

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tumbuhan Legundi (*Vitex trifolia* L.)

Vitex adalah genus Verbenaceae terbesar, terdiri atas 250 spesies yang tersebar di seluruh dunia. Salah satu spesies dalam genus *Vitex* adalah *Vitex trifolia* L yaitu tanaman perdu yang tumbuh di daerah tropis lembab. Tanaman ini berasal dari Afrika Timur dan tersebar di Indonesia dengan memiliki beberapa nama daerah seperti Langundi (Minangkabau), Gandasari (Palembang), Lagundi (Melayu), Lagondi (Sunda), Legundi (Jawa Tengah), Langundi (Madura), Garmi (Sumba), Sangan (Bima), Lola (Makassar), lawarani (Bugis), man jing zi (Cina) (Heim 2015; Herbie 2015). Legundi (*Vitex trifolia* L.) merupakan tanaman famili Verbenaceae yang memiliki klasifikasi taksonomi sebagai berikut:

Kingdom : Plantae

Phylum : Tracheophyta

Class : Magnoliopsida

Order : Lamiales

Family : Verbenaceae/Lamiaceae

Genus : *Vitex*

Species : *Trifolia*

(Tiwari & Talreja, 2020)

2.1.1 Morfologi



Gambar 2.1 Tanaman Legundi (*Vitex trifolia* L.) (Sumber : Koleksi Pribadi)

Tanaman legundi (*Vitex trifolia* L.) tumbuh setinggi 1-3,5 meter, daun majemuk, jumlah helaian daun tiap tangkai sebanyak 3 buah, berbentuk lonjong agak patah, pangkal runcing, dan pipih. Tepi rata, tidak beraturan, pertulangan

daun menyirip, menonjol di bagian bawah, ibu tulang daun terlihat jelas, dan kasar di kedua sisi. Permukaan atas berwarna hitam kehijauan dan permukaan bawah berwarna putih agak keabu-abuan, bau khas, rasa pahit. Tangkai daun yang umum sepanjang 1,3-1,6 cm dengan pembungaan terjadi selama musim panas. Tanaman legundi ini merupakan jenis tanaman semak yang bertumbuh cepat (Depkes RI, 2017; Tiwari & Talreja, 2020)

Daun mempunyai permukaan adaksial halus dengan tebal 140 μm di sepanjang bagian bergerigi daun dan tebal 120 μm di antara punggung daun. Epidermis adaksial tebal dan menonjol dengan sel persegi panjang dan lapisan subepidermal berdinding cukup tebal dengan kutikula setipis 10 μm . Lapisan hipodermal tebalnya 15 μm . Pelepahnya tebal. Lapisan epidermisnya sempit dengan sel-sel kecil. Jaringan dasar pelepah terdiri dari sel parenkim kompak berdinding tipis berbentuk lingkaran. Sistem pembuluh darah pelepah mempunyai untaian pembuluh darah yang terdiri dari beberapa baris xilem sejajar yang berjumlah sekitar enam sel bersudut dan berdinding tebal dengan ruang parenkim sempit di antara baris xilem. Adaksial berbentuk lingkaran dan kolateral, epidermis abaksial sempit dengan trikoma non kelenjar yang padat. Mesofil terdiri dari empat lapisan sel silinder. Ketinggian sel palisade dan parenkim bunga karang berkurang secara bertahap menuju bagian bawah (Suchitra et al, 2018).

2.1.2 Kandungan Senyawa Kimia

Tanaman legundi (*Vitex trifolia* L.) mengandung senyawa flavonoid, protein, tanin, fitosterol, polifenol dan saponin. Buah *V. trifolia* mengandung minyak atsiri, *Vitex trifolia* A-G, monoterpen, diterpen, *dihydrosolidagenones*, β -sitosterol-3-O-glucoside, *terpineol*, α -pinene, 3,6,7-trimethyl terdiri dari quercetagenin, asam heksanoat. Asam diklorometanoat diekstraksi dari batangnya. Enam flavonoid diisolasi. Lima belas senyawa diisolasi dari *V. Trifolia*. Daun dan kulit batangnya mengandung minyak atsiri, flavon, artemetine, 7-dimethylartemethine, *friedelin*, serta beberapa non-flavonoid dan alkaloid. *Caryophyllene* adalah seskuiterpen utama. Alkaloid baru seperti

vitricin, diisolasi dari tanaman *V. trifolia* dan mengandung asam palmitat, asam etil-p-hidroksibenzoat, asam 3,4-dihidroksibenzoat, asam 4-hidroksi-3-metoksibenzoat, asam *caffeic*, asam hidroksietil sinamat, luteolin, kuersetin, apigenin, *casticin*, 3,6,7-trimethylquercetagenin. Kajian fitokimia fraksi etil asetat menunjukkan adanya stigmatol, asam *caffeic*, 7-O-glucopyranoside, 3,6,4'-trimethoxyquercetin-7-O-glucopyranoside dan quercetin-7-O-neohesperidoside (Tiwari & Talreja, 2020).

2.1.3 Uji Aktivitas Tanaman Legundi (*Vitex trifolia* L.)

Analisis fitokimia pada tanaman Legundi (*Vitex trifolia* L.) menunjukkan adanya senyawa fenol, flavonoid, tanin, saponin, alkaloid, minyak atsiri dan lemak. Penelitian ini menemukan bahwa Legundi (*Vitex trifolia* L.) merupakan sumber yang kaya akan fitokonstituen sekunder yang memberikan pengaruh signifikan. Studi fitokimia tersebut dilakukan terhadap tanaman Legundi (*Vitex trifolia* L.) dan sudah mengarah pada isolasi diterpenoid, triterpenoid, flavonoid. Kandungan senyawa tersebut yang terkandung dalam tanaman Legundi (*Vitex trifolia* L.) dapat memberikan aktivitas, seperti menurut Parkhe, Geeta and Deepak Bharti., (2019) menemukan bahwa daun Legundi (*Vitex trifolia* L.) memiliki aktivitas fenol total dengan hasil 0.178 mg/100mg *dried extrect* (etil asetat), 0.214 mg/100mg *dried extrect* (etanol), 0.174 mg/100mg *dried extrect* (aqueous) dan flavonoid total dengan hasil 0.098 mg/100mg *dried extrect* (etil asetat), 0.125 mg/100mg *dried extrect* (etanol), 0.085 mg/100mg *dried extrect* (aqueous). Menurut Saklani et al., (2017) menemukan bahwa daun Legundi (*Vitex trifolia* L.) memiliki aktivitas total fenol dan flavonoid total dengan masing-masing nilai sebesar 77.20 ± 0.22 mg GAE/g dan 57.41 ± 0.37 mg QE/g, ditemukan pun aktivitas antioksidan dengan nilai IC₅₀ senyawa uji dengan pembandingan masing-masing nilai sebesar 81.72 µg/mL dan 40 µg/mL.

Uji aktivitas anti-hiperglikemik dilakukan secara *in vivo*, pengujian dilakukan dengan melihat adanya penurunan nilai kadar gula darah yang diperoleh sebelum administrasi obat dan sesudah kemudian dibandingkan

antara senyawa uji dan kontrol. Nilai diperoleh 84.21 mg/dL (kontrol), 87.521 md/dL (senyawa uji dosis 100mg/kg) 85.331 mg/dL (senyawa uji dosis 200mg/kg) sebelum administrasi obat, sedangkan hasil akhir diperoleh setelah pemberian obat selama 120 menit nilