

**UJI AKTIVITAS PENGHAMBATAN ENZIM ALFA GLUKOSIDASE
EKSTRAK ETANOL BATANG BROTOWALI (*Tinospora crispa* (L.) Miers ex
Hook. F. & Thoms.)**

SKRIPSI

Diajukan Untuk Memenuhi Salah Satu Syarat
Memperoleh Gelar Sarjana Farmasi (S.Farm.)
Program Studi Farmasi



Oleh :

Vinsensius Rubin Ferreri Arismarjianto

NIM : 168114025

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SANATA DHARMA
YOGYAKARTA**

2021

**UJI AKTIVITAS PENGHAMBATAN ENZIM ALFA GLUKOSIDASE
EKSTRAK ETANOL BATANG BROTOWALI (*Tinospora crispa* (L.) Miers ex
Hook. F. & Thoms.)**

SKRIPSI

Diajukan Untuk Memenuhi Salah Satu Syarat
Memperoleh Gelar Sarjana Farmasi (S.Farm.)
Program Studi Farmasi



Oleh :

Vinsensius Rubin Ferreri Arismarjianto

NIM : 168114025

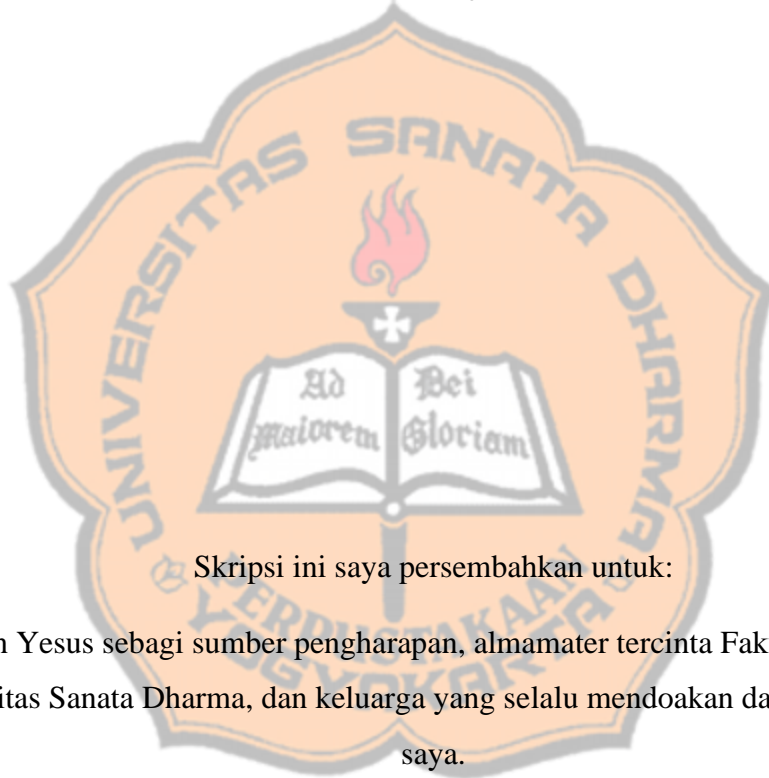
**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SANATA DHARMA
YOGYAKARTA**

2021

HALAMAN PERSEMBAHAN

*“We’re going to make it happen. As God is my bloody witness, I’m hell –
bent on making it work”*

- Elon Musk -



Skripsi ini saya persembahkan untuk:

Tuhan Yesus sebagai sumber pengharapan, almamater tercinta Fakultas Farmasi
Unisversitas Sanata Dharma, dan keluarga yang selalu mendoakan dan menyemangati
saya.

PRAKATA

Puji syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Kuasa, karena atas berkat dan penyertaan-Nya penulis dapat merampungkan skripsi yang berjudul “Uji Penghambatan Aktivitas Enzim Alfa Glukosidase Ekstrak Etanol Batang Brotowali (*Tinospora crispa* (L.) Miers ex Hook. F. & Thoms)” sebagai syarat untuk mendapatkan gelar sarjana farmasi (S.Farm) di Universitas Sanata Dharma Yogyakarta. Penulis menyadari bahwa selama proses penyelesaian skripsi ini tidak terlepas dari dukungan berbagai pihak, baik langsung ataupun tidak langsung. Oleh karena itu, penulis ingin menyampaikan ungkapan terimakasih kepada:

1. Ibu Dr. apt. Yustina Sri Hartini, M.Si. selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma dan dosen penguji yang telah memberikan saran serta bantuan dalam penulisan skripsi ini.
2. Ibu Dr. apt. Christine Patramurti, selaku Ketua Program Studi Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma.
3. Bapak Prof. Dr. L. Hatanto Nugroho, M.Agr., selaku dosen pembimbing skripsi yang telah membimbing dan memberikan masukan dalam penulisan skripsi ini.
4. Bapak apt. Maywan Hariono, Ph.D., selaku dosen penguji yang telah memberikan masukan dan saran yang membangun dalam penulisan skripsi ini.
5. Ibu Damiana Sapta Candrasari, S.Si, M.Sc., selaku Kepala Laboratorium Fakultas Farmasi yang telah memberikan izin dalam penggunaan fasilitas laboratorium untuk kepentingan penelitian skripsi.
6. Ibu Dr. apt. Dewi Setyaningsih, selaku Dosen Pembimbing Akademik, yang telah memberikan nasehat dari awal proses perkuliahan hingga akhir.
7. Pak Wagiran, Pak Kayat, dan Mas Bimo selaku laboran dan karyawan yang telah membantu dalam pelaksanaan penelitian skripsi.
8. Segenap Dosen dan Karyawan Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma yang telah membantu dan memberikan dukungan selama perkuliahan.

9. Keluarga tercinta, alm. Bapak, Ibu, mas Rio dan mba Rosi yang selalu mendoakan dan mendukung penulis hingga saat ini.
10. Anak-anak kelompok “After Corona” dan “Pejuang Skripsi Kaks” yang menjadi tempatnya untuk tertawa dan berdiskusi dalam proses penelitian ini.
11. Anak-anak Le Cocq d’Armanville dari Angkatan 27 yang selalu solid dan mendukung penulis selama berkuliah di Jogja.
12. Teman-teman Angkatan 2016 dan FSMA yang saling mendukung selama perkuliahan.
13. Teman-teman Menwa IGNATIAN yang telah berdinamika bersama selama 4 tahun dan semua pengalaman-pengalaman baru sekali seumur hidup yang tidak akan terlupakan.
14. Teman-teman kosan Banana21 yang selalu mau berbagi makanan dan fasilitas yang dimiliki saat penulis lapar mengerjakan skripsi.
15. Sahabat-sahabat sewaktu penulis bersekolah, Oxfas, Ferdi, dan Beni yang selalu memberi semangat dan dukungan saat jenuh mengerjakan skripsi.
16. Seluruh pihak yang terlibat dalam penyusunan skripsi ini yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

Penulis menyadari bahwa naskah penelitian ini masih jauh dari kata sempurna dan masih memiliki banyak kekurangan. Penulis sangat mengharapkan kritik dan saran yang dapat membangun agar naskah ini lebih baik lagi. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi pihak yang membutuhkan, terutama dalam perkembangan ilmu pengetahuan khususnya di bidang kefarmasian.

