleh senyawa antioksidan. Proses ini menghasilkan bentuk DPPH yang tereduksi dan bersifat non-radikal. Metode DPPH banyak diaplikasikan di berbagai bidang, termasuk dalam analisis kosmetik untuk mengatasi radikal bebas yang terbentuk di lapisan kulit, serta dalam pengujian aktivitas antioksidan pada tanaman. Pada bidang

terakhir, metode ini digunakan untuk mengukur radikal bebas dan menilai keberadaan aktivitas antioksidan dalam ekstrak tanaman.

a) Metode 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH)

Metode DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) bekerja melalui dua mekanisme reaksi, yaitu donor atom hidrogen dan donor elektron. Pada mekanisme donor atom hidrogen, DPPH yang bersifat radikal akan memperoleh pasangan elektron dengan cara mengambil atom hidrogen dari senyawa antioksidan. Kelebihan dari metode DPPH adalah proses pengukurannya yang relatif cepat, sederhana, dan ekonomis. Namun, salah satu kelemahannya adalah DPPH hanya dapat larut dalam pelarut organik (Liaudanskas *et al.*, 2014).

b) Metode Cupric Reducing Antioxidant Capacity (CUPRAC)

Metode CUPRAC (Cupric Reducing Antioxidant Capacity) digunakan untuk mengukur kapasitas reduksi antioksidan dengan menggunakan reagen CuCl_2 , neokuproin, dan buffer ammonium asetat pada pH fisiologis. Pengukuran dilakukan dengan menyiapkan larutan $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, buffer ammonium asetat, dan neokuproin pada konsentrasi tertentu, kemudian absorbansinya diukur pada panjang gelombang 400-800 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis setelah inkubasi selama 30 menit. Kelebihan metode ini termasuk kestabilan reagen, reaksi yang cepat, serta kemampuan untuk mengukur antioksidan hidrofilik dan lipofilik pada pH fisiologis. Namun, kekurangannya adalah suhu rendah dapat mempengaruhi akurasi hasil pengujian (Nugraheni *et al.*, 2024).

c) Metode *Ferric Reducing Antioxidant Power* (FRAP)

Metode FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*) digunakan untuk mengukur kapasitas reduksi antioksidan dengan mereaksikan larutan natrium asetat trihidrat, besi klorida ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), dan TPTZ (2,4,6-*tris*(2-pyridyl)-1,3,5-triazine). Larutan FRAP dibuat dengan mencampurkan 25 mL larutan natrium asetat trihidrat, 2,5 mL larutan FeCl_3 20 mM, dan 2,5 mL larutan TPTZ 10 mM, lalu menambahkan air suling hingga mencapai volume 100 mL. Reagen FRAP dicampur dengan larutan sampel atau standar dalam rasio 1:1, kemudian absorbansinya diukur menggunakan microplate reader pada panjang gelombang 593 nm.

Kelebihan metode ini adalah prosedurnya yang sederhana, cepat, tidak memerlukan alat khusus, dan pereaksinya mudah disiapkan. Namun, kelemahannya meliputi ketidakstabilan reagen yang memerlukan pembuatan baru setiap kali pengujian dan kurangnya spesifisitas terhadap senyawa antioksidan tertentu (Nugraheni *et al.*, 2024).

d) Metode *Oxygen Radical Absorbance Capacity* (ORACFL)

Metode ORAC-FL (*Oxygen Radical Absorbance Capacity with Fluorescence*) digunakan untuk menentukan kapasitas antioksidan dengan memanfaatkan fluoresensi. Pengujian dilakukan menggunakan pembaca pelat 96-sumur dengan reaksi yang berlangsung dalam buffer fosfat 75 mM (pH 7,4). Sampel dihomogenkan, kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C selama 5 menit dengan 150 μL larutan fluorescein (40 nM, konsentrasi akhir). Pengukuran fluoresensi dilakukan pada panjang gelombang eksitasi 485 nm dan emisi 528 nm menggunakan pembaca pelat dengan suhu konstan 37 °C,

dengan kurva kalibrasi pada rentang konsentrasi 3-20 μM . Kelebihan metode ini adalah kemampuannya mengukur total aktivitas antioksidan, baik untuk senyawa lipofilik maupun hidrofilik. Namun, kelemahannya adalah sensitivitas tinggi terhadap suhu, di mana suhu rendah dapat mengurangi reproduktifitas hasil pengujian (Nugraheni *et al.*, 2024).

e) Metode 2,2-azinobis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic Acid (ABTS)

Metode ABTS (2,2-azinobis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)) didasarkan pada prinsip penghilangan warna kation ABTS akibat interaksi langsung antara senyawa antioksidan dengan radikal kation ABTS. ABTS merupakan radikal berbasis nitrogen yang memiliki karakteristik warna biru-hijau. Ketika direduksi oleh senyawa antioksidan, warna tersebut akan memudar karena radikal berubah menjadi bentuk non-radikal. Metode ini sangat sensitif terhadap cahaya, dan pembentukan radikal ABTS memerlukan waktu inkubasi sekitar 12-16 jam (Setiawan *et al.*, 2018).

f) CAA

Metode diklorofluoresin (DCFH) merupakan salah satu metode uji Cellular Antioxidant Activity (CAA) yang sering digunakan untuk mengukur kapasitas antioksidan dalam mencegah oksidasi senyawa DCFH, di mana senyawa ini mudah teroksidasi di dalam sel dan menghasilkan diklorofluorescein (DCF) yang bersifat fluoresen. Oksidasi ini dipicu oleh radikal peroksil yang dihasilkan oleh senyawa ABAP pada sel hepatokarsinoma manusia (HepG2), dengan fluoresensi DCF diukur pada panjang gelombang eksitasi 485 nm dan emisi 538 nm. Penurunan intensitas fluoresensi mencerminkan kapasitas antioksidan suatu senyawa bioaktif.

Metode ini telah diaplikasikan pada berbagai jenis sel, seperti sel darah merah manusia, sel endotel EA.hy926, sel kanker usus besar Caco-2, dan sel makrofag manusia (U937) maupun tikus (RAW264.7).

Selain itu, teknologi berbasis chip mikrofluida telah dikembangkan untuk mendukung pengujian kapasitas antioksidan dengan mengintegrasikan 288 ruang mikro untuk kultur sel dan 48 saluran paralel independen, memungkinkan delapan kelompok sampel dengan enam konsentrasi berbeda diuji secara bersamaan menggunakan pembaca multimode. Metode DCFH memiliki kelebihan, seperti memberikan hasil kuantitatif pada tingkat seluler, penerapan pada berbagai jenis sel, dan efisiensi pengujian melalui teknologi chip, namun terdapat pula kekurangan, seperti kebutuhan alat khusus yang mahal, prosedur yang kompleks, dan pengaruh variabilitas jenis sel serta kondisi eksperimental terhadap validitas hasil (LIU, 2007).

