

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Diabetes melitus (DM) merupakan gangguan metabolik yang ditandai oleh tingginya kadar gula darah (hiperglikemia) disertai gejala seperti makan berlebihan (polifagia), sering buang air kecil (poliuria), nafsu makan meningkat, dan penurunan berat badan (Zubaidah et al., 2019). Berdasarkan American Diabetes Association (2024) yang dijelaskan dalam *Standards of Care in Diabetes*, diagnosis pada individu dapat dikategorikan diabetes apabila memenuhi salah satu kriteria yaitu HbA1c $\geq 6,5\%$ yang diperiksa dengan metode tersertifikasi NGSP (*National Glycohemoglobin Standardization Program*) dan terstandarisasi DCCT (*Diabetes Control and Complications Trial*); glukosa plasma puasa ≥ 126 mg/dL setelah puasa minimal delapan jam; glukosa plasma 2 jam ≥ 200 mg/dL pada pemeriksaan OGTT menggunakan beban 75 g glukosa anhidrat; atau glukosa plasma acak ≥ 200 mg/dL disertai gejala klasik hiperglikemia atau berada dalam kondisi krisis hiperglikemik (American Diabetes Association, 2024).

Diabetes melitus (DM) dibedakan menjadi dua tipe utama. DM tipe 1 merupakan bentuk diabetes yang ditandai oleh penurunan kadar insulin di bawah batas normal, akibat kerusakan pada sel β pankreas yang menyebabkan defisiensi insulin absolut. Kondisi ini umumnya disebabkan oleh kelainan imunologis, termasuk bentuk diabetes autoimun laten pada orang dewasa (*Latent Autoimmune Diabetes in Adults*) yang memiliki onset perkembangan lambat (Chen et al., 2025), sedangkan DM tipe 2 terjadi akibat ketidakmampuan tubuh dalam memanfaatkan insulin secara efektif yang sering kali berkaitan dengan peningkatan berat badan dan penurunan aktivitas fisik. Tipe ini memiliki rentang variasi yang luas mulai dari resistensi insulin disertai defisiensi insulin relatif hingga gangguan sekresi insulin yang dominan dengan resistensi insulin (Maida et al., 2022). Berdasarkan laporan *International Diabetes Federation* (IDF) pada *Diabetes Atlas* edisi ke-11 (2025), diperkirakan terdapat sekitar 589 juta orang dewasa (usia 20–79 tahun) di dunia yang hidup dengan diabetes, dan diproyeksikan akan meningkat menjadi 853 juta kasus pada tahun 2050 (IDF, 2025). Di Indonesia, hasil Survei Kesehatan Indonesia (SKI) tahun 2023 menunjukkan prevalensi diabetes sebesar 11,7% pada penduduk usia ≥ 15 tahun meningkat dibandingkan hasil Riskesdas (Kementerian Kesehatan RI, 2024). Angka ini menggambarkan tren peningkatan yang sejalan dengan pola global dan menegaskan pentingnya upaya pencegahan serta pengendalian yang berkelanjutan.



ur glukosa darah yang tidak terkontrol dapat memicu terjadinya vaskular pada pembuluh darah kecil (mikrovaskular) maupun (makrovaskular). Salah satu komplikasi yang berperan dalam h stres oksidatif yang berkontribusi dalam patogenesis diabetes stres oksidatif ditandai oleh meningkatnya produksi *reactive* s) serta menurunnya kapasitas sistem pertahanan antioksidan

endogen, sehingga memicu kerusakan seluler, disfungsi metabolik, dan gangguan regulasi glukosa. Mekanisme ini pada akhirnya berkontribusi terhadap timbulnya diabetes melitus sekaligus mempercepat progresivitas penyakit. Sejumlah penelitian menunjukkan bahwa stres oksidatif memiliki peran sentral dalam patogenesis diabetes serta berbagai komplikasi yang menyertainya (Ighodaro, 2018). Stres oksidatif (OS) adalah disfungsi metabolik yang dimediasi oleh ketidakseimbangan antara proses biokimia yang menyebabkan peningkatan produksi spesies oksigen reaktif (ROS) dan sistem pertahanan antioksidan tubuh (Singh et al., 2022). Bukti eksperimental menunjukkan peran spesies oksigen reaktif (ROS) dalam gangguan fungsi sel beta yang disebabkan oleh reaksi autoimun, sitokin, dan protein inflamasi pada diabetes. Hiperglikemia juga diketahui memicu stres oksidatif melalui pembentukan radikal bebas *de novo* dan penekanan sistem pertahanan antioksidan (Ighodaro, 2018). Antioksidan merupakan senyawa yang berfungsi menetralkan atau menghambat efek merugikan oksidan di dalam tubuh (Febrianti et al., 2024). Dalam kondisi hiperglikemia kronis, produksi ROS terus berlanjut sehingga enzim antioksidan dan antioksidan non-enzimatik sangat ditekan di berbagai jaringan sehingga memperparah stres oksidatif. Hal ini menjelaskan mengapa penderita diabetes cenderung memiliki lingkungan sel dan organisme yang lebih oksidatif dibandingkan individu sehat. Beberapa jalur molekuler yang terlibat dalam induksi stres oksidatif mengalami peningkatan regulasi pada diabetes (Ighodaro, 2018).

