

**UJI AKTIVITAS EKSTRAK n-HEKSANA BIJI KELOR
(*Moringa oleifera*) SEBAGAI AGEN ANTIDIABETES
MELALUI PENGHAMBATAN ENZIM α -AMILASE
SECARA *IN VITRO* DAN *IN SILICO***

AULIA KARIMAH

H031 19 1047



**DEPARTEMEN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2023**

**UJI AKTIVITAS EKSTRAK n-HEKSANA BIJI KELOR
(*Moringa oleifera*) SEBAGAI AGEN ANTIDIABETES
MELALUI PENGHAMBATAN ENZIM α -AMILASE
SECARA *IN VITRO* DAN *IN SILICO***

*Hasil Penelitian ini diajukan sebagai salah satu syarat
untuk memperoleh gelar sarjana sains*

Oleh :

AULIA KARIMAH

H031 19 1047



MAKASSAR

2023

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

**UJI AKTIVITAS EKSTRAK n-HEKSANA BIJI KELOR
(*Moringa oleifera*) SEBAGAI AGEN ANTIDIABETES
MELALUI PENGHAMBATAN ENZIM α -AMILASE
SECARA *IN VITRO* DAN *IN SILICO***

Disusun dan diajukan oleh:

**AULIA KARIMAH
H031 19 1047**

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka Penyelesaian Studi Program Sarjana Program Studi Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin pada tanggal **24 Juli 2023** dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui

Pembimbing Utama



Prof. Dr. Hasnah Natsir, M. Si
NIP. 19620320 198711 2 001

Pembimbing Pertama



Dr. Rugaiyah A. Arfah, M.Si
NIP. 19611231 198702 2 002

Ketua Program Studi



Dr. St. Fauziah, M.Si
NIP. 19710202 199903 2 002

PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Aulia Karimah
NIM : H031191047
Program Studi : Kimia
Jenjang : S1

Menyatakan dengan ini bahwa Skripsi dengan judul “Uji Aktivitas Ekstrak n-Heksana Biji Kelor (*Moringa oleifera*) sebagai Agen Antidiabetes Melalui Penghambatan Enzim α -Amilase secara *In Vitro* dan *In Silico*” adalah benar karya saya sendiri dan tidak melanggar hak cipta pihak lain. Apabila di kemudian hari Skripsi saya ini terbukti bahwa sebagian atau keseluruhannya adalah hasil karya orang lain yang saya pergunakan dengan cara melanggar hak cipta pihak lain, maka saya bersedia menerima sanksi.

Makassar, 24 Juli 2023

Yang Menyatakan



Aulia Karimah

PRAKATA

Alhamdulillah segala puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Allah *Subhaanahu wa Ta'ala* atas segala limpahan rahmat dan hidayah-Nya, tak lupa juga kepada junjungan kita Nabi Muhammad *Shallallahu 'alaihi wa sallam* yang telah menjadi suri tauladan bagi umat manusia sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“Uji Aktivitas Ekstrak n-Heksana Biji Kelor (*Moringa oleifera*) sebagai Agen Antidiabetes Melalui Penghambatan Enzim α -Amilase Secara *In Vitro* dan *In Silico*”** dengan baik sebagai salah satu syarat untuk mendapatkan gelar Sarjana Sains Departemen Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin. Beragam kendala dan tantangan yang dialami penulis, namun berkat do'a, bantuan, motivasi, dan dukungan dari berbagai pihak hingga akhirnya skripsi ini dapat diselesaikan.

Penulis mengucapkan terima kasih dan penghargaan yang tulus kepada Ibu **Prof. Dr. Hasnah Natsir, M.Si** dan Ibu **Dr. Rugaiyah A. Arfah, M.Si** selaku pembimbing yang selama ini telah banyak meluangkan waktu, dengan sabar memberikan ilmu, pemikiran, motivasi, serta bimbingan kepada penulis dalam melaksanakan penelitian maupun proses penyelesaian skripsi ini. Tak lupa penulis ucapkan terimakasih kepada Ibu **Dr. Indah Raya, M.Si** dan Ibu **Dr. Herlina Rasyid, M.Si** selaku tim penguji yang telah banyak memberikan arahan dan masukan untuk penulis.

Penulis juga ingin mengucapkan terimakasih kepada:

1. Bapak dan Ibu dosen yang telah membimbing dan membagi ilmunya kepada penulis selama menyelesaikan studi S1 di jenjang perguruan tinggi.