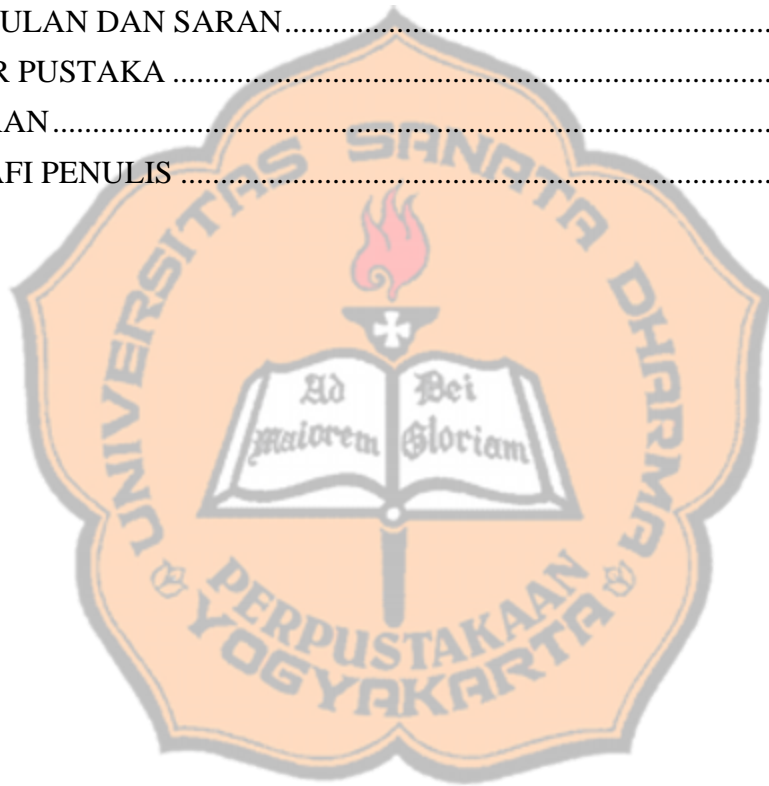
Yogyakarta, 25 November 2020

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PERSETUJUAN PEMBIMBING	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN KARYA	iv
HALAMAN PERSEMBAHAN	v
HALAMAN PUBLIKASI	vi
PRAKATA.....	vii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
ABSTRAK.....	xiv
<i>ABSTRACT</i>	xv
PENDAHULUAN	1
METODE PENELITIAN.....	2
Alat dan Bahan	2
Identifikasi Serbuk Batang Brotowali	3
Pembuatan Ekstrak Etanol Batang Brotowali.....	3
Uji Kualitatif Batang Brotowali.....	3
Uji Efek Penghambatan Enzim Alfa Glukosidase.....	4
Pembuatan Buffer Fosfat pH 7,0	4
Pembuatan Larutan Enzim Alfa Glukosidase.....	4
Pembuatan Larutan Substrat Maltosa 2% w/v.....	4
Pembuatan Larutan Standar Acarbose.....	4
Pembuatan Larutan Sampel Ekstrak Etanol Batang Brotowali	5
Penentuan Panjang Gelombang Maksimum.....	5
Penentuan Waktu Inkubasi Optimal	5
Pengujian Blanko.....	6
Pengujian Kontrol Blanko	6
Pengujian Sampel dan Standar	6

Pengujian Kontrol Sampel dan Kontrol Standar	7
Perhitungan Nilai IC ₅₀	7
Analisis Data.....	8
HASIL DAN PEMBAHASAN.....	8
Penyiapan Bahan	8
Uji Kualitatif dengan Kromatografi Lapis Tipis	9
Uji Aktivitas Penghambatan Enzim Alfa Glukosidase.....	11
KESIMPULAN DAN SARAN.....	16
DAFTAR PUSTAKA	17
LAMPIRAN.....	20
BIOGRAFI PENULIS	31