Salah satu faktor penyebab diabetes melitus berkaitan dengan aktivitas enzim, khususnya enzim α -amilase yang berperan dalam mengkatalisis pemecahan ikatan glikosidik 1,4 pada pati menjadi glukosa. Kadar glukosa darah yang melebihi batas normal menandakan terjadinya diabetes. Terapi farmakologi menggunakan obat sintesis, seperti acarbose, yang berfungsi menghambat aktivitas enzim α -amilase telah digunakan sebagai salah satu pengobatan diabetes melitus (Alfiani, 2022). Acarbose adalah obat yang bekerja melalui aksi penghambatan terhadap enzim penghidrolisis karbohidrat α -amilase. Namun, dosis acarbose yang telah ditetapkan untuk mengelola kadar glukosa darah postprandial sering kali disertai dengan efek samping gastrointestinal yang tidak diinginkan seperti perut kembung, diare, dan nyeri perut (Nada et al., 2024). Terapi konvensional untuk diabetes melitus tipe 2, termasuk sulfonilurea, glinida, tiazolidinedion, dan metformin efektif dalam menurunkan glukosa darah tetapi menunjukkan keterbatasan yang signifikan. Sulfonilurea dan glinida dikaitkan dengan hipoglikemia dan penambahan berat badan, sementara tiazolidinedion dapat menyebabkan penambahan berat badan, retensi cairan, dan peningkatan risiko gagal jantung. Metformin umumnya dianggap aman sebagai terapi lini pertama tetapi dapat menyebabkan



gastrointestinal dan, dalam kasus yang jarang terjadi, asidosis (al., 2012). Efek samping ini mendorong pencarian alternatif alami yang diharapkan dapat memberikan efektivitas setara dengan risiko efek samping yang lebih rendah daripada obat sintesis. Potensi besar dengan sekitar 1.260 jenis tumbuhan berkhasiat dan metabolit sekunder yang dapat berperan sebagai pewarna, serta obat (Bawamenewi et al., 2023). Tanaman obat dengan

aksesibilitas, biaya yang lebih rendah dan efek samping yang minimal menjadikannya sangat berharga di masyarakat pedesaan dan masyarakat dengan sumber daya terbatas (Rahman et al., 2022).

Salah satu tanaman yang menjanjikan adalah *Syzygium aqueum*, spesies asli Indonesia dan Malaysia yang termasuk dalam famili Myrtaceae. Secara tradisional, daunnya telah digunakan untuk berbagai tujuan pengobatan, termasuk aktivitas antimikroba, antiinflamasi, antioksidan, dan antitirosinase. Khasiat terapeutik tanaman ini terkait erat dengan konstituen fitokimianya yang dapat mendukung peran potensialnya sebagai kandidat antidiabetes alami (Habisukan et al., 2021). Bagian tanaman *Syzygium*, seperti buah, daun, dan akar telah digunakan secara turun-temurun dalam pengobatan tradisional untuk mengatasi infeksi bakteri, diabetes, lidah pecah-pecah, gatal-gatal, gangguan pencernaan, disentri, dan pembengkakan (Kristanti et al., 2022). Khususnya pada *S. aqueum*, masyarakat memanfaatkannya untuk meredakan diare, sakit kepala, batuk, serta masalah pencernaan (Anggraheni et al., 2019). Penelitian modern menunjukkan bahwa berbagai spesies dalam genus *Syzygium* memiliki spektrum aktivitas biologis yang luas dan berpotensi digunakan dalam penanganan berbagai penyakit, termasuk kanker, diabetes, tukak lambung, malaria, penyakit jantung, hingga komplikasi kesehatan yang muncul selama pandemi virus corona (Punithavathi et al., 2025). Kandungan bioaktif utamanya, seperti flavonoid, alkaloid, tannin, saponin, dan terpenoid berperan dalam menghambat pertumbuhan bakteri, menekan peradangan, menurunkan kadar glukosa darah, serta menghambat sel kanker yang masing-masing berkontribusi pada aktivitas antimikroba, penghambatan oksidasi radikal bebas, serta penekanan inflamasi dan stres oksidatif (Febrianti et al., 2024).

Meskipun demikian, penelitian mengenai aktivitas antioksidan dan antidiabetes dari ekstrak daun jambu air (*S. aqueum*) masih relatif sedikit, terutama yang berfokus pada kandungan fenolik dan flavonoid serta kemampuan penghambatan α -amilase secara *in vitro* maupun pengujiannya secara *in vivo*. Berdasarkan keterbatasan tersebut, penelitian ini dilakukan untuk mengkaji lebih jauh potensi ekstrak daun jambu air (*S. aqueum*) sebagai sumber antioksidan dan antidiabetes alami.

1.2 Rumusan Masalah

Adapun rumusan masalah dalam penelitian ini yaitu:

1. bagaimana profil fitokimia dari ekstrak daun jambu air (*S. aqueum*)?
2. bagaimana ekstrak n-heksana, etil asetat, dan etanol 96% daun jambu air (*S. aqueum*) dalam menunjukkan aktivitas antioksidan?
3. bagaimana ekstrak n-heksana, etil asetat, dan etanol 96% daun jambu air dalam menghambat aktivitas enzim α -amilase?
4. bagaimana aktivitas antidiabetes ekstrak terbaik dari ekstrak daun jambu air dalam menurunkan glukosa darah pada model hewan secara *in vivo*?



1.3 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari penelitian ini yaitu:

1. menentukan profil fitokimia dari ekstrak daun jambu air (*S. aqueum*)
2. mengevaluasi aktivitas antioksidan dari ekstrak n-heksana, etil asetat dan etanol 96% daun jambu air (*S. aqueum*)
3. mengevaluasi aktivitas penghambatan enzim α -amilase dari ekstrak n-heksana, etil asetat dan etanol 96% daun jambu air (*S. aqueum*)
4. mengevaluasi efektivitas ekstrak terbaik daun jambu air (*S. aqueum*) dalam menurunkan glukosa darah pada model hewan secara *in vivo*

1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat berkontribusi dalam memberikan informasi mengenai aktivitas ekstrak daun jambu air (*S. aqueum*) sebagai agen antioksidan dan antidiabetes melalui penghambatan enzim α -amilase. Selain itu, hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi landasan ilmiah bagi pengembangan penelitian lebih lanjut mengenai pengobatan diabetes melitus, serta memberikan pemahaman tambahan bahwa ekstrak daun jambu air dengan variasi pelarut memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai pilihan alternatif pengobatan di masa mendatang.

1.5 Landasan Teori

1.5.1 Tanaman Jambu Air (*Syzygium aqueum*)

Famili Myrtaceae terdiri dari lebih dari 5.500 spesies yang mencakup sekitar 130 hingga 150 genera. Genus ini diperkirakan memiliki 1.100–1.200 spesies dengan tingkat keanekaragaman hayati yang tinggi dan banyak dibudidayakan untuk berbagai tujuan (Yassir et al. 2022). Sebagian besar tanaman berupa semak dan pohon cemara yang tersebar luas di wilayah tropis dan subtropis (Huong et al., 2023). *Syzygium* dibudidayakan secara luas untuk berbagai keperluan, termasuk menghasilkan buah-buahan yang berwarna-warni dan lezat (Dessy dan Sajini, 2023). Genus *Syzygium* merupakan salah satu genus terbesar di Indonesia, diantaranya dengan spesies yang berasal dari jambu-jambuan adalah jambu air (*Syzygium aqueum*), jambu bol (*Syzygium malaccense*), dan jambang (*Syzygium cumini*) memiliki aktivitas antioksidan alami (Zaen dan Ekayanti, 2022). Jambu air merupakan tanaman asli Malaysia dan Indonesia yang dikenal dengan nama lokal jambu air (Agustina et al., 2018).



Gambar 1. daun jambu air (*S. aqueum*)

Pohon jambu air umumnya berukuran sedang atau kecil dengan tinggi antara 3-15 m, tipe percabangan simpodial, arah tumbuh tegak lurus. Helaian daun berbentuk jorong, tipe pertulangan daun menyirip, dengan panjang 5-25 cm dan lebar 5-12 cm, tipis seperti kertas, memiliki bau aromatis. Bunga tanaman ini termasuk perbungaan malai, letak perbungaannya aksiler, bentuk bunga menyerupai corong dengan simetri bunga aktinomorfi dengan benang sari banyak dan mudah berguguran, putik tunggal, bakal buah tenggalam, beruang satu dengan tipe plasentasi bakal buah ditengah. Buahnya bertipe buni, berbentuk lonceng, tumbuh aksiler, lapisan eksokarpnya tipis licin dengan warna yang bervariasi. Lapisan mesokarp berwarna putih, teksturnya seperti gabus memiliki banyak air dengan rasa manis dan asam. Biji berbentuk bulat kecil yang berjumlah 0-6 butir. Jambu air mengandung sekitar 17 kkal energi, 0,8 gram protein, 0,1 gram lemak, 3 gram karbohidrat, vitamin A sekitar 1 µg, dan vitamin C sebesar 16,7 mg per 100 gram buah. Kandungan nutrisi ini bermanfaat untuk meningkatkan energi serta mendukung sistem kekebalan tubuh. Selain buahnya, bagian lain dari tanaman jambu air, seperti daun dan kulit batang dapat dimanfaatkan dalam pengobatan tradisional. Beberapa di antaranya bahkan digunakan sebagai bahan dalam pembuatan produk kosmetik dan perawatan kulit (Aprilia et al., 2021). Gambar daun jambu air dapat dilihat pada Gambar 1. Berdasarkan data dari *Plants of the World Online* (Royal Botanic Gardens, 2025), taksonomi tanaman jambu air (*S. aqueum* (Burm. f.) Alston) diklasifikasikan sebagai berikut:

Regnum : Plantae

Divisi : Spermatophyta

Subdivisio : Angiospermeae

Classis : Dicotyledoneae

Subclassis : Dialypetalae

Ordo : Myrtales

Familia : Myrtaceae

Genus : *Syzygium*

Species : *Syzygium aqueum* Burm. f. Alston

Sinonim : *Eugenia aque* Burm. f., *Jambosa aquea* (Burm. f.) DC., *Eugenia javanica*

S. aqueum telah lama digunakan dalam pengobatan tradisional di berbagai belahan dunia. Berbagai penelitian telah mengidentifikasi adanya senyawa bioaktif dan aktivitas farmakologis yang beragam, meskipun sebagian besar senyawa tersebut belum sepenuhnya terkarakterisasi (Dessy dan Sajini, 2023). Secara umum, tanaman ini kaya akan senyawa fenolik yang tergolong dalam beberapa kelompok, seperti asam fenolat, flavonoid, antosianin, tanin, dan lignan (Yassir et al., 2022).



berbagai spesies *Syzygium* menunjukkan potensi farmakologis k aktivitas sebagai antidiabetes, antibakteri, antiinflamasi, otektif, dan antijamur (Punithavathi et al., 2025). Ekstrak daun enggunakan pelarut metanol terbukti mampu menghambat ker payudara dan kanker kolorektal secara signifikan. Minyak *aqueum* bahkan dilaporkan memiliki aktivitas sitotoksik paling

kuat dibandingkan ekstrak yang menggunakan pelarut etanol maupun air. Potensi ini dikaitkan dengan keberadaan berbagai senyawa bioaktif, seperti fenol, asam oleanolat, asam betulinat, dan dimetil kardamonin (Febrianti et al., 2024). Beberapa metabolit sekunder dari *S. aqueum* diketahui memiliki efek antidiabetes yang menjanjikan yaitu Myricetin-3-O-rhamnoside dan europetin-3-O-rhamnoside yang menunjukkan aktivitas menyerupai insulin pada sel adiposit pada konsentrasi 0,08 μM . Kedua senyawa ini mampu menstimulasi penyerapan glukosa dan meningkatkan adipogenesis, bahkan lebih baik dibandingkan dengan rosiglitazone, sehingga mengindikasikan potensi antidiabetes kuat dari ekstrak daun *S. aqueum* yang mendukung penggunaan tanaman tersebut dalam praktik etnofarmakologi untuk pengelolaan diabetes (Yassir et al, 2022). Penelitian *in vivo* pada tikus diabetes yang diinduksi *streptozotocin* juga menunjukkan efek protektif ekstrak daun *S. aqueum* terhadap kerusakan pankreas akibat stres oksidatif. Ekstrak ini meningkatkan sekresi insulin, menurunkan kerusakan akibat ROS, memperbaiki struktur pulau Langerhans, serta mengurangi deposisi kolagen pada jaringan pankreas yang menegaskan potensi terapeutik ekstrak daun *S. aqueum* dalam pengobatan diabetes (Mahmoud et al., 2021).