2. Bapak Abdur Rahman Arif, S.Si, M.Si., selaku dosen yang telah membimbing dan berbagi ilmunya kepada penulis selama masa penelitian dan penulisan skripsi.
3. Seluruh analis laboratorium yang senantiasa membantu penulis dalam memenuhi kelengkapan proses penelitian.
4. Seluruh staf Departemen Kimia dan Fakultas MIPA yang senantiasa membantu penulis.
5. Keluarga penulis, khususnya Ibu dan Ayah yang telah memberi dukungan luar biasa baik secara moril, materil, maupun spiritual.
6. Rekan peneliti Nur Rahmi, yang telah bekerja sama selama masa penelitian hingga penyusunan skripsi.
7. Teman-teman Kimia angkatan 2019 yang telah berjuang bersama sejak maba.
8. Kakak-kakak senior yang telah membantu dan mengarahkan penulis selama melakukan penelitian dan penyusunan skripsi.
9. Teman-teman Pondok Putri Innawa (Seli, Zahra, Kania, Andini) yang telah mendukung, membantu, dan berjuang bersama penulis dalam menyelesaikan studi S1.
10. Teman-teman KKNT 108 Desa Wisata Maros yang telah memberikan bantuan, dukungan, dan motivasi kepada penulis.
11. Berbagai pihak yang telah berkontribusi baik secara langsung maupun tidak langsung, yang tidak sempat penulis sebutkan satu per satu.

ABSTRAK

Pemanfaatan bahan alam sebagai alternatif senyawa sintetik telah banyak dilakukan untuk pengobatan berbagai penyakit, termasuk diabetes mellitus. Biji kelor (*Moringa oleifera*) merupakan salah satu tanaman yang diduga dapat menurunkan kadar gula darah pada penderita diabetes mellitus melalui penghambatan enzim α -amilase. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menentukan kandungan senyawa metabolit dalam ekstrak n-heksana biji kelor, menentukan karakteristik sifat biokimiawi enzim α -amilase, dan mempelajari aktivitas penghambatan ekstrak n-heksana biji kelor terhadap enzim α -amilase. Penelitian ini dilakukan menggunakan spektrofotometer dengan metode DNS untuk mengukur kadar gula pereduksi dengan variasi 3 konsentrasi ekstrak dan kontrol *acarbose* (5%; 10%; 15%). Berdasarkan hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak n-heksana biji kelor mengandung alkaloid. Pada hasil uji aktivitas α -amilase, persentase inhibisi ekstrak n-heksana biji kelor memperoleh nilai inhibisi yang lebih tinggi dibanding *acarbose* sebagai kontrol positif. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa aktif dalam ekstrak n-heksana biji kelor efektif menghambat enzim α -amilase, sehingga berpotensi sebagai agen antidiabetes yang efektif.

Kata Kunci: Biji kelor, diabetes mellitus, enzim α -amilase

ABSTRACT

Utilization of natural materials as alternatives to synthetic compounds has been extensively explored for treating various diseases, including diabetes mellitus. Moringa oleifera seeds are among the plants believed to lower blood sugar levels in diabetes mellitus patients by inhibiting alpha-amylase enzyme. The objectives of this research are to determine the content of metabolite compounds in n-hexane extract of Moringa oleifera seeds, identify the biochemical characteristics of the alpha-amylase enzyme, and study the inhibitory activity of the n-hexane extract of Moringa oleifera seeds on the alpha-amylase enzyme. The research was conducted using a spectrophotometer with the DNS method to measure reducing sugar levels at three different concentrations of the extract and acarbose control (5%; 10%; 15%). Based on the results of phytochemical testing, the n-hexane extract of Moringa oleifera seeds contains alkaloids. The alpha-amylase activity test showed that the percentage of inhibition by the n-hexane extract of Moringa oleifera seeds was higher compared to acarbose, which served as the positive control. This indicates that the active compounds in the n-hexane extract of Moringa oleifera seeds effectively inhibit the alpha-amylase enzyme, making it a potential agent for effective antidiabetic treatment.

Keywords: *Moringa oleifera seeds, diabetes mellitus, α -amylase enzyme*

DAFTAR ISI

	halaman
PRAKATA.....	v
ABSTRAK.....	vii
<i>ABSTRACT</i>	viii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR GAMBAR.....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiv
DAFTAR ARTI SIMBOL DAN SINGKATAN.....	xv
BAB I. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Maksud dan Tujuan Penelitian.....	4
1.3.1 Maksud Penelitian.....	4
1.3.2 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Diabetes Melitus (DM).....	6
2.2 Kelor (<i>Moringa oleifera</i>).....	8
2.3 Peran Metabolit Sekunder sebagai Antidiabetes.....	11
2.3.1 Flavonoid.....	11

2.3.2 Tannin.....	12
2.3.3 Alkaloid	12
2.3.4 Terpenoid.....	12
2.3.5 Steroid.....	13
2.4 Enzim α -amilase.....	13
2.5 Mekanisme penghambatan Enzim α -amilase	14
2.5 <i>In Vitro</i>	16

BAB III. METODE PENELITIAN

3.1 Bahan Penelitian	17
3.2 Alat Penelitian	17
3.3 Tempat dan Waktu Penelitian.....	17
3.3.1 Tempat dan Waktu Pengambilan Sampel.....	17
3.3.1 Tempat dan Waktu Penelitian.....	17
3.4 Prosedur Penelitian	18
3.4.1 Pembuatan Larutan	18
3.4.2 Preparasi sampel	18
3.4.3 Ekstraksi Biji Kelor	18
3.4.4 Analisis Senyawa Fitokimia Ekstrak n-Heksana Biji Kelor.....	19
3.4.5 Analisis Gugus Fungsi Ekstrak n-Heksana Biji Kelor dengan FTIR.....	20
3.4.6 Penentuan Kondisi Optimum Enzim α -Amilase	20
3.4.7 Uji Penghambatan Enzim α -Amilase secara <i>In Vitro</i>	22

BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Ekstraksi Biji Kelor	24
4.2 Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak n-Heksana Biji Kelor.....	25

4.3 Hasil Analisis Gugus Fungsi Ekstrak n-Heksana Biji Kelor menggunakan FTIR	27
4.4 Hasil Optimasi Aktivitas α -Amilase.....	28
4.5 Hasil Analisis Penghambatan Aktivitas Enzim α -Amilase secara <i>In Vitro</i>	31
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN	
5.1 Kesimpulan.....	33
5.2 Saran	33
DAFTAR PUSTAKA	34
LAMPIRAN.....	42

DAFTAR TABEL

Tabel	halaman
1. Penelitian terkait biji kelor (<i>Moringa oleifera</i>)	11
2. Hasil skrining fitokimia ekstrak n-heksana biji kelor.....	25
3. Hasil Spektrum FTIR Ekstrak n-Heksana Biji Kelor	27
4. Hasil Pengukuran Panjang Gelombang	32

DAFTAR GAMBAR

Gambar	halaman
1. Pohon kelor (<i>Moringa oleifera</i>)	8
2. Biji kelor (<i>Moringa oleifera</i>).....	8
3. Reaksi reduksi DNS oleh glukosa	15
4. Ekstrak n-Heksana Biji Kelor.....	25
5. Reaksi Uji Dragendorff	26
6. FTIR Ekstrak n-Heksana Biji Kelor.....	27
7. Hasil Uji Optimasi Waktu Inkubasi	29
8. Hasil Uji Optimasi pH.....	30
9. Hasil Uji Optimasi Suhu	31

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	halaman
1. Diagram Alir Penelitian	42
2. Bagan Kerja.....	43
3. Tempat Pengambilan Sampel.....	49
4. Perhitungan	50
5. Dokumentasi Penelitian	54

DAFTAR ARTI SIMBOL DAN SINGKATAN

Simbol/singkatan	Arti
DM	: Diabetes Mellitus
EHBK	: Ektrak n-Heksana Biji Kelor
DNS	: <i>Dinitrosalicylic acid</i>
DMSO	: Dimetil sulfoksida

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Diabetes Mellitus (DM) merupakan penyakit kronis akibat penurunan jumlah insulin atau produksi insulin yang tidak efektif sehingga menyebabkan terganggunya keseimbangan kadar gula darah (Suhendi dan Maulana, 2020; Chaudhary & Tyagi, 2018). Penyakit ini menjadi salah satu penyebab kematian terbesar di dunia dengan resiko 2-3 kali lipat lebih besar dari semua penyakit penyebab kematian dan dikenal sebagai *silent killer* karena sering kali tidak menunjukkan gejala hingga menimbulkan komplikasi yang menyerang hampir seluruh bagian tubuh penderitanya (Hestiana, 2017). Berdasarkan data dari *International Diabetes Federation* (2021), jumlah penderita DM akan terus mengalami peningkatan hingga pada tahun 2045 diproyeksikan mencapai angka 783 juta orang. Sementara itu, *World Health Organization* (2018) melaporkan bahwa Indonesia berada pada peringkat ke-34 untuk kasus DM tertinggi di dunia dengan jumlah kematian sebanyak 108.800 orang atau 6,04% dari total kematian.

DM dikategorikan kedalam beberapa tipe, yakni DM tipe 1, DM tipe 2, DM tipe gestasional, dan DM tipe lainnya. DM tipe 1 umumnya diobati dengan pemberian terapi insulin karena tubuh tidak lagi memproduksi insulin akibat kerusakan sel pankreas. Sementara itu, DM tipe 2 diobati dengan pemberian obat hipoglikemik oral untuk mengontrol kadar gula darah (Padhi dkk., 2020). Pada penderita DM tipe 2, penggunaan obat-obatan sintetik masih menjadi pilihan utama. Namun, penggunaan obat-obatan ini memicu pada efek samping dan komplikasi

sekunder terhadap kesehatan seperti penambahan berat badan berlebih, gangguan gastrointestinal, hingga gagal jantung (Naveen dan Baskaran, 2018). Oleh karenanya, pengobatan alternatif menggunakan tanaman herbal menjadi suatu inovasi dalam pengembangan terapi antidiabetes untuk menghindari efek samping yang ditimbulkan (Solikhah dkk., 2020).