DAFTAR TABEL

Tabel 1. Presentase Rata-Rata Penghambatan Enzim Alfa Glukosidase 14

Tabel 2. Nilai IC₅₀ Ekstrak Batang Brotowali dan Acarbose 15

Tabel 3. Data Rendemen Sampel Ekstrak 23

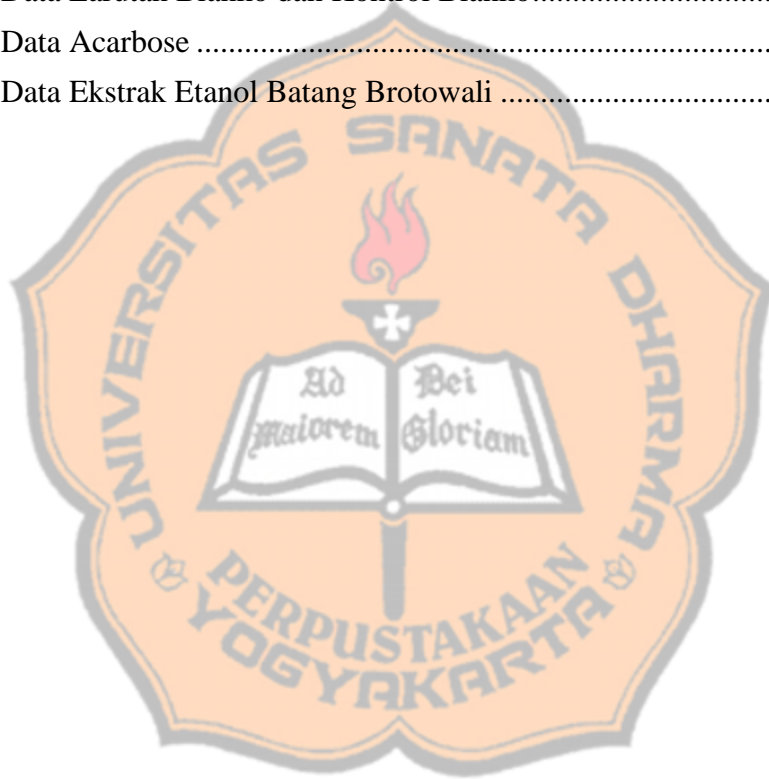
Tabel 4. Hasil Uji KLT..... 24

Tabel 5. Data Optimasi Inkubasi 25

Tabel 6. Data Larutan Blanko dan Kontrol Blanko..... 26

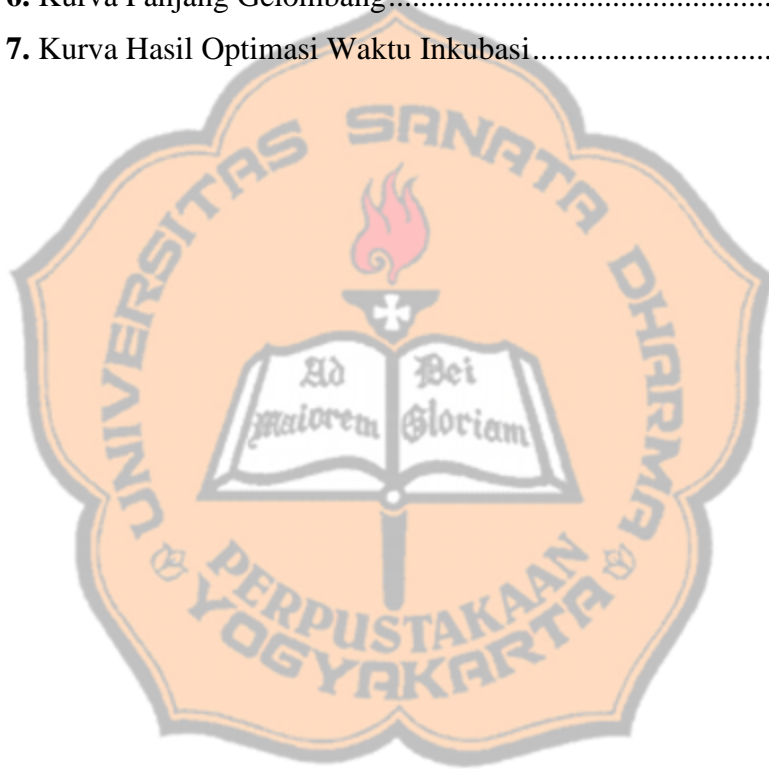
Tabel 7. Data Acarbose 26

Tabel 8. Data Ekstrak Etanol Batang Brotowali 27



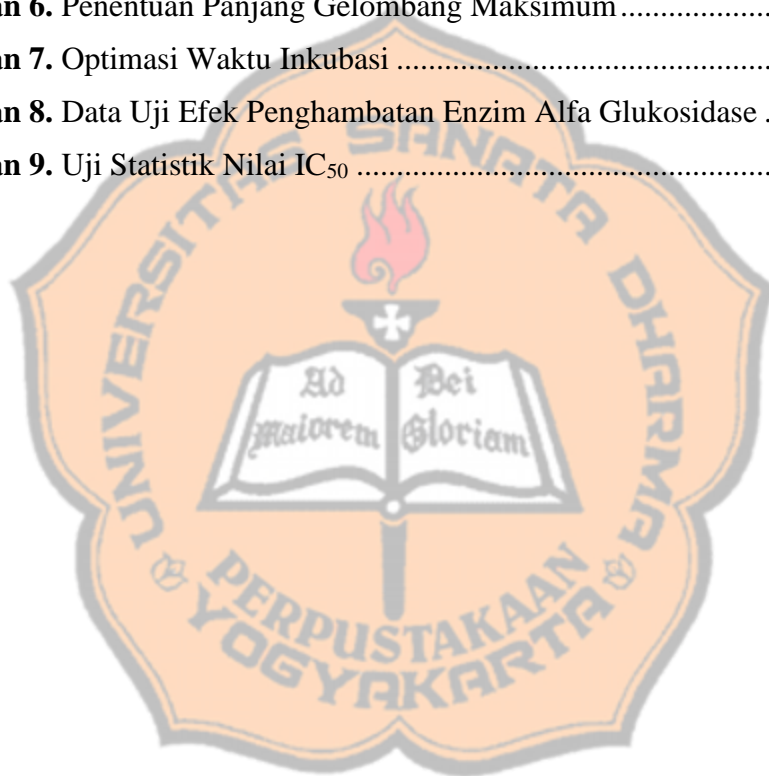
DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Hasil Elusi KLT di Bawah Sinar UV (a) 254 nm dan (b) 366 nm	10
Gambar 2. Reaksi Reduksi 3,5-dinitrosalisic acid (DNS).....	12
Gambar 3. Presentase Inhibisi Ekstrak dan Acarbose	14
Gambar 4. Serbuk Simplisia Batang Brotowali	22
Gambar 5. Ekstrak Etanol Batang Brotowali	22
Gambar 6. Kurva Panjang Gelombang.....	24
Gambar 7. Kurva Hasil Optimasi Waktu Inkubasi.....	25



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Surat Determinasi Serbuk Simplisia Batang Brotowali.....	20
Lampiran 2. <i>Certificate of Analysis 3,5-dinitrosalysilic Acid</i>	21
Lampiran 3. Serbuk Simplisia dan Ekstrak Etanol Batang Brotowali	22
Lampiran 4. Rendemen Hasil Ekstraksi Simplisia Batang Brotowali.....	23
Lampiran 5. Data Perhitungan Nilai Rf.....	23
Lampiran 6. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum.....	24
Lampiran 7. Optimasi Waktu Inkubasi	25
Lampiran 8. Data Uji Efek Penghambatan Enzim Alfa Glukosidase	26
Lampiran 9. Uji Statistik Nilai IC ₅₀	29



ABSTRAK

Diabetes melitus merupakan penyakit kronis dan prevalensinya yang terus meningkat secara global. Diabetes melitus sering ditandai dengan meningkatnya kadar gula darah dalam tubuh. Salah satu pendekatan untuk menurunkan kadar gula darah dalam tubuh adalah dengan menghambat enzim alfa glukosidase yang terlibat dalam pencernaan karbohidrat. Namun, sebagian besar obat antidiabetes memiliki beberapa efek samping. Tanaman brotowali diketahui memiliki berbagai senyawa bioaktif dan potensi sebagai agen antidiabetes. Penelitian ini bertujuan mengevaluasi aktivitas penghambatan enzim alfa glukosidase ekstrak tanaman brotowali dengan metode kolorimetri dan 3,5-dinitro salysilic acid (DNS) sebagai reagenya. Ekstrak dari batang brotowali disiapkan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Aktivitas penghambatan enzim alfa glukosidase diukur dengan spektrofotometri UV-Vis menggunakan acarbose sebagai kontrol positif. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol batang brotowali (nilai IC_{50} 1.291 ± 0.001 mg/mL) memiliki potensi aktivitas penghambatan alfa glukosidase namun tidak sebaik acarbose (nilai IC_{50} 0.452 ± 0.005 mg/mL). Nilai IC_{50} ekstrak etanol batang brotowali dan acarbose dianalisis dengan uji Shapiro-Wilk dilanjutkan uji T tidak berpasangan. Berdasarkan hasil uji T tidak berpasangan diketahui bahwa terdapat perbedaan nilai IC_{50} antara ekstrak etanol batang brotowali dan acarbose yang signifikan ($p < 0,05$).

Kata kunci: batang brotowali, alfa glukosidase, acarbose, IC_{50} , diabetes melitus

ABSTRACT

Diabetes mellitus is a chronic disease and its prevalence is tremendously increasing globally. Diabetes mellitus is often characterized by increase blood sugar levels in the body. One approach to lowering blood sugar levels in the body is to inhibit the enzyme alpha glucosidase, which is involved in the digestion of carbohydrates. However, most antidiabetic drugs have some side effects. Brotowali is known by its various bioactive compounds and potency as an antidiabetic agent. This study aims to evaluate the inhibitory activity the alpha glucosidase enzyme of brotowali extract using colorimetric method and 3,5-dinitro salysilic acid (DNS) as the reagent. The extract from the brotowali stem was prepared by maceration method using 96% ethanol as solvent. The inhibitory activity of alpha glucosidase enzyme was measured by UV-Vis spectrophotometry using acarbose as a positive control. The results showed that the ethanol extract of brotowali stem (IC_{50} value 1.291 ± 0.001 mg/mL) had the potential to inhibit alpha glucosidase activity but was not as good as acarbose (IC_{50} value 0.452 ± 0.005 mg/mL). The IC_{50} value of the ethanol extract of brotowali stem and acarbose were analyzed by using the Shapiro-Wilk test followed by an unpaired T test. Based on the results of the unpaired T test, it is known that there is a significant difference in the IC_{50} value between extract brotowali and acarbose ($p < 0.05$).

Key words: brotowali stem, alpha glucosidase, acarbose, IC_{50} , diabetes melitus.

PENDAHULUAN

Diabetes melitus adalah penyakit yang disebabkan oleh gangguan metabolisme yang ditandai dengan hiperglikemia. Diabetes melitus telah menyebabkan kekhawatiran yang meluas di seluruh dunia karena tingkat keparahan dan angka kejadian yang tinggi. Hiperglikemia pada penderita diabetes dalam jangka waktu yang lama dapat menyebabkan sejumlah komplikasi seperti ulkus kaki, retinopati, nefropati dan sebagainya. Dari data yang dikutip dari *International Diabetes Federation (IDF)*, prevalensi diabetes telah meningkat dengan cepat dan diperkirakan ada sekitar 415 juta orang penderita diabetes melitus di seluruh dunia. Jumlah penderita diabetes tersebut diperkirakan akan meningkat hingga 700 juta orang pada tahun 2045. Selain itu, angka kejadian diabetes melitus semakin meningkat pada usia yang lebih muda termasuk beberapa anak yang obesitas dan remaja. Diabetes melitus tipe 2 merupakan jenis utama yang paling banyak terjadi pada 90% kasus diabetes melitus yang disebabkan resistensi insulin atau disfungsi sel β pankreas (International Diabetes Federation, 2019).

Alfa glukosidase sebagai enzim hidrolisis karbohidrat berperan penting dalam mengubah oligosakarida dan disakarida menjadi glukosa yang dapat diserap oleh usus halus sehingga menyebabkan peningkatan kadar glukosa darah. Oleh karena itu, enzim alfa glukosidase dijadikan sebagai target utama dalam pencegahan dan pengobatan diabetes melitus tipe 2. Alfa glukosidase inhibitor dapat berperan penting dalam pengendalian tingkat glukosa darah postprandial penderita diabetes dan menjaga kadar glukosa darah tetap normal dengan menunda pencernaan karbohidrat dan mengurangi penyerapan glukosa (Hamid et al., 2015). Hingga saat ini, terdapat banyak inhibitor alfa glukosidase yang digunakan secara klinis untuk pengobatan diabetes, seperti acarbose, miglitol, nojirimycin, voglibose, dan sebagainya. Meskipun secara klinis obat-obat tersebut terbukti efektif, namun terdapat beberapa efek samping yang sering terjadi seperti sakit perut, diare dan perut kembung (Gondokesumo et al., 2017).