1.5.2 Enzim α -Amilase

Enzim amilase merupakan enzim yang mampu menghidrolisis amilum dan menghasilkan glukosa. Enzim amilase untuk kebutuhan industri diekstraksi dari berbagai jenis sel makhluk hidup, tetapi pada saat ini enzim lebih banyak diekstraksi dari berbagai jenis mikroorganisme karena mampu menghasilkan enzim dalam jenis dan jumlah yang beragam serta dapat dengan mudah dikultur untuk memperoleh enzim secara berkelanjutan (Dina et al., 2020). Enzim α -amilase merupakan enzim utama yang disekresikan oleh pankreas sekitar 5–6% serta terdapat juga didalam saliva dan berbagai jenis mikroorganisme. Enzim ini termasuk dalam kelompok endoenzim yang berperan menghidrolisis pati dengan memutus ikatan α -1,4-glikosidik secara acak pada molekul amilosa maupun amilopektin sehingga menghasilkan glukosa, maltosa, dan oligosakarida (Abdullah et al., 2025; Widiana et al., 2022). α -amilase saat ini digunakan dalam berbagai aplikasi industri, seperti produksi etanol, sirup jagung fruktosa tinggi, industri makanan, tekstil, kertas, dan deterjen (Far et al., 2020). Enzim ini juga memiliki potensi sebagai jalur pengobatan antidiabetes melalui mekanisme penghambatan aktivitas enzim yang berperan dalam pengendalian hiperglikemia postprandial pada penderita diabetes. Inhibisi terhadap enzim α -amilase dapat memperlambat pencernaan karbohidrat sehingga penyerapan glukosa oleh tubuh menjadi lebih rendah (Syafrizayanti et al.,



ase berfungsi menghidrolisis karbohidrat kompleks menjadi maltosa dan glukosa yang kemudian diserap di usus halus dan masuk ke otak melalui *blood-brain barrier* (BBB). Aktivitas enzim yang berlebihan menyebabkan peningkatan kadar glukosa darah dan glukosa karena itu, penghambatan terhadap enzim tersebut dapat

membantu menurunkan kadar glukosa darah dengan cara menekan proses pencernaan dan penyerapan karbohidrat (Klara et al., 2023).

1.5.3 Penelitian Terkait

Beberapa penelitian terkait dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Penelitian terkait

Judul Penelitian	Hasil Penelitian	Sumber Pustaka
Tropical Plant Extracts as Potential Antihyperglycemic Agents	Ekstrak etanolik <i>Peltophorum pterocarpum</i> , <i>Syzygium aqueum</i> , dan <i>Nephelium lappaceum</i> menunjukkan aktivitas penghambatan enzim dan antioksidan yang tinggi, melebihi <i>Garcinia mangostana</i> serta obat akarbosa.	Manaharan et al., 2012
Flavonoids isolated from <i>Syzygium aqueum</i> leaf extract as potential antihyperglycaemic agents	Ekstrak etanolik daun <i>Syzygium aqueum</i> efektif menghambat enzim α -glukosidase, α -amilase, dan aldose reduktase, serta mencegah pembentukan AGEs hingga 89%, lebih kuat dibandingkan obat akarbosa.	Manaharan et al., 2012
Perbandingan Kandungan Fenolik Total, Flavonoid Total dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Jambu Bol (<i>Syzygium Malaccense</i> L.) dan Daun Jambu Air Kancing (<i>Syzygium aqueum</i>)	Ekstrak etanol daun jambu air kancing memiliki kandungan fenolik total (14,3207 mg GAE/g) dan flavonoid total (16,5893 mg QE/g) yang lebih tinggi dibandingkan daun jambu bol, serta aktivitas antioksidan lebih kuat dengan nilai IC_{50} sebesar 117,6745 ppm.	Primadiastri et al., 2021
In Vitro Evaluation of Antidiabetic and Anti-Inflammatory Activities of Five Selected <i>Syzygium</i> Leaves	Daun <i>Syzygium</i> memiliki potensi sebagai obat antidiabetes dan antiinflamasi. <i>Syzygium Malaccense</i> menunjukkan daya penghambatan α -glukosidase yang kuat (IC_{50} = 76,235 μ g/mL), sementara <i>Syzygium polyanthum</i> efektif dalam menghambat denaturasi protein BSA (95,7 μ g/mL) dan <i>S. Malaccense</i> juga menghambat radikal bebas DPPH (90,320 μ g/mL).	Ekayanti et al., 2025



1.6 Hipotesis Penelitian

Hipotesis dalam penelitian ini adalah:

1. daun jambu air (*S. aqueum*) mengandung metabolit sekunder seperti flavonoid, fenolik, alkaloid, tanin, dan terpenoid yang dapat terdeteksi melalui analisis fitokimia
2. ekstrak n-heksana, etil asetat, dan etanol 96% dari daun jambu air (*S. aqueum*) memiliki aktivitas antioksidan dengan ekstrak etanol 96% menunjukkan aktivitas paling tinggi karena kemampuannya mengekstraksi senyawa polar seperti flavonoid dan fenolik
3. ekstrak n-heksana, etil asetat, dan etanol 96% dari daun jambu air (*S. aqueum*) memiliki aktivitas antidiabetes karena kandungan metabolit sekundernya diduga mampu menghambat aktivitas enzim α -amilase
4. ekstrak terbaik daun jambu air (*S. aqueum*) berdasarkan uji antioksidan dan penghambatan α -amilase mampu menurunkan kadar glukosa darah pada model hewan diabetes secara signifikan dibandingkan kontrol negatif.