Beberapa penelitian sebelumnya telah banyak dilakukan dengan memanfaatkan ekstrak tumbuhan dalam menghambat aktivitas enzim α -amilase untuk menurunkan kadar gula darah. Wahyudi dkk. (2016) melaporkan bahwa ekstrak etil asetat daun kayu kuning berpotensi sebagai antidiabetes dengan aktivitas penghambatan α -amilase paling tinggi dibanding pelarut lain. Omari dkk. (2019) memanfaatkan ekstrak *Aristolochia longa* sebagai antioksidan dan antidiabetes, dimana aktivitas antidiabetes dari ekstrak *Aristolochia longa* juga dilakukan melalui penghambatan enzim α -amilase. Penelitian lain yang dilakukan oleh Magaji dkk. (2019), menunjukkan bahwa ekstrak heksana akar kelor dan ekstrak metanol daun kelor memiliki potensi yang menjajikan sebagai antidiabetes dan anti glikasi dengan menghambat kerja enzim α -amilase. Selain itu, ekstrak etanol dan n-heksana dari tumbuhan *Phyllanthus amarus* menunjukkan aktivitas penghambatan enzim α -amilase dan α -glukosidase yang cukup besar dengan nilai IC_{50} masing-masing $36.05 \pm 4.01 \mu\text{g/mL}$ dan $48.92 \pm 3.43 \mu\text{g/mL}$ jika dibandingkan dengan akarbosa sebagai kontrol dengan nilai IC_{50} sebesar $83,33 \pm 0,34 \mu\text{g/mL}$ (Tamil dkk., 2010).

Salah satu tanaman yang banyak dimanfaatkan sebagai tanaman herbal adalah kelor (*Moringa oleifera*) karena beberapa khasiatnya dalam mengobati berbagai penyakit. Bagian kelor yang paling banyak memiliki aktivitas sebagai antidiabetes terletak pada bagian daun, karena kandungan

senyawa flavonoidnya berperan sebagai agen antihiperlipidemia untuk menurunkan kadar gula darah pada penderita DM (Surya, 2020). Sejauh ini, penelitian mengenai pemanfaatan kelor sebagai antidiabetes telah banyak diteliti pada bagian daun, namun penelitian mengenai biji kelor masih sangat terbatas. Di sisi lain, kandungan senyawa bioaktif yang terdapat pada biji kelor tidak jauh berbeda dengan kandungan yang terdapat pada daunnya (Zainab dkk., 2020).

Biji kelor mengandung beberapa kandungan senyawa bioaktif seperti alkaloid, flavonoid, fenol, terpenoid dan saponin yang memiliki potensi sebagai penurun kadar gula darah pada penderita diabetes mellitus (Kiswandono, 2017). Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Tamil dkk. (2010), senyawa bioaktif berupa terpenoid, triterpenoid, flavonoid memiliki aktivitas penghambatan enzim α -amilase. Penghambatan enzim α -amilase dapat mengganggu atau memperlambat pemecahan karbohidrat sehingga akan mempengaruhi sistem glukosa insulin dan mengurangi ketersediaan kalori pada darah penderita diabetes. Pada penelitian ini, digunakan n-heksana sebagai pelarut berdasarkan kepolarannya yang dapat melarutkan golongan senyawa yang bersifat non-polar. Berdasarkan prinsip *like dissolves like*, n-heksana dapat melarutkan golongan senyawa non-polar seperti terpenoid yang mampu berperan sebagai senyawa antidiabetes (Sinulingga dan Safitri, 2022).

Beberapa uraian pada latar belakang ini menjadi dasar untuk melakukan eksplorasi potensi biji kelor sebagai agen antidiabetes, dan melakukan karakterisasi enzim alfa amilase. Oleh karena itu, pada penelitian ini dilakukan kajian *in vitro* melalui mekanisme penghambatan enzim α -amilase sebagai enzim yang berperan dalam mengkatalisis perombakan karbohidrat menggunakan ekstrak n-heksana biji

kelor. Pengujian dilakukan pada dengan menghitung nilai %inhibisi dan IC₅₀ untuk mengetahui kekuatan ekstrak dalam menghambat enzim α -amilase.

1.2 Rumusan Masalah

1. Senyawa metabolit apa yang terdapat pada ekstrak n-heksana biji kelor?
2. Bagaimana karakteristik senyawa biokimia enzim α -amilase?
3. Bagaimana aktivitas penghambatan ekstrak n-heksana biji kelor terhadap enzim α -amilase secara *in vitro*?

1.3 Maksud dan Tujuan Penelitian

1.3.1 Maksud Penelitian

Maksud dari penelitian ini adalah untuk menentukan senyawa metabolit sekunder pada ekstrak n-heksana biji kelor, mengkarakterisasi sifat biokimia enzim α -amilase, dan menentukan aktivitas penghambatan ekstrak n-heksana biji kelor terhadap enzim α -amilase secara *in vitro*.

1.3.2 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk:

1. mengekstraksi dan menganalisis senyawa metabolit yang terdapat pada ekstrak n-heksana biji kelor dengan skrining fitokimia,
2. menentukan karakteristik sifat biokimia enzim,
3. menganalisis aktivitas penghambatan ekstrak n-heksana biji kelor terhadap enzim α -amilase secara *in vitro*.