Produk alami yang berasal dari tumbuhan dikenal memiliki peran ganda yaitu sebagai agen pencegahan dan terapi. Indonesia memiliki ragam tanaman obat

tradisional yang secara turun temurun telah digunakan dalam berbagai pengobatan. Beberapa tanaman telah ditetapkan ke dalam Formularium Ramuan Obat Tradisional Indonesia (FROTI) sebagai tanaman yang bermanfaat bagi kesehatan. Salah satunya adalah tanaman brotowali (*Tinospora crispa*) yang telah terdaftar sebagai salah satu agen terapi diabetes melitus (Kemenkes Republik Indonesia, 2017). Dalam beberapa penelitian sebelumnya, tanaman brotowali adalah sumber yang kaya akan metabolit sekunder yang terbagi menjadi beberapa kelompok, termasuk alkaloid, flavonoid, terpenoid, sterol dan sebagainya. Penelitian yang dilakukan Noor dan Aschroft menunjukkan bahwa ekstrak brotowali yang diberikan secara oral memberikan efek antidiabetik dengan merangsang sekresi insulin melalui modulasi Ca^{2+} sel beta (Ahmad et al., 2016).

Tujuan penelitian ini adalah mengevaluasi efek antidiabetes dari tanaman brotowali pada aktivitas penghambatan enzim alfa glukosidase. Bagian tanaman yang digunakan adalah batang brotowali. Batang brotowali dipilih karena kandungannya yang tinggi dengan berbagai senyawa kimia yang mungkin diduga memiliki kemampuan untuk menghambat alfa glukosidase (Ahmad et al., 2016). Sumber enzim alfa glukosidase yang akan digunakan berasal dari *Saccharomyces cerevisiae* dan serbuk maltosa sebagai substratnya.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan adalah spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu) dan kuvet, timbangan analitik, *shaker*, evaporator, penangas air, *hot plate*, *vortex*, mortir dan stamper, mikropipet (Socorex), inkubator, seperangkat kromatografi lapis tipis (KLT), lampu UV (Cagma), corong pisah, dan seperangkat alat-alat gelas. Bahan-bahan yang digunakan adalah serbuk simplisia batang brotowali yang diperoleh dari PT. HRL Internasional di Jawa Timur, enzim alfa glukosidase (Sigma Aldrich), larutan pembanding kuersetin, maltosa, tablet acarbose 50 mg yang diproduksi PT. Dexa

Medica Indonesia, 3,5-dinitrosalicylic acid (DNS), dimetil sulfoksida (DMSO), aquades, kalium dihidrogen fosfat (KH_2PO_4), dan natrium hidroksida (NaOH).

Identifikasi Serbuk Batang Brotowali

Identifikasi serbuk batang brotowali dilakukan oleh Laboratorium Departemen Biologi Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.

Pembuatan Ekstrak Etanol Batang Brotowali

Pembuatan ekstrak etanol batang brotowali dilakukan dengan cara maserasi. Serbuk batang brotowali ditimbang 10 g, lalu diekstraksi dengan 100 mL etanol 96% dengan cara maserasi pada *shaker* selama 6 jam dan didiamkan selama 18 jam. Ekstrak kemudian disaring dan residunya diekstraksi lagi dengan pelarut yang sama dan disaring. Maserasi yang dilakukan adalah sebanyak tiga kali. Filtrat yang disaring kemudian dijadikan satu lalu dipekatkan menggunakan evaporator dan penangas air.

Uji Kualitatif Batang Brotowali

Uji kandungan fitokimia batang brotowali dilakukan untuk standarisasi dengan menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Fase gerak yang digunakan adalah kloroform-metanol (9:1) dimasukkan ke dalam bejana hingga tingginya 1 cm dari dasar bejana. Bejana dijenuhkan dengan membiarkannya selama 30 menit dalam keadaan tertutup. Fase diam yang digunakan adalah lempeng KLT silika gel GF₂₅₄ dengan ukuran panjang 15 cm dan lebar 5 cm, kemudian lempeng dipanaskan terlebih dahulu dalam oven pada suhu 100 °C selama 10 menit. Ekstrak etanol batang brotowali kemudian ditimbang sebanyak 10 mg dan dilarutkan dengan 1 mL etanol 96%. Larutan uji dan larutan pembanding kuersetin ditotolkan dengan volume 10 µL dan 5 µL dengan jarak tepi 2 cm dari tepi bawah lempeng dan dibiarkan mengering. Pada jarak rambat diberi tanda untuk menentukan tempat penotolan dan jarak rambat. Kemudian lempeng dimasukan ke dalam bejana, lalu bejana ditutup dan biarkan fase gerak merambat hingga batas jarak rambat. Kemudian lempeng dikeluarkan dan dikeringkan

lalu diamati bercak yang muncul dengan sinar UV 254 nm (gelombang pendek) dan 366 nm (gelombang panjang). Diukur dan dicatat jarak tiap bercak dari titik penotolan, kemudian dihitung nilai Rf.

Uji Efek Penghambatan Enzim Alfa Glukosidase

Pengujian efek penghambatan enzim alfa glukosidase dilakukan pada ekstrak etanol batang brotowali. Prosedur penelitian merujuk pada (Desmiaty et al., 2014; NCBE, 2014; Pandithurai et al., 2015; Papriani et al., 2019) dengan beberapa modifikasi.

Pembuatan Buffer Fosfat pH 7,0

Kalium dihidrogen fosfat (KH_2PO_4) sebanyak 6,805 g dilarutkan dalam 250 mL aquades kemudian ditambahkan dengan larutan NaOH 0,2 N sebanyak 100 mL kemudian diencerkan hingga 1000 mL. Buffer dihitung pHnya dan ditambahkan beberapa tetes NaOH hingga diperoleh pH 7,0.

Pembuatan Larutan Enzim Alfa Glukosidase

Pembuatan larutan enzim alfa glukosidase 0,1 IU/mL dilakukan dengan mengambil 0,1 g enzim alfa glukosidase kemudian dilarutkan dengan menggunakan 10 mL buffer fosfat pH 7,0.

Pembuatan Larutan Substrat Maltosa 2% w/v

Maltosa ditimbang sebanyak 200 mg dan dilarutkan dalam 10 mL buffer fosfat pH 7,0.

Pembuatan Larutan Standar Acarbose

Standar acarbose ditimbang sebanyak 500 mg dan dilarutkan dalam 5 mL dimetil sulfoksida sehingga diperoleh konsentrasi induk 100 mg/mL. Larutan seri standar acarbose dibuat dengan mengencerkan larutan induk hingga diperoleh standar acarbose dengan konsentrasi 1; 3; 5; 7; dan 9 mg/mL

Pembuatan Larutan Sampel Ekstrak Etanol Batang Brotowali

Sampel ekstrak ditimbang sebanyak 500 mg dan dilarutkan dalam 5 mL dimetil sulfoksida sehingga diperoleh konsentrasi induk 100 mg/mL. Larutan seri sampel ekstrak dibuat dengan mengencerkan larutan induk hingga diperoleh seri ekstrak dengan konsentrasi 1; 3; 5; 7; dan 9 mg/mL.

Penentuan Panjang Gelombang

Larutan dimetil sulfoksida sebanyak 100 μ L dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan 400 μ L dapar fosfat pH 7,0 dan 250 μ L larutan substrat maltosa. Kemudian dilakukan pra inkubasi pada suhu 37 °C selama 5 menit. Larutan yang telah dipra inkubasi, lalu ditambahkan 250 μ L larutan enzim lalu dihomogenkan. Selanjutnya larutan diinkubasi selama 10 menit pada suhu 37 °C. Kemudian larutan diambil sebanyak 0,3 mL dan ditambahkan 0,3 ml reagen DNS ke dalam tabung reaksi. Larutan dihomogenkan dan dipanaskan dalam air mendidih selama 5 menit. Larutan dicampurkan dengan menambahkan 3 mL aquades.

Penentuan Waktu Inkubasi Optimal

Larutan dimetil sulfoksida sebanyak 100 μ L dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan 400 μ L dapar fosfat pH 7,0 dan 250 μ L larutan substrat maltose. Kemudian dilakukan pra inkubasi pada suhu 37 °C selama 5 menit. larutan yang telah dipra inkubasi, lalu ditambahkan 250 μ L larutan enzim lalu dihomogenkan. Selanjutnya larutan diinkubasi selama 10; 20; 30; 40; dan 50 menit pada suhu 37 °C untuk menentukan waktu optimum enzim. Kemudian larutan diambil sebanyak 0,3 mL dan ditambahkan 0,3 ml reagen DNS ke dalam tabung reaksi. Larutan dihomogenkan dan dipanaskan dalam air mendidih selama 5 menit. Larutan dicampurkan dengan menambahkan 3 mL aquades. Pengujian dilakukan sebanyak tiga kali.

Pengujian Blanko

Larutan dimetil sulfoksida sebanyak 100 μL dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan 400 μL dapar fosfat pH 7,0 dan 250 μL larutan substrat maltosa. Kemudian dilakukan prainkubasi pada suhu 37 $^{\circ}\text{C}$ selama 5 menit. Larutan yang telah diprainskubasi, lalu ditambahkan 250 μL larutan enzim lalu dihomogenkan. Selanjutnya larutan diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37 $^{\circ}\text{C}$. Kemudian larutan diambil sebanyak 0,3 mL dan ditambahkan 0,3 ml reagen DNS ke dalam tabung reaksi. Larutan dihomogenkan dan dipanaskan dalam air mendidih selama 5 menit. Larutan dicampurkan dengan menambahkan 3 mL aquades. Pengujian dilakukan sebanyak tiga kali.

Pengujian Kontrol Blanko

Larutan dimetil sulfoksida sebanyak 100 μL dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan 400 μL dapar fosfat pH 7,0 dan 250 μL larutan substrat maltosa. Kemudian dilakukan prainkubasi pada suhu 37 $^{\circ}\text{C}$ selama 5 menit. Larutan yang telah diprainskubasi, lalu ditambahkan 250 μL larutan buffer fosfat pH 7,0 lalu dihomogenkan. Selanjutnya larutan diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37 $^{\circ}\text{C}$. Kemudian larutan diambil sebanyak 0,3 mL dan ditambahkan 0,3 ml reagen DNS ke dalam tabung reaksi. Larutan dihomogenkan dan dipanaskan dalam air mendidih selama 5 menit. Larutan dicampurkan dengan menambahkan 3 mL aquades. Pengujian dilakukan sebanyak tiga kali.

Pengujian Sampel dan Standar

Larutan ekstrak dan standar sebanyak 100 μL dari masing-masing seri larutan uji ditambahkan 400 μL buffer fosfat dan 250 μL larutan substrat maltosa ke dalam tabung reaksi kemudian dilakukan prainkubasi pada suhu 37 $^{\circ}\text{C}$ selama 5 menit. Setelah selesai prainkubasi, ditambahkan dengan 250 μL larutan enzim lalu dihomogenkan. Selanjutnya larutan diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37 $^{\circ}\text{C}$. kemudian larutan diambil sebanyak 0,3 mL dan ditambahkan 0,3 ml reagen DNS ke

dalam tabung reaksi. Larutan dihomogenkan dan dipanaskan dalam air mendidih selama 5 menit. Larutan dicampurkan dengan menambahkan 3 mL aquades sehingga diperoleh konsentrasi berturut-turut yaitu 0.28; 0.65; 1.09; 1.52; dan 1.96 mg/mL. Pengujian dilakukan sebanyak tiga kali.

Pengujian Kontrol Sampel dan Kontrol Standar

Larutan ekstrak dan standar sebanyak 100 μ L dari masing-masing seri larutan uji ditambahkan 400 μ L buffer fosfat dan 250 μ L larutan substrat maltosa ke dalam tabung reaksi kemudian dilakukan pra inkubasi pada suhu 37 $^{\circ}$ C selama 5 menit. setelah selesai pra inkubasi, ditambahkan dengan 250 μ L larutan buffer fosfat pH 7,0 lalu dihomogenkan. Selanjutnya larutan diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37 $^{\circ}$ C. kemudian larutan diambil sebanyak 0,3 mL dan ditambahkan 0,3 ml reagen DNS ke dalam tabung reaksi. Larutan dihomogenkan dan dipanaskan dalam air mendidih selama 5 menit. Larutan dicampurkan dengan menambahkan 3 mL aquades sehingga diperoleh konsentrasi berturut-turut yaitu 0.28; 0.65; 1.09; 1.52; dan 1.96 mg/mL. Pengujian dilakukan sebanyak tiga kali.

Perhitungan Nilai IC₅₀

Perhitungan %inhibisi alfa glukosidase dapat dihitung dengan menggunakan rumus:

$$\% \text{inhibisi} = \frac{C-S}{C} \times 100\%$$

Keterangan:

C : absorbansi blanko (blanko – kontrol blanko)

S : absorbansi larutan uji (sampel – kontrol sampel)

Nilai IC₅₀ dihitung menggunakan rumus persamaan regresi linear untuk menentukan $y = a + bx$. Aktivitas inhibisi dinyatakan dengan *inhibition concentration* 50% (IC₅₀) yaitu konsentrasi sampel yang dapat menghambat kerja enzim alfa glukosidase sebanyak 50%. Nilai IC₅₀ diperoleh dari nilai x setelah mengganti y = 50.

Analisis Data

Data yang diperoleh dari pengukuran aktivitas penghambatan enzim alfa glukosidase berupa IC_{50} dianalisis dengan uji t tidak berpasangan, karena pengujian yang dilakukan menggunakan dua kelompok sampel yang berbeda. Uji t pada nilai IC_{50} sampel dilakukan untuk mengetahui perbedaan aktivitas penghambatan enzim alfa glukosidase antara ekstrak etanol batang brotowali dan acarbose dengan taraf kepercayaan 95% dan $p < 0,05$. Sebelum dilakukan uji t terlebih dahulu dilakukan uji Shapiro-Wilk untuk mengetahui apakah data yang diperoleh terdistribusi dengan normal ($p > 0,05$). Analisa data dilakukan dengan menggunakan software SPSS *statistic* 25 (Dahlan, 2016).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penyiapan Bahan

Pada penelitian ini, serbuk simplisia yang digunakan adalah bagian batang dari tanaman brotowali yang diperoleh dari PT. HRL International Kabupaten Gresik, Jawa Timur. Sebelum dilakukan pengujian aktivitas penghambatan enzim alfa glukosidase maka perlu dilakukan determinasi untuk mengetahui kebenaran identitas tanaman yang akan digunakan pada penelitian ini. Determinasi ini merujuk pada penelitian sebelumnya yang telah dilakukan oleh (Fila, 2020). Hasil determinasi menunjukkan bahwa simplisia yang akan digunakan berasal dari tanaman brotowali (*Tinospora crispa* (L.) Miers ex Hook. F. & Thoms.)

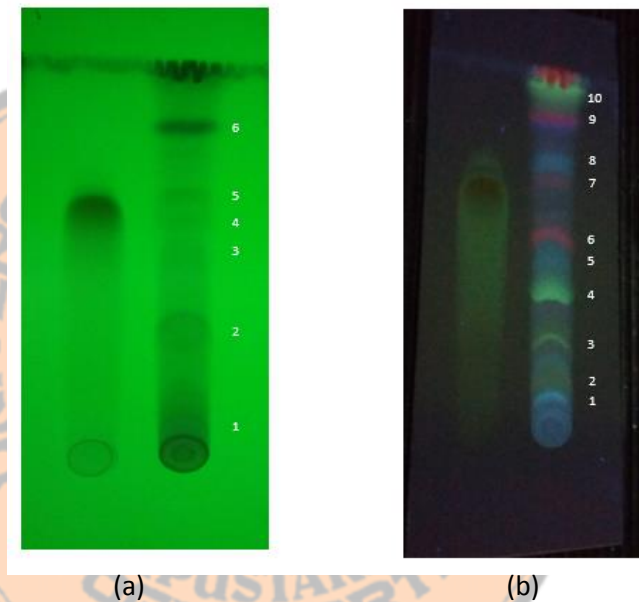
Pada penelitian ini, metode ekstraksi yang digunakan yaitu metode maserasi dengan perbandingan pelarut (1:10). Ekstraksi serbuk simplisia dengan cara dingin bertujuan untuk menghindari rusaknya senyawa-senyawa yang tidak tahan terhadap pemanasan. Senyawa yang dituju adalah metabolit sekunder dari hasil proses biosintesis tumbuhan dan digunakan untuk benteng pertahanan tumbuhan dari pengaruh buruk lingkungan atau serangan hama penyakit dan untuk kelangsungan

hidup tumbuhan. Oleh karena itu, adanya pengaruh stres dari lingkungan pada tanaman sangat efektif untuk mendapatkan hasil metabolit sekunder ekstrak. Proses maserasi dilakukan selama 3x24 jam dimana maserat ditampung tiap hari dan pelarut diganti. Serbuk simplisia 10 g direndam dengan 100 mL etanol 96%. Perendaman dilakukan selama 24 jam sambil terus diaduk untuk menjaga adanya perbedaan konsentrasi antara larutan di dalam sel dengan larutan di luar sel. Kemudian maserat yang diperoleh disaring. Ampas hasil saringan tadi direndam kembali ke dalam etanol 96% selama 24 jam berikutnya. Proses remaserasi ini dilakukan sebanyak dua kali. Penggantian pelarut dalam hal ini bertujuan untuk memaksimalkan proses ekstraksi. Filtrat yang diperoleh kemudian dipekatkan hingga mendapatkan ekstrak kental. Dari ekstraksi 10 g simplisia batang brotowali dengan etanol 96% menghasilkan rata-rata ekstrak 0.584 g dengan persentase rendemen 5.842%. Besar kecilnya nilai rendemen menunjukkan keefektifan proses ekstraksi. Semakin tinggi nilai rendemen yang dihasilkan menandakan ekstrak yang dihasilkan semakin banyak. Rendemen suatu ekstrak dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor salah satunya adalah ukuran partikel. Semakin kecil ukuran partikel sampel maka kontak permukaan antara sampel dan solven semakin besar sehingga penetrasi pelarut ke dalam sel dan difusi zat terlarut meningkat. Ukuran partikel lebih kecil dari 0,5 mm sangat ideal untuk ekstraksi yang efisien (Azwanida, 2015).

Uji Kualitatif dengan Kromatografi Lapis Tipis

Tujuan dari uji ini adalah untuk memenuhi salah satu parameter mutu ekstrak secara kimia yaitu kandungan metabolit sekunder yang terdapat pada ekstrak. Baku pembanding yang digunakan dalam uji ini mengacu pada Farmakope Herbal Indonesia yaitu kuersetin (Kementrian Kesehatan Republik Indonesia, 2013). Pengujian dilakukan pada ekstrak yang telah ditotolkan pada fase diam yaitu lempeng silika gel GF₂₅₄. Sementara fase gerak yang digunakan pada uji ini adalah kloroform:metanol (9:1). Hasil positif adanya kuersetin pada ekstrak terlihat terdapatnya bercak kuning setelah diamati pada panjang gelombang 254 dan 366 di bawah sinar tampak. Hasil uji kromatografi ekstrak etanol batang brotowali dan kuersetin dapat dilihat pada lampiran

5. Pada pengamatan UV dengan panjang gelombang 366, KLT memberikan 10 bercak noda sebagai komponen senyawa ekstrak batang brotowali dan 6 bercak noda pada panjang gelombang 254 nm dengan nilai Rfnya masing-masing. Berdasarkan hasil KLT yang diperoleh, elusi yang teramati mendapatkan nilai Rf ekstrak etanol batang brotowali yaitu 0.69 dan nilai Rf kuersetin standar 0.68. Berdasarkan hasil KLT tersebut dapat diketahui bahwa batang brotowali mengandung kuersetin dan senyawa lainnya.



Gambar 1. Hasil elusi KLT di bawah sinar UV (a) 254 nm dan (b) 366 nm

Pada penelitian ini, senyawa marker yang dituju adalah borapetoside C dari golongan diterpene glikosida. Tetapi pemisahan senyawa aktif dengan kromatografi lapis tipis tidak dapat menghasilkan senyawa murni karena masih terdapat senyawa pencemar atau senyawa lain yang tidak diinginkan. Diterpene seperti borapetoside A-G dan borapetol A-C, telah diisolasi dari tanaman brotowali (Lam et al., 2012). Borapetoside pada batang brotowali berhasil diekstraksi menggunakan metanol dan dipartisi dengan eter, 1-butanol dan air. Fraksi butanol menjadi target dan kromatografi kolom RP-18 dan HPLC preparatif untuk memperoleh senyawa murni. Senyawa 1 dan

2 diidentifikasi sebagai borapetoside C dan F berdasarkan spektra NMR dan sifat fisik yang sesuai dengan diterpene glikosida (Martin et al., 1995).

Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Penentuan panjang gelombang dilakukan untuk menentukan penyerapan maksimum terjadi dimana produk glukosa pereduksi terbanyak dihasilkan yang menandakan besarnya aktivitas enzim alfa glukosidase. Penentuan panjang gelombang dilakukan pada rentang 400 – 800 nm (lampiran 7). Gambar menunjukkan puncak spektra berada pada panjang gelombang 530,5 nm dan 547 nm dengan absorbansi masing-masing 0,492 dan 0,278. Pada penelitian ini dipilih panjang gelombang 547 nm karena mendekati panjang gelombang yang digunakan untuk mengukur glukosa pereduksi dengan reagen DNS yaitu 540 (NCBE, 2014).

Penentuan Waktu Inkubasi

Penentuan waktu inkubasi dilakukan untuk mengetahui waktu yang dibutuhkan untuk berlangsungnya reaksi enzimatik secara sempurna. Waktu inkubasi dilakukan pada menit ke-10 hingga 50 (lampiran 8). Gambar menunjukkan bahwa terjadi peningkatan absorbansi pada menit ke-10 hingga 30 dan kemudian tidak mengalami perubahan secara signifikan dari menit ke-30 hingga 50, artinya reaksi enzimatik berlangsung hampir sempurna pada waktu 30 menit. Sehingga, dipilih waktu inkubasi 30 menit dalam uji aktivitas penghambatan enzim alfa glukosidase.

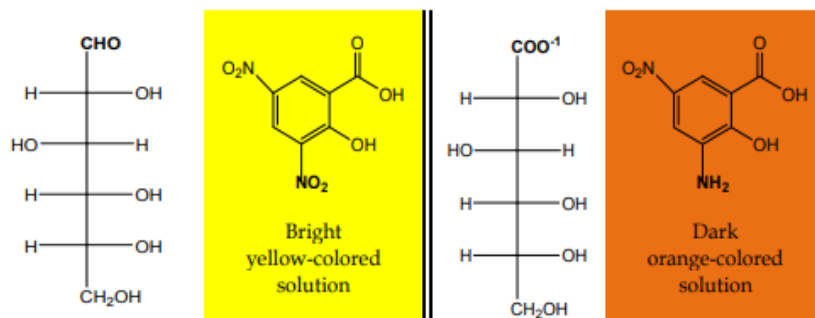
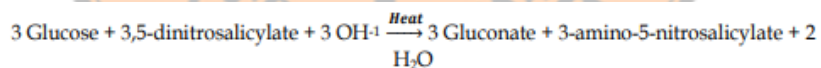
Uji Aktivitas Penghambatan Enzim Alfa Glukosidase

Aktivitas penghambatan enzim alfa glukosidase dapat diukur melalui jumlah gula pereduksi yang dihasilkan oleh hidrolisis enzim alfa glukosidase terhadap maltosa. Pereaksi yang digunakan dalam penelitian ini yaitu reagen 3,5-dinitrosalicylic acid (DNS). Pereaksi ini dapat bereaksi dengan gula pereduksi yang terbentuk dan menghasilkan kompleks warna yang dapat diukur dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum. Adanya aktivitas

penghambatan enzim alfa glukosidase dapat diamati oleh perbedaan nilai absorbansi yang dihasilkan (Timerman, 2012). Uji ini dilakukan untuk mengetahui potensi dari sampel uji dalam menghambat enzim alfa glukosidase.

Pengujian inhibitor enzim alfa glukosidase secara *in vitro* ini didasarkan pada penurunan jumlah gula pereduksi hasil reaksi hidrolisis maltosa terlarut oleh alfa glukosidase dengan adanya senyawa inhibitor. Maltosa yang terlarut akan dihidrolisis oleh enzim alfa glukosidase menjadi dua gula pereduksi yang lebih pendek karena adanya pemutusan ikatan α -D-(1,4) glikosidik. Glukosa yang terbentuk inilah yang dapat ditranpor dari lumen usus ke dalam aliran darah (Yang et al., 2019).

Penghentian reaksi hidrolisis alfa glukosidase dapat dilakukan melalui pemanasan. Pemanasan dapat menyebabkan perubahan konfigurasi dari enzim alfa glukosidase, sehingga akan menghentikan aktivitasnya. Setelah reaksi dihentikan, produk dari reaksi hidrolisis kemudian ditentukan menggunakan reagen pewarna DNS. Reagen tersebut akan direduksi oleh gula reduksi yang terdapat di dalam larutan. Dapat dilihat pada gambar 2, senyawa 3,5-dinitrosalisilat yang awalnya berwarna kuning cerah berubah menjadi senyawa asam 3-amino-5-nitrosalisilat yang berwarna orange gelap (Timerman, 2012).



Gambar 2. Reaksi reduksi 3,5-dinitrosalisicylic acid (DNS) (Timerman, 2012)

Sampel ekstrak batang brotowali berfungsi sebagai inhibitor enzim, yang mempengaruhi ikatan enzim dan substrat sehingga ikatan antara enzim dan substrat

menjadi sedikit. Hal tersebut menyebabkan glukosa yang terbentuk menjadi lebih sedikit sehingga nilai absorbansi menjadi kecil. Preparasi larutan ekstrak dibuat dengan beberapa varian konsentrasi yang dilarutkan menggunakan pelarut dimetil sulfoksida (DMSO). DMSO dikenal sebagai pelarut organik yang banyak digunakan untuk melarutkan zat organik terlarut seperti karbohidrat, polimer, dan peptida karena memiliki konstanta dielektrik yang tinggi dan karakter dipolar. Tergantung pada konsentrasinya, DMSO mampu menstabilkan protein, yaitu meningkatkan suhu denaturasi protein seperti lipase dan amilase. Dengan demikian, sifat hidrofilik DMSO sepertinya dapat berperan penting. Tetapi DMSO juga dapat bertindak sebagai denaturant, misalnya untuk lisozim putih telur ayam. DMSO juga diketahui sebagai inhibitor, aktivator atau pendamping molekuler untuk beberapa enzimatik reaksi dan dapat mempengaruhi reaksi yang terjadi (Ostermeier et al., 2020). Pada penelitian (Lankatillake et al., 2021), uji pendahuluan enzim alfa glukosidase menegaskan bahwa DMSO 2% tidak berpengaruh signifikan pada aktivitas alfa glukosidase usus tikus. Tetapi pada penelitian ini konsentrasi DMSO yang digunakan lebih dari 2% sehingga memungkinkan adanya pengaruh pada reaksi enzimatik yang terjadi.

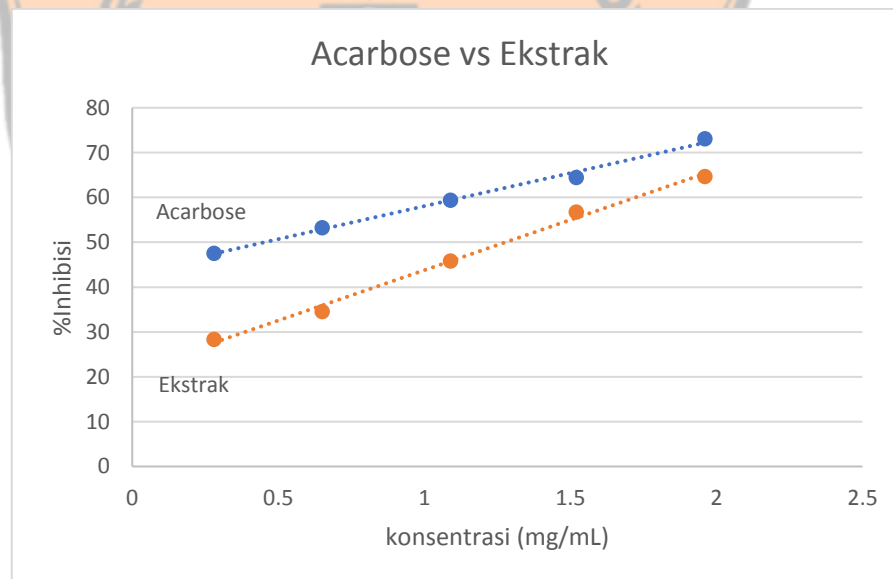
Pengujian sampel ekstrak etanol batang brotowali dibagi menjadi lima konsentrasi yang berbeda yaitu 0.28; 0.65; 1.09; 1.52; dan 1.96 mg/mL. Pengujian dilakukan pada beberapa konsentrasi yang berbeda untuk melihat pengaruh penambahan konsentrasi pada peningkatan daya hambat enzim alfa glukosidase. Persentase penghambatan alfa glukosidase oleh ekstrak etanol batang brotowali ditunjukkan pada tabel 1 dan gambar 3, ekstrak menunjuk adanya daya hambat pada enzim alfa glukosidase. Persentase inhibisi pada konsentrasi 0.28; 0.65; 1.09; 1.52; dan 1.96 mg/mL dari ekstrak etanol batang brotowali menunjukkan penghambatan aktivitas yang meningkat seiring kenaikan konsentrasi. Nilai persentase inhibisi alfa glukosidase bervariasi yaitu 28.34% - 64.66% untuk konsentrasi terendah hingga konsentrasi tertinggi. Dengan demikian aktivitas penghambatan alfa glukosidase oleh ekstrak etanol batang brotowali akan menunda pemecahan karbohidrat, dimana penundaan

pemecahan karbohidrat tersebut akan menyebabkan penurunan penyerapan glukosa sehingga terjadi penurunan peningkatan kadar glukosa darah postprandial.

Tabel 1. Persentase rata-rata penghambatan enzim alfa glukosidase

Konsentrasi (mg/mL)	Aktivitas Inhibisi (%) \pm SD	
	Ekstrak	Acarbose
0.28	28.34 \pm 0.184	47.57 \pm 0.129
0.65	34.55 \pm 0.161	53.22 \pm 0.025
1.09	45.80 \pm 0.119	59.37 \pm 0.229
1.52	56.75 \pm 0.222	64.41 \pm 0.132
1.96	64.66 \pm 0.180	73.11 \pm 0.011

*pengukuran %inhibisi dilakukan tiga kali replikasi



Gambar 3. Persentase inhibisi ekstrak dan acarbose

Perbandingan nilai IC_{50} alfa glukosidase antara standar dan ekstrak ditunjukkan pada tabel 2. Pada penelitian ini, acarbose digunakan sebagai standar obat untuk inhibisi alfa glukosidase. Acarbose digunakan sebagai pembanding karena secara klinis terbukti mampu menghambat enzim alfa glukosidase. Acarbose pada konsentrasi 0.28;

0.65; 1.09; 1.52; dan 1.96 mg/mL menunjukkan aktivitas inhibisi dari 47.57 ± 0.13 hingga 73.11 ± 0.011 dengan nilai IC_{50} 0.452 ± 0.005 mg/mL. Penelitian (Bharathkumar et al. 2014) menunjukkan nilai IC_{50} sebesar 3.5 μ M pada penghambatan enzim alfa glukosidase. Terdapat perbedaan IC_{50} yang diperoleh, perbedaan ini disebabkan oleh bahan dan konsentrasi yang digunakan. Pada penelitian tersebut, acarbose yang digunakan merupakan acarbose murni yang berasal dari Glucobay Bayer AG (Germany) dan reagen warna yang digunakan adalah *glucose oxidase*. Sementara, penelitian ini menggunakan acarbose tablet 50 mg dan reagen warna 3,5-dinitro *salysilic acid*.

Tabel 2. Nilai IC_{50} ekstrak batang brotowali dan acarbose

Replikasi	Kelompok (mg/mL)	
	Ekstrak	Acarbose
1	1.292	0.452
2	1.291	0.458
3	1.290	0.447
IC_{50} rata-rata (mg/mL) \pm SD	1.291 ± 0.001	0.452 ± 0.005

Pada penelitian ini, ekstrak etanol batang brotowali menunjukkan nilai IC_{50} sebesar 1.291 ± 0.001 mg/mL. Jika dibandingkan nilai IC_{50} acarbose dan sampel ekstrak, menunjukkan bahwa ekstrak etanol batang brotowali mampu menghambat enzim alfa glukosidase namun tidak sebaik dengan acarbose. Aktivitas ekstrak batang brotowali sebagai inhibitor enzim alfa glukosidase dapat dipengaruhi oleh kandungan senyawa aktif di dalamnya. Di dalam acarbose terdapat satu senyawa aktif yang secara efektif dapat menghambat kerja enzim alfa glukosidase, sedangkan pada sampel ekstrak etanol batang brotowali masih mengandung beberapa senyawa aktif yang memungkinkan terjadinya reaksi kompetisi antara senyawa yang ada di dalam sampel ekstrak sehingga mempengaruhi daya hambat terhadap enzim alfa glukosidase.