BAB II

METODE PENELITIAN

2.1 Bahan Penelitian

Daun jambu air (*S. aqueum*), n-heksana (Merck), etil asetat (Merck), etanol 96% (technical grade), reagen Mayer (Merck), reagen Dragendorff (Merck), H_2SO_4 (Merck), $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ (Merck), FeCl_3 (Merck), anhidrida asam asetat (Sigma-Aldrich), kuersetin (Sigma-Aldrich), AlCl_3 10% (Merck), kalium asetat 1 M (Merck), etanol p.a. (Merck), asam galat (Sigma-Aldrich), reagen Folin–Ciocalteu (Merck), Na_2CO_3 7% (Merck), enzim α -amilase, buffer fosfat pH 7, substrat pati (Merck), reagen asam dinitrosalisilat (Sigma), acarbose (Bayer), ABTS (Sigma), kalium persulfat (Sigma), asam askorbat (Merck), metanol p.a. (Merck), Na-CMC (Merck), aloksan (Sigma), metformin 500 mg (Kimia Farma), pakan standar (Comfeed), strip glukometer (Gluco DR), eter alkohol (Merck), kapas medis, dan akuades.

2.2 Alat Penelitian

Pipet ukur, pipet tetes, mikropipet (100-1000 μL), gelas kimia, labu ukur, gelas ukur, tabung reaksi, erlenmeyer, sendok tanduk, batang pengaduk, neraca analitik, botol semprot, botol vial, aluminium foil, magnetic bar, hotplate magnetic stirrer, toples 2L, lumpang, alu, kertas saring, plastik wrap, termometer, vortex, oven, blender, serangkaian alat rotary evaporator (Hahn Shin Scientific, HS-2000NS), instrumen Fourier transform infra-red (Shimadzu, IRPrestige21), Spektrofotometer UV-Vis (T60 UV-Vis), Gas chromatography- Mass spectroscopy (Thermo Scientific™ TRACE™ 1310 GC coupled with an ISQ™ 7000 mass spectrometer), spoit 0,5 mL, sonde menci, glukometer (Gluco Dr), dan pH meter.

2.3 Waktu dan Tempat

2.3.1 Waktu dan Tempat Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel daun jambu air (*S. aqueum*) diperoleh dari kelurahan Paccerakkang, Kota Makassar, Sulawesi Selatan. Sampel tanaman tersebut kemudian diidentifikasi dan dideterminasi secara botani di Laboratorium Botani, Departemen Biologi, Universitas Hasanuddin.

2.3.2 Waktu dan Tempat Penelitian



Penelitian dilaksanakan pada bulan Februari 2025 hingga Agustus 2025 di Laboratorium Kimia Anorganik, dan Laboratorium Kimia Organik, Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, dan Laboratorium Ekologi dan Toksikologi Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin.

2.4 Prosedur Penelitian

2.4.1 Preparasi Ekstraksi Daun Jambu Air (*S. aqueum*)

Daun jambu air (*S. aqueum*) di oven sampai kering pada suhu 45 °C dengan tujuan simplisia tidak mudah rusak dan tidak terjadi kerusakan komposisi kandungan senyawa. Simplisia yang sudah kering diblender dan diayak dengan ayakan ukuran 50 mesh (Sobatinasab et al., 2024). Bagan kerja uji alkaloid dapat dilihat pada Lampiran 2. Daun jambu air (*S. aqueum*) diekstraksi dengan metode maserasi secara bertingkat dengan menggunakan pelarut *n*-heksana, etil asetat dan etanol 96%. Maserasi dilakukan dengan cara sampel yang sudah kering ditimbang sebanyak 200 gram dimasukkan kedalam bejana maserasi dan ditambahkan 2 liter pelarut *n*-heksana, etil asetat dan etanol 96% secara bertahap setiap 24 jam hingga semua simplisia terendam. Kemudian proses maserasi dilakukan selama 1x24 jam sambil sekali-kali diaduk dan rendamen disaring menggunakan corong buchner dan didapatkan antara ampas dan filtratnya. Ampas yang diperoleh dimaserasi kembali selama 1x24 jam dengan pelarut yang berbeda dan perlakuan yang sama. Ekstrak yang sudah ditampung kemudian dipekatkan dengan *rotary vacum evaporator* tekanan rendah pada suhu tidak lebih dari 50 °C. Bagan kerja metode ekstraksi dapat dilihat pada Lampiran 2. Masing-masing ekstrak kental dihitung persen rendamennya menggunakan Persamaan (1) (Agustina et al., 2018):

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{berat ekstrak (g)}}{\text{berat sampel (g)}} \times 100\% \quad (1)$$

2.4.2 Uji Fitokimia

Uji Flavonoid. Pengujian dilakukan dengan cara mengambil masing-masing sebanyak 2 mL sampel yang telah diekstraksi, kemudian ditambahkan $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$. Jika masing-masing larutan terbentuk endapan warna kuning, maka positif mengandung senyawa flavonoid (Octaviani et al., 2019). Bagan kerja uji flavonoid dapat dilihat pada Lampiran 3.

Uji Alkaloid. Pengujian dilakukan dengan mengambil masing-masing 2 mL sampel yang telah diekstraksi ke dalam 2 buah tabung reaksi yang berbeda. Setelah itu masing-masing ekstrak ditambah dengan 5 tetes reagen Dragendorff. Jika masing-masing larutan terbentuk endapan jingga maka positif mengandung alkaloid. Selanjutnya untuk pengujian alkaloid dengan menggunakan reagen Mayer dilakukan dengan cara mengambil masing-masing sebanyak 2 mL sampel buah maja yang telah diekstraksi dengan pelarut air dan etanol ke dalam 2 buah tabung reaksi yang berbeda. Setelah itu masing-masing ekstrak ditambah 3 tetes asam klorida pekat dan



r. Jika masing-masing larutan terbentuk endapan putih maka mengandung alkaloid (Nortjie et al., 2022). Bagan kerja uji alkaloid Lampiran 3.

pengujian dilakukan dengan cara mengambil masing-masing ekstrak ditambahkan dengan beberapa tetes larutan ferri yang berwarna kuning muda. Jika masing-masing larutan

terbentuk warna coklat kehijauan atau biru kehitaman maka positif mengandung tanin. Perubahan warna menjadi biru kehitaman menunjukkan adanya tanin golongan galat (*gallic tannins*), sedangkan warna hijau kehitaman menandakan keberadaan tanin golongan katekol (*catechol tannins*) (Auwal et al., 2014). Bagan kerja uji tanin dapat dilihat pada Lampiran 3.