1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi terkait pengembangan ilmu pengetahuan dan teknologi mengenai potensi ekstrak n-

heksana biji kelor sebagai antidiabetes yang mampu menghambat enzim α -amilase dan memberikan informasi mengenai penemuan senyawa bioaktif, formulasi, dan toksistas terkait obat, serta sebagai sumber informasi mengenai inovasi dan pengembangan *herbal medicine* berbasis bahan alam.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Diabetes Melitus (DM)

Diabetes mellitus (DM) merupakan penyakit tidak menular yang cukup serius dimana insulin tidak dapat diproduksi secara maksimal oleh pankreas. Insulin merupakan hormon yang mengatur glukosa. Insulin yang tidak bekerja akan membuat kadar glukosa dalam darah tinggi (Fatimah, 2015). Peningkatan kadar gula darah yang berkepanjangan dapat menyebabkan kondisi patogen jangka panjang termasuk komplikasi mikro dan makrovaskular, neuropati, retinopati, nefropati, konsekuensi penurunan kualitas hidup, perkembangan stress oksidatif, mempengaruhi proses metabolisme, genetik, dan sistem hemodinamik, hingga peningkatan angka kematian (Airaodion dkk., 2019). DM banyak dialami oleh masyarakat dan merupakan masalah kesehatan masyarakat global, sehingga menjadi prioritas dalam memecahkan masalah kesehatan (Nasution dkk., 2021).

Diabetes mellitus diklasifikasikan ke dalam beberapa jenis, di antaranya diabetes mellitus tipe 1, diabetes mellitus tipe 2, diabetes mellitus tipe gestasional, dan diabetes mellitus tipe lainnya. Diabetes mellitus tipe I yang juga dikenal sebagai autoimun diabetes merupakan penyakit kronis yang ditandai dengan kerusakan autoimun penghasil insulin dari sel beta pankreas. Jenis ini menyumbang 5%-10% dari total penderita diabetes mellitus (Katsarou dkk., 2017). Pemberian insulin merupakan terapi yang dilakukan dalam menangani pasien penderita diabetes mellitus tipe 1 karena kerusakan autoimun yang menyebabkan tubuh tidak mampu lagi memproduksi insulin (Warshauer dkk., 2020).

Diabetes mellitus tipe 2 merupakan jenis diabetes yang paling banyak diderita, yakni sebesar 90% dari total penderita diabetes. Penderita diabetes mellitus tipe 2 ditandai dengan penurunan produksi insulin sehingga meningkatnya kadar gula darah (Goyal dan Jialal, 2018). Tingginya angka penderita diabetes mellitus tipe 2 disebabkan oleh beberapa faktor, baik faktor resiko yang dapat diubah maupun faktor resiko yang tidak dapat diubah. Faktor resiko yang dapat diubah diantaranya kebiasaan merokok, aktivitas fisik, konsumsi alkohol, indeks masa tubuh, lingkar pinggang, dan umur. Sementara itu, untuk faktor resiko yang tidak dapat diubah diantaranya jenis kelamin, umur, serta faktor genetik (Fatimah, 2015). Jenis pengobatan dilakukan dengan terapi obat seumur hidup dan pengaturan gaya hidup sehat, yang menjadi tantangan bagi pasien penderita diabetes mellitus (Pivari dkk., 2019).

Diabetes mellitus tipe gestasional merupakan tipe diabetes mellitus yang terjadi pada masa kehamilan dan sembuh setelah kelahiran. Beberapa faktor penyebab diabetes mellitus gestasional diantaranya kelebihan berat badan, usia melahirkan anak yang lebih tua, memiliki Riwayat diabetes mellitus gestasional, serta riwayat keluarga yang menderita diabetes mellitus tipe 2. Pengobatan utama untuk diabetes mellitus tipe ini dapat dilakukan dengan modifikasi diet dan peningkatan aktivitas fisik. Untuk terapi farmakologi, biasanya dilakukan dengan pemberian insulin ketika normoglikemia tidak tercapai (McIntyre dkk., 2019).

Pengobatan yang tepat perlu dilakukan dalam mengontrol kadar gula darah untuk mengurangi peningkatan jumlah penderita DM pada masyarakat. Beberapa penelitian mengenai pengobatan DM menggunakan tanaman herbal telah banyak dilakukan. Penggunaan tanaman herbal atau konsumsi makanan yang berpotensi menurunkan kadar gula darah pada penderita DM dapat digunakan sebagai agen

pengobatan melalui mekanisme aksinya dalam menghambat kerja enzim α -amilase (Demir dkk., 2019). Tanaman herbal dengan efek penurunan kadar gula darah pada penderita diabetes menjadi pengobatan alternatif semakin diminati untuk meningkatkan kualitas hidup dan kesehatan (Reddy dkk., 2022). Beberapa senyawa yang terkandung dalam bahan alam seperti alkaloid, flavonoid, glikosida, terpenoid, polifenol, dan tannin, dilaporkan memiliki aktivitas antidiabetes (Laddha dkk., 2019).

2.2 Kelor (*Moringa Oleifera*)



Gambar 1. Pohon kelor (*Moringa oleifera*) (Purba, 2020)



Gambar 2. Biji Kelor (*Moringa oleifera*) (Oyebamiji dkk., 2021)

Kelor (*Moringa oleifera*) merupakan tumbuhan angiospermae dan termasuk dalam famili *Moringaceae* yang berasal dari wilayah utara sub-Himalaya di India, Bangladesh, Pakistan, dan Afghanistan. Tanaman ini tumbuh subur di seluruh daerah tropis dan subtropis di dunia (Okorie dkk., 2019). Tanaman kelor biasanya mulai berbunga setelah lima sampai enam bulan penanaman. Pembungaan dapat terjadi dua kali atau sepanjang tahun dalam iklim musiman dengan curah hujan yang baik (Iqbal, 2022). Kelor dapat mencapai ketinggian 10-12 meter, dengan batang berkayu, permukaan batang kasar, tumbuh lurus, dan memanjang. Bagian daun berwarna hijau dengan jenis daun majemuk bertangkai panjang. Bunga kelor berbentuk segitiga, berwarna putih kekuningan, dan pelepah berwarna hijau. Sementara itu, bagian polong kelor berbentuk segitiga, berwarna hijau saat muda, dan kecoklatan saat tua. Untuk bagian biji, berbentuk bulat dengan warna coklat kehitaman (Purba, 2020).

Berikut merupakan klasifikasi dari tanaman kelor (*Moringa oleifera*) (Iqbal, 2022):

Kingdom : Plantae
Divisi : Magnoliophyta
Kelas : Magnoliopsida
Ordo : Brassicales
Famili : Moringaceae
Genus : Moringa
Spesies : *M. oleifera*

Kelor merupakan tanaman yang banyak dijumpai di Indonesia, khususnya di daerah bagian Sulawesi, Kalimantan, Kupang, dan Aceh. Tanaman ini biasanya dimanfaatkan sebagai bahan olahan sayur, pakan ternak, antimikroba, biokoagulan,

keperluan industri, pertanian, maupun sebagai tanaman pagar. Kelor dijuluki sebagai *The Miracle Tree* karena setiap bagian dari kelor seperti daun, biji, batang, bunga, buah, maupun akar dapat dimanfaatkan, salah satunya sebagai tanaman obat (Sandi dkk., 2019).

Kelor banyak dimanfaatkan sebagai tanaman obat karena memiliki banyak manfaat bagi kesehatan. Studi ilmiah mengenai kelor telah berkembang selama beberapa dekade yang menunjukkan banyak aktivitas seperti analgesik, antiinflamasi, diuretik, antihipertensi, antioksidan dan aktivitas anti tumor. Berdasarkan komposisi fitokimianya, semua bagian dari kelor mulai dari akar hingga biji dapat dimanfaatkan sebagai tanaman obat (Padayachee, 2019). Daun kelor mengandung alkaloid, flavonoid, saponin, dan tannin yang dapat berperan sebagai antibakteri dengan menghambat bakteri *Escherichia coli* dan *Salmonella typhi* (Purba, 2020). Screening fitokimia pada penelitian yang dilakukan oleh Umar dkk. (2018), mengungkapkan adanya kandungan alkaloid, tannin, flavonoid, dan saponin pada bagian akar kelor yang memiliki aktivitas sebagai antidiabetes dan antioksidan. Penelitian yang dilakukan oleh Zhao dan Zhang (2013) menunjukkan bahwa biji kelor dapat dimanfaatkan sebagai bahan bakar terbarukan berupa biodiesel. Selain itu, bagian bijinya juga memiliki potensi yang besar sebagai tanaman herbal, khususnya sebagai antidiabetes karena kandungan metabolit sekunder yang terkandung pada daun kelor juga terkandung pada bijinya dan bagian kelor lainnya (Surya, 2020). Magaji dkk. (2019) melaporkan bahwa dalam serbuk biji kelor terdapat kandungan senyawa tanin, fitat, oksalat, fenolat, alkaloid, flavonoid, saponin, dan terpenoid yang berpotensi sebagai antidiabetes dengan cara menghambat kerja enzim α -amilase dan α -glukosidase. Penelitian sebelumnya terkait biji kelor (*Moringa oleifera*) dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Penelitian terkait biji kelor (*Moringa oleifera*)

Penulis	Judul	Hasil
Santos dkk. (2016)	Development of a magnetic coagulant based on <i>Moringa oleifera</i> seed extract for water treatment	Ekstrak biji kelor sebagai koagulan menunjukkan aktivitas pemisahan dan pengendapan yang cepat sehingga secara efektif dapat menghilangkan 90% kekeruhan, 85% warna semu, dan 50% untuk senyawa dengan penyerapan pada UV 254 nm.
Oyebamiji dkk. (2021)	Phytochemical and antibacterial investigation of <i>Moringa oleifera</i> seed: experimental and computational approaches	Quercetin dalam ekstrak biji kelor menunjukkan penghambatan bakteri <i>S. aureus</i> tertinggi bila dibandingkan dengan senyawa lainnya sehingga ekstrak biji kelor berpotensi dalam membasmi beberapa infeksi yang disebabkan oleh bakteri.
Enan dkk. (2020)	Inhibition of <i>S. aureus</i> LC 554891 by <i>Moringa oleifera</i> Seed Extract either Singly or in Combination with Antibiotics	Ekstrak akuades biji kelor menunjukkan aktivitas inhibisi tertinggi terhadap bakteri <i>S. aureus</i> LC 554891 dibanding tetrasiklin, minyak esensial, maupun madu.

2.3 Peran Metabolit Sekunder sebagai Antidiabetes

2.3.1 Flavonoid

Flavonoid merupakan salah satu metabolit sekunder yang termasuk dalam kelompok polifenol yang terdapat pada tumbuhan. Senyawa tersebut memiliki kerangka karbon C6-C3-C6. Dua cincin golongan C6 (cincin benzena) A dan B dihubungkan oleh 3 karbon. Flavonoid dapat

diklasifikasikan menjadi 6 kelompok, antara lain flavonol, flavan-3-ol (flavanol), flavon, antosianin, isoflavon, dan flavanon. Flavonoid dapat menunjukkan manfaat kesehatan seperti anti-kardiovaskular, antidiabetes, obesitas, dan antikanker pada manusia (Cahyana dan Adiyanti, 2021). Sebagai antidiabetes, flavonoid bekerja dalam menghambat aktivitas enzim pemecah glukosa. Senyawa ini juga berperan sebagai antioksidan dengan menetralkan efek radikal bebas (Sohretoglu dan Sari, 2020).

2.3.2 Tanin

Tanin merupakan senyawa polifenol yang terdapat pada banyak tanaman obat dan berbagai sumber makanan seperti buah-buahan, kacang-kacangan, biji-bijian, rempah-rempah dan minuman. Berbagai studi klinis melaporkan bahwa tannin memiliki aktivitas antioksidan dan antidiabetes yang sangat potensial (Laddha dkk., 2019).

2.3.3 Alkaloid

Alkaloid merupakan kelompok besar senyawa fitokimia yang mengandung nitrogen dan tersebar luas pada tumbuhan. Senyawa ini memiliki berbagai efek teuripatik termasuk sifat antidiabetes. Sebagai antidiabetes, alkaloid berinteraksi dengan berbagai protein yang terlibat dalam proses homeostasis glukosa, menurunkan aktivitas α -amilase, sehingga senyawa ini merupakan salah satu kandidat dalam pengobatan DM (Rasouli dkk., 2020).

2.3.4 Terpenoid

Terpenoid merupakan senyawa dengan aktivitas farmakologis yang beragam. Senyawa ini dapat digunakan sebagai senyawa aktif ataupun dimodifikasi

untuk meningkatkan selektivitas dan potensinya. Secara khusus, terpenoid banyak terkandung pada tanaman herbal. Terpenoid bekerja dengan mengontrol homeostatis energi sehingga berguna dalam pengelolaan gangguan metabolisme yang disebabkan oleh obesitas, seperti diabetes mellitus tipe 2, hiperlipidemia, resistensi insulin, maupun penyakit kardiovaskular (Grace dkk., 2019).

2.3.5 Steroid

Steroid merupakan kelompok senyawa bahan alam dengan struktur dasar 1,2-siklopentenoperhidrofenantren (Kristanti dkk., 2019). Stigmasterol merupakan senyawa steroid yang telah terbukti sebagai antidiabetes dengan menghambat kerja enzim α -amilase dan α -glukosidase (Isnaniah dkk., 2017).

2.4 Enzim α -amilase

Amilase merupakan enzim yang dikalsifikasikan sebagai scharidase, yakni enzim yang berperan dalam memotong polisakarida. Enzim ini tergolong ke dalam enzim pencernaan, dimana terdapat pada pankreas dan kelenjar ludah. Enzim amilase memiliki peran penting dalam berbagai bidang industri, seperti industri makanan dan minuman, tekstil, maupun detergen. Terdapat beberapa tipe amilase yang diklasifikasikan berdasarkan cara memotong ikatan glycosidik (Ariandi, 2017).

Enzim α -amilase (EC 3.2.1.1, α -(1,4)-glucan-4-glucanohydrolase) merupakan salah satu bagian dari enzim amilase yang berperan dalam mengkatabolisis pati, glikogen, dan disakarida dalam jalur gastrointestinal (Magaji dkk., 2019). Enzim ini membantu pencernaan dengan memecah molekul polisakarida menjadi molekul yang lebih kecil seperti glukosa dan maltosa. Selain itu, enzim α -amilase dapat menyebabkan hiperglikemia postprandial dan

peningkatan kadar gula darah sehingga penghambatan enzim ini menjadi salah satu target terapi untuk mengurangi daya cerna pati dalam pengobatan penyakit diabetes mellitus (Kaur dkk., 2021).

Enzim α -amilase memiliki dua tahap mekanisme kerja, yakni tahap degadasi amilosa menjadi maltose dan maltotriosa, kemudian tahap pembentukan glukosa dan maltose sebagai hasil akhir reaksi. Kedua tahapan ini merupakan mekanisme enzim pada molekul amilosa. Sementara itu, pada molekul amilopektin menghasilkan glukosa, maltose, satu limit α -limit dekstrin, dan oligosakarida yang terdiri dari 4 unit glukosa atau lebih dengan ikatan α -1,6-glikosidik (Ariandi, 2017).

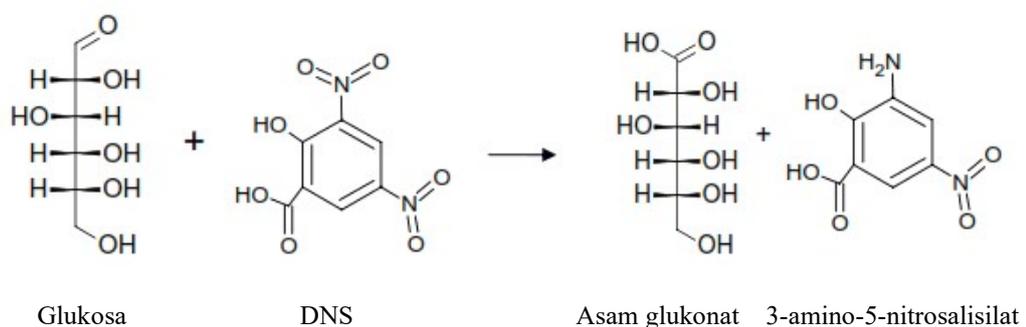
2.5 Mekanisme Penghambatan Enzim α -Amilase

Mekanisme kerja penghambatan enzim dapat berupa inhibisi kompetitif, inhibisi nonkompetitif, maupun inhibisi gabungan dari kedua mekanisme tersebut. Metabolit sekunder yang terkandung dalam tanaman berperan sebagai inhibitor kompetitif dalam menghambat aktivitas enzim sehingga memperlambat pemecahan karbohidrat dalam tubuh. Senyawa yang terdapat dalam tanaman yang berperan sebagai inhibitor enzim memiliki mekanisme penghambatan kompetitif karena struktur dari senyawa tersebut menyerupai substrat. Inhibitor α -amilase bekerja sebagai inhibitor kompetitif dengan cara meniru posisi transisi pada unit piranosidik dari substrat α -amilase (Chusniasih, 2019). Senyawa ini akan menempel pada sisi aktif enzim α -amilase dan menghambat ikatan antara substrat dan enzim. Hal ini akan mengurangi kadar glukosa darah pada penderita diabetes mellitus (Wahyuntari, 2011).

Analisis penghambatan enzim α -amilase yang mengkatalisis hidrolisis α -1,4 glikosidik polisakarida menjadi maltotriosa, maltose, dan oligosakarida

bercabang dapat dilakukan melalui beberapa metode, dan yang umum digunakan diantaranya metode *dinitrosalisyllic acid* (DNS), *starch iodine colour assay*, dan *modified starch iodine protocol*. Pada metode DNS, didasarkan pada pengukuran konsentrasi gula pereduksi dengan reagen DNS. Dalam metode ini, katalisis oleh enzim α -amilase dihentikan dengan cara pemanasan yang akan menyebabkan perubahan konfigurasi dari α -amilase sehingga kemampuan enzim akan hilang (Rismawati dkk., 2016).

Metode DNS merupakan suatu teknik kolorimetri yang terdiri dari reaksi redoks antara 3,5-asam dinitrosalisilat dan gula reduksi pada sampel. Kekuatan reduksi gula dapat dilihat pada gugus karbonil yang dioksidasi oleh gugus karboksil. Sementara itu, 5-dinitrosalisilat yang semula berwarna kuning setelah tereduksi menjadi 3-amino-5-nitrosalisilat akan berubah warna menjadi warna orange gelap. Semakin banyak gula reduksi, maka semakin pekat warna DNS dan semakin besar nilai absorbansi yang terukur pada spektrofotometri UV-Vis pada Panjang gelombang 540 nm (Timerman, 2012). Reaksi antara DNS dan gula reduksi dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Reaksi reduksi DNS oleh glukosa (Rismawati dkk., 2016)

2.6 *In Vitro*

Model *In vitro* merupakan titik awal dalam penelitian biologi dan medis. Metode ini dilakukan dengan membuat atau meniru jaringan tertentu sesuai dengan target eksperimen yang biasanya berasal dari sel mamalia, jaringan, maupun enzim. Pada pengujian ini, eksperimen dilakukan di luar organisme hidup seperti di dalam tabung atau cawan. Keuntungan dari uji *in vitro* yakni proses yang dapat dikontrol serta dapat dilakukan standarisasi sehingga hasil yang diperoleh dapat lebih akurat. Selain itu, metode ini juga tidak memerlukan aspek etika sehingga proses pengujian dapat berlangsung lebih cepat (Rinastiti dkk., 2022).

Uji aktivitas antidiabetes secara *in vitro* dapat dilakukan melalui inhibisi enzim α -amilase dan α -glukosidase. Penghambatan enzim tersebut akan menurunkan daya cerna karbohidrat pada penderita diabetes (Urifah, 2011). Pengujian ini dilakukan dengan mereaksikan sampel dan enzim lalu menghitung nilai IC_{50} dari sampel. Pada metode ini, akarbosa digunakan sebagai pembanding karena merupakan obat antidiabetes yang dapat menunda proses hidrolisis karbohidrat sehingga dapat memperlambat absorpsi gula. Semakin rendah nilai IC_{50} , maka semakin baik kemampuan sampel tersebut dalam menghambat aktivitas enzim (Fitrianingsih dkk., 2016).