Isolasi dan analisis struktur dari senyawa bioaktif dalam hal ini borapetoside C yang berperan sebagai inhibitor alfa glukosidase perlu dilakukan untuk mengetahui penghambatannya. Penelitian (Hamid et al., 2015) menunjukkan ekstrak brotowali mengandung komponen terpena glikosida, salah satu diantaranya adalah borapetoside C. Borapetoside C terdapat banyak pada batang brotowali dan memiliki daya inhibisi terhadap enzim alfa glukosidase dengan nilai IC_{50} sebesar 0.527 ± 0.008 mg/mL. Berdasarkan hasil uji T yang telah dilakukan, terdapat perbedaan nilai IC_{50} yang bermakna antara kelompok ekstrak etanol batang brotowali dan acarbose dalam penghambatan aktivitas enzim alfa glukosidase ($p < 0,05$).

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa sampel ekstrak etanol batang brotowali mempunyai aktivitas inhibisi alfa glukosidase (nilai IC_{50} 1.291 ± 0.001 mg/mL) namun tidak sebaik acarbose sebagai pembanding (nilai IC_{50} 0.452 ± 0.005 mg/mL). Berdasarkan hasil statistik uji T, nilai IC_{50} ekstrak etanol batang brotowali memiliki perbedaan aktivitas inhibisi alfa glukosidase yang signifikan dengan acarbose ($p < 0,05$).

SARAN

Perlu dilakukan identifikasi dan isolasi senyawa aktif sampel ekstrak etanol batang brotowali untuk menegaskan borapetoside C sebagai senyawa yang berpotensi dalam penghambat enzim alfa glukosidase serta menggunakan senyawa murni yang telah diidentifikasi dan diisolasi tersebut sebagai sampel dalam uji penghambatan enzim alfa glukosidase.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad, W., Jantan, I., Bukhari, Syed N. A., 2016. *Tinospora crispa* (L.) Hook. F. & Thomson: A Review of Its Ethnobotanical, Phytochemical, and Pharmacological Aspects. *Frontiers in Pharmacology*, 7(59), 1-19.
- Azwanida, N. N., 2015. A Review on The Extraction Methods Use in Medical Plants, Principle, Strength, and Limitation. *Medical & Aromatic Plants*. 4(3), 1-6.
- Bharathkumar, H., Sundaram, Mahalingam S., Jagadish, S., Paricharak, S., Hemshekhar, M., Mason, D., Kemparaju, K., Girish, Kesturu S., Basappa, Bender, A., Rangappa, Kanchugarakoppal S., 2014. Novel Benzoxazine-Based Aglycones Block Glucose Uptake In Vivo by Inhibiting Glycosides. *PLoS ONE* 9(7). 1-11.
- Desmiaty, Y., Tambunan, R. M., Kartiningsih, Pithaloka, L. D., 2014. Uji Aktivitas Penghambatan Enzim α -Glukosidase serta Uji Mutu Ekstrak Etanol Baang Brotowali (*Tinospora crispa* (L.) Miers). *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*. 12(2), 232-237.
- Dahlan, M. S., 2016. *Statistik untuk Kedokteran dan Kesehatan ed. 4 Dskriptif, Bivariat, dan Multivariat Dilengkapi Aplikasi dengan Mnggunakan SPSS*. Salmba Medika. Jakarta.
- Fila, D., 2020. *Uji Aktivitas Penghambatan Enzim Alfa Amilase Oleh Dekokta Batang Brotowali (Tinospora crispa L.) Hook. f. & Thomson secara In Vitro*. Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma.
- Gondokesumo, Marisca Evalina, Kusuma, Hanna Sari W., Widowati, W., 2017. α -/ β Glucosidase and α -Amylase Inhibitory Activities of Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) Ethanol Extract. *Molecular and Cellular Biomedical Sciences*, 1(1), 34-40.
- Hamid, H. A., Yusoff, M. M., Liu, M., Karim, M. R., 2015. α -Glucosidase and α -Amylase nhibitory Constituents of *Tinospora crispa*: Isolation and Chemical Profile Confirmation by Ultra-High Performance Liquid Chromatography-

- Quadrupole Time-of-Flight/Mass Spectrometry. *Journal of Functional Foods*. 16, 74-80.
- International Diabetes Federation, 2019. *IDF Diabetes Atlas 9th*. IDF. Brussels, Belgium.
- Kementrian Kesehatan Republik Indonesia, 2013. *Farmakope Herbal Indonesia ed. I*. Kementrian Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta.
- Kementrian Kesehatan Republik Indonesia, 2017. *Formularium Ramuan Obat Tradisional Indonesia*. Kementrian Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta.
- Lam, Sio-Hong, Ruan, Chi-Tun, Hsieh, Po-Hung, Su, Ming-Jai, Lee, Shoei-Sheng, 2012. Hypoglycemic Diterpenoids from *Tinospora crispa*. *Journal of Natural Products*. 75, 153-159.
- Lankatillake, C., Luo, S., Flavel, M., Lenon, George B., Gill, H., Hyunh, T., Dias, Daniel A., 2021. *Plant Methods*. 17:3, 1-19.
- Martin, Teresita S., Ohtani, K., Kasai, R., Yamasaki, K., 1995. Furanoid Diterpene Glucoside from *Tinospora rumphii*. *Phytochemistry*. 42:1, 153-158.
- NCBE, 2014. *DNSA Reagent Instruction for Preparation and Use*. United Kingdom. University of Reading.
- Ostermeier, L., Oliva, R., Winter, R., 2020. The Multifaceted Effects of DMSO and High Hydrostatic Pressure on the Kinetic Constants of Hydrolysis Reactions Catalyzed by α -Chymotrypsin. *Physical Chemistry Chemical Physics*. 1-15.
- Pandithurai, M., Murugesan, S., Bhuvaneswari, S., Thennarasan S., 2015. In vitro α -Amylase and α -Glucosidase Activity of Methanolic Extract of Marine Brown Alga *Spatoglossum asperum*. *International Journal of Advances in Pharmaceutics*. 4(5), 83-87.
- Papriani, N. P., Ahmad, A., Pamenta, A. F. A., Natsir, H., Karim, A., 2019. Purification and Characterization of α -Glucosidase Enzyme from Rice Groats. *Journal of Physics: Conference Series*. 1341.
- Timerman, A. P., 2012. *Protein Purification: The Isolation of Invertase from Baker's Yeast – An Introduction to Protein Purification Strategies*. InTech. USA.

Yang, Chiung-Ying, Yen, yea-Yin, Hung, Kuang-Cheen, Hsu, Shang-Wei, Lan, Shou-Jen, Lin, Hsin-Cheng, 2019. Inhibitory Effects of Pu-Erh Tea on Alpha Glucosidase and Alpha Amylase: A Systemic Review. *Nutrition and Diabts.* 9(230, 1-6.



BIOGRAFI PENULIS



Penulis dengan nama lengkap Vinsensius Rubin Ferreri Arismarjianto, lahir di Nabire pada tanggal 14 April 1999. Penulis merupakan anak terakhir dari tiga bersaudara, dari pasangan Bapak alm. Stephanus Rubiman dan Ibu Khristiana Marsiyah. Penulis menempuh pendidikan formal di TK. Nuri Manis (2002-2004), SD YPPK Santo Petrus (2004-2010), SMP YPPK Santo Antonius (2010-2013), SMA Kolese Le Cocq d'Armanville (2013-2016) dan melanjutkan kuliah di Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma Yogyakarta pada tahun 2016. Semasa kuliah, penulis aktif dalam UKM Resimen Mahasiswa Ignatian USD (2016), UKF Futsal (2016), kepanitiaan JMKI Osteoporosis Day (2016), kepanitiaan Pemilihan Gubernur BEMF dan DPMF Farmasi USD (2016), dan menjuarai lomba poster (2019).