Uji Saponin. Sebanyak 3 mL larutan ekstrak dalam air dicampurkan dengan 5 mL air suling di dalam tabung reaksi. Tabung kemudian ditutup rapat dan dikocok kuat selama ± 5 menit, kemudian didiamkan selama 30 menit. Munculnya buih (*foam*) yang stabil menyerupai sarang lebah (*honeycomb froth*) menandakan adanya senyawa saponin dalam ekstrak (Auwal et al., 2014). Bagan kerja uji saponin dapat dilihat pada Lampiran 3.

Uji Steroid-Terpenoid. Pengujian dilakukan dengan cara mengambil masing-masing 2 mL ekstrak dicampur dengan 1 mL anhidrida asetat dan 2 tetes H_2SO_4 pekat. Warna biru kehijauan menunjukkan steroid, sementara warna merah muda hingga ungu menunjukkan triterpenoid (Edeoga et al., 2005). Bagan kerja uji steroid-terpenoid dapat dilihat pada Lampiran 3.

2.4.3 Uji Flavonoid Total

Pembuatan Larutan Standar Quersetin. Quersetin ditimbang sebanyak 0,001 g dan dilarutkan dalam 100 mL etanol p.a sehingga diperoleh larutan stok dengan konsentrasi 10 ppm. Larutan stok tersebut dipipet sebanyak 0,25; 1; 2; 3; dan 4 mL dan dicukupkan volumenya dengan etanol p.a hingga 5 mL sehingga diperoleh konsentrasi 0,05; 0,2; 0,4; 0,6; dan 0,8 ppm. Setiap larutan kemudian ditambahkan 3 mL etanol p.a, 0,2 mL larutan $AlCl_3$ 10%, serta 0,2 mL larutan kalium asetat 1 M, lalu volumenya ditambahkan akuades hingga mencapai 10 mL. Campuran tersebut diinkubasi selama 30 menit pada suhu kamar, kemudian diukur nilai absorbansinya pada panjang gelombang 443 nm.

Penetapan Kadar Flavonoid Total. Ekstrak daun jambu air (*S. aqueum*) ditimbang sebanyak 0,01 g dan dilarutkan dalam 10 mL. Larutan tersebut dipipet sebanyak 5 mL kemudian ditambahkan 3 mL etanol p.a, 0,2 mL $AlCl_3$ 10%, 0,2 mL Kalium Asetat 1 M, dan dicukupkan dengan akuades hingga volume 10 mL. Larutan tersebut diinkubasi selama 30 menit pada suhu kamar dan diukur absorbansinya pada Spektrofotometri UV-Vis dengan panjang gelombang 443 nm. Sampel diuji secara triplo untuk setiap analisis. Bagan kerja uji flavonoid total dapat dilihat pada Lampiran 4. Kadar flavonoid dihitung dengan menggunakan Persamaan (2). Quercetin digunakan sebagai standar, dan hasilnya dinyatakan dalam miligram ekвивален quercetin per gram ekstrak (mg QE/g) (Aminah et al., 2017).



$$F = \frac{c \times V \times df}{m} \quad (2)$$

oid (mg QE/g)

in (mg/L)

V = volume total ekstrak (L)

df = faktor pengenceran

m = berat sampel (g)

2.4.4 Uji Fenolik Total

Pembuatan Larutan Standar Asam Galat. Sebanyak 0,001 g asam galat ditimbang dan dilarutkan dalam 10 mL dimetil sulfoksida (DMSO) hingga diperoleh konsentrasi 100 ppm. Larutan dipipet dengan 0,2; 0,4; 0,8; 1,6; dan 3,2 mL air dan ditepatkan hingga 5 mL dengan air suling hingga diperoleh konsentrasi berturut-turut 1, 2, 4, 8, dan 16 ppm. Setiap larutan ditambahkan 0,4 mL reagen Folin-Ciocalteu, dikocok, dan didiamkan selama 4-8 menit. Kemudian, 3 mL NaCO_3 7% dan air suling ditambahkan ke dalam larutan hingga volume total 10 mL, dan didiamkan selama 2 jam pada suhu ruang. Absorbansi diukur pada 733 nm (Rohman et al., 2007).

Penetapan Kadar Fenolik Total. Sebanyak 0,01 g ekstrak daun jambu air (*S. aqueum*) dilarutkan dalam 10 mL akuades. Penentuan kadar fenolik total dilakukan menggunakan metode Folin-Ciocalteu. Prinsip metode ini adalah reaksi redoks kolorimetrik yang mengukur total senyawa fenolik yang terdapat dalam sampel. Untuk pengujian, 0,4 mL ekstrak dan 0,4 mL reagen Folin-Ciocalteu ditambahkan ke dalam labu ukur 10 mL dan diaduk selama 5 menit. Selanjutnya, 4 mL larutan Na_2CO_3 7% ditambahkan, dan volumenya disesuaikan menjadi 10 mL dengan akuades. Campuran didiamkan selama 2 jam pada suhu ruang, dan absorbansinya diukur pada panjang gelombang 733 nm menggunakan spektrofotometer U-Vis. Pengujian dilakukan tiga kali. Total kadar fenolik dinyatakan sebagai total ekuivalen asam galat per 1 g ekstrak (mg GAE/g) (Rohman et al., 2007). Bagan kerja uji fenolik total dapat dilihat pada Lampiran 5. Total kandungan fenolik dihitung menggunakan Persamaan 3:

$$\text{Total kandungan fenolik (mg GAE/g)} = \frac{c \times V \times df}{m} \quad (3)$$

Keterangan:

c = ekuivalen *gallic acid* (mg/L)

V = volume total ekstrak (L)

df = faktor pengenceran

m = berat sampel (g)



Optimized using
trial version
www.balesio.com

Gugus Fungsi menggunakan *Fourier Transform Infra-Red*

Du air berdasarkan 3 pelarut dianalisis menggunakan *fra-red* untuk menentukan keberadaan gugus fungsi dalam ak daun jambu air. Ekstrak ditambahkan KBr secukupnya lalu dengan menggunakan lumpang dan alu. Ekstrak kemudian oven hingga kering, lalu digerus kembali dengan penambahan

KBr setara perbandingan 10 KBr : 1 sampel. Setelah tercampur merata, campuran dicetak menjadi cakram tipis kemudian dianalisis menggunakan instrumen FTIR (Dwisaksana dan Tukiran, 202). Bagan kerja analisis FTIR dapat dilihat pada Lampiran 6.

2.4.6 Analisis Gas Chromatography–Mass Spectrometry (GC-MS)

Ekstrak n-heksana daun jambu air (*S. aqueum*) dianalisis dengan menggunakan *Gas Chromatography- Mass Spectrometry* (Thermo Scientific™ TRACE™ 1310 GC coupled with an ISQ™ 7000 mass spectrometer). Data senyawa yang diperoleh dibandingkan dengan database *National Institute of Standard and Technology* (NIST) (Eswariaiah et al., 2020). Bagan kerja analisis GC-MS dapat dilihat pada Lampiran 7.

2.4.7 Uji Aktivitas Antioksidan

Pembuatan Larutan ABTS 100 ppm dan Larutan Kontrol. ABTS sebanyak 0,0071 g dilarutkan ke dalam 5 mL akuades dan 0,0035 g kalium persulfat dilarutkan dalam 5 mL akuades, kemudian kedua larutan dicampur ke dalam labu ukur 25 mL dan di inkubasi selama 15 jam. Selanjutnya, larutan yang telah diinkubasi dihimpitkan menggunakan metanol hingga tanda batas, sehingga diperoleh ABTS dengan konsentrasi 100 ppm. Larutan kontrol dibuat dengan cara dipipet sebanyak 1 mL ABTS 100 ppm ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan metanol sebanyak 4 mL dan dihomogenkan (Bibi et al., 2020).

Penentuan Panjang Gelombang Maksimum. Larutan kontrol ABTS yang sebelumnya telah dibuat diinkubasi di ruang gelap pada suhu 39 °C selama 30 menit. Larutan kontrol ABTS kemudian diukur absorbansinya menggunakan Spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 450-800 nm (Bibi et al., 2020).

Penentuan Aktivitas Antioksidan Larutan Pembanding Asam Askorbat. Asam askorbat ditimbang sebanyak 0,005 g dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL, kemudian dilarutkan dengan metanol p.a hingga tanda batas dan dihomogenkan, sehingga diperoleh larutan stok asam askorbat 500 ppm. Larutan stok dipipet sebanyak 0,1 mL ke dalam labu ukur 10 mL, kemudian ditambahkan metanol hingga tanda batas dan dihomogenkan untuk memperoleh larutan asam askorbat 5 ppm. Larutan pembanding asam askorbat dibuat dalam konsentrasi yaitu 0,25; 0,5; 1; 2; dan 4 ppm. Masing-masing larutan disiapkan dengan cara larutan stok 5 ppm dipipet sebanyak 0,125; 0,25; 0,5; 1; dan 2 mL ke dalam tabung reaksi yang berbeda, kemudian ditambahkan 1 mL larutan ABTS dan dicukupkan volumenya dengan metanol hingga 5 mL. Campuran dihomogenkan dan diinkubasi selama 30 menit pada suhu 39 °C dalam kondisi gelap. Setelah inkubasi, absorbansi larutan

menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 450-800 nm (Bibi et al., 2020).

Uji Aktivitas Antioksidan Daun Jambu Air (*S. aqueum*). Sediaan ekstrak daun jambu air sebanyak 0,05 g ke dalam labu ukur 10 mL dan dilarutkan dengan metanol hingga 10 mL (larutan induk sampel 5000 ppm). Sampel ekstrak kemudian diencerkan menjadi konsentrasi yakni 2 ppm, 4 ppm, 8 ppm, 16 ppm, dan 32 ppm.



ppm, dan untuk sampel ekstrak etil asetat dibuat dalam konsentrasi 2 ppm, 4 ppm, 8 ppm, 16 ppm, dan 32 ppm, sedangkan untuk sampel ekstrak etanol 96% dibuat dalam konsentrasi 0,5 ppm, 1 ppm, 2 ppm, 4 ppm, dan 8 ppm. Selanjutnya, masing-masing tabung reaksi yang telah diisi sampel ditambahkan 1 mL larutan ABTS, lalu ditambahkan metanol hingga volume mencapai 5 mL dan dihomogenkan. Larutan diinkubasi di ruang gelap pada suhu kamar selama 30 menit. Absorbansi larutan pembanding diukur pada panjang gelombang maksimum menggunakan Spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 743 nm (Bibi et al., 2020). Bagan kerja uji aktivitas antioksidan dapat dilihat pada Lampiran 8. Aktivitas antioksidan dari larutan pembanding dan sampel dinyatakan dalam persen inhibisi sampel terhadap ABTS. Aktivitas antioksidan dihitung dengan menggunakan Persamaan (4).

$$\text{Aktivitas antioksidan (\%)} = \frac{(\text{Absorban kontrol} - \text{Absorban sampel})}{\text{Absorban kontrol}} 100\% \quad (4)$$

Konsentrasi sampel dan aktivitas antioksidan kemudian dibuat dalam grafik sebagai sumbu x dan sumbu y. Nilai IC_{50} dihitung berdasarkan *regresi linear* perbandingan konsentrasi dan aktivitas antioksidan dengan menggunakan Persamaan (5).

$$y = ax + b, \text{ sehingga } x = \frac{y - b}{a} \quad (5)$$

Keterangan:

y = 50 ppm

a = *Slope*

b = *Intercept*

x = Nilai IC_{50} (ppm)

2.4.8 Uji Aktivitas Antidiabetes Secara *In Vitro*

Ekstrak daun jambu air (*S. aqueum*) sebanyak 0,5 mL ditambahkan 0,5 mL larutan enzim α -amilase ke dalam tabung reaksi dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 10 menit. Larutan tersebut kemudian ditambahkan larutan amilum 0,5% sebanyak 0,5 mL dan diinkubasi Kembali pada suhu 37 °C selama 30 menit, kemudian ditambahkan reagen DNS sebanyak 1,5 mL lalu dihomogenkan. Tabung reaksi dimasukkan kedalam penangas air dan dipanaskan pada suhu 90 °C selama 10 menit lalu didinginkan. Absorbansi tiap larutan diukur pada panjang gelombang 500 nm dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Perlakuan yang sama terhadap larutan blanko (tanpa penambahan enzim α -amilase), kontrol negatif (tanpa kontrol positif acarbose (Dimodifikasi dari Pambudi et al., uji aktivitas antidiabetes secara *in vitro* dapat dilihat pada ungan persen penghambatan enzim α -amilase dihitung naan (6).



$$(\%) = \frac{(\text{Absorban kontrol} - \text{Absorban sampel})}{\text{Absorban kontrol}} 100\% \quad (6)$$

Nilai IC₅₀ dihitung berdasarkan *regresi linear* ($y = ax + b$) dengan perbandingan konsentrasi sampel sebagai x dan nilai % penghambatan sebagai y. Penentuan nilai IC₅₀ dapat dihitung dengan menggunakan Persamaan (7) sebagai berikut (Wulandari et al., 2020). Prosedur yang sama dilakukan pada ekstrak lainnya.

$$IC_{50} = \frac{50 - b}{a} \quad (7)$$

2.4.9 Uji Aktivitas Antidiabetes Secara *In Vivo*

Penyiapan dan perlakuan hewan uji. Hewan uji yang digunakan adalah mencit jantan (*Mus musculus*) dengan bobot 20 - 40 g sebanyak 30 ekor dalam kondisi sehat. Aklimatisasi dilakukan selama 7 hari, dan hewan uji diberi pakan standar serta penggantian sekam secara rutin 2 kali dalam seminggu.

Perlakuan Hewan Uji. Perlakuan terhadap mencit dimulai pada hari ke-7 setelah masa adaptasi lingkungan. Sebelum dilakukan induksi aloksan, kadar glukosa darah puasa mencit terlebih dahulu diukur, mencit dipuasakan selama 16 jam tanpa diberikan makanan kecuali air minum. Selanjutnya mencit diinduksi dengan aloksan dengan dosis 150 mg/kgBB selama 72 jam secara *intraperitoneal* (i.p) sebanyak sehari satu kali. Kemudian dilakukan pengecekan kadar gula darah mencit setelah diinduksi aloksan. Mencit dinyatakan mengalami diabetes apabila kadar glukosa darah puasanya ≥ 200 mg/dL, sedangkan peningkatan >126 mg/dL digunakan sebagai indikator awal hiperglikemia (Özbilgin et al., 2019). Kelompok I berfungsi sebagai kelompok normal yang tidak mendapatkan perlakuan, sedangkan kelompok II, III, IV, V, dan VI diinduksi dengan aloksan pada dosis 150 mg/kgBB selama tiga hari untuk menginduksi kondisi diabetes. Perlakuan terhadap hewan uji berlangsung selama sembilan hari, dimulai pada hari ke-4 hingga hari ke-12. Sediaan uji diberikan kepada kelompok IV, V, dan VI selama sembilan hari berturut-turut. Pembagian kelompok hewan uji berdasarkan perlakuan yang dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Kelompok perlakuan hewan uji

Kelompok	Perlakuan Hewan Uji	
	Aloksan	Sediaan Uji
I (Normal)	-	-
II (Positif)	150 mg/Kg BB	Metformin 500 mg/Kg BB
III (Negatif)	150 mg/Kg BB	Na CMC 0,5%
IV (Sampel 1)	150 mg/Kg BB	Ekstrak sampel 100 mg/Kg BB
V (Sampel 2)	150 mg/Kg BB	Ekstrak sampel 200 mg/Kg BB
	150 mg/Kg BB	Ekstrak sampel 400 mg/Kg BB



p hewan uji berlangsung selama sembilan hari, dimulai pada ke-12. Pada periode perlakuan, kelompok II diberi suspensi ebagai kontrol negatif, kelompok III diberikan metformin dosis gai kontrol positif, sedangkan kelompok IV, V, dan VI kan ekstrak etanol daun jambu air pada dosis 100 mg/kgBB,

200 mg/kgBB, dan 400 mg/kgBB secara oral. Pemberian perlakuan dilakukan setiap hari dengan urutan, yaitu pemberian ekstrak atau kontrol terlebih dahulu, kemudian satu jam setelahnya diberikan pakan standar untuk semua kelompok. Data hasil pengukuran dibandingkan antara kelompok kontrol normal, kontrol negatif, kontrol positif, serta masing-masing kelompok perlakuan ekstrak. Bagan kerja uji aktivitas antidiabetes secara *in vivo* dapat dilihat pada Lampiran 10.

Pengukuran Kadar Glukosa Darah Hewan Uji. Pengukuran kadar glukosa darah pada mencit dilakukan menggunakan alat glukometer. Sampel darah diambil dari ekor mencit dengan cara membersihkan ujung ekor menggunakan kapas alkohol 70%, kemudian dikeringkan dengan tisu steril. Setelah itu, ujung ekor dilukai secara hati-hati menggunakan jarum steril hingga keluar sedikit darah. Darah yang keluar kemudian ditetaskan pada strip glukometer yang telah dipasang pada alat. Hasil pengukuran kadar glukosa darah akan muncul secara otomatis pada layar glukometer dalam satuan mg/dL. Setelah pengukuran, luka pada ekor dibersihkan kembali menggunakan kapas alkohol untuk mencegah infeksi, kemudian mencit dikembalikan ke kandang dan diamati hingga kondisi stabil (Fatmawati, 2024). Pengukuran kadar glukosa dilakukan sebelum perlakuan (hari ke-0) dan setelah pemberian ekstrak pada hari ke-3, ke-5, ke-7 dan ke-9. Nilai glukosa darah yang diperoleh digunakan untuk mengevaluasi pengaruh ekstrak terhadap kadar glukosa mencit uji.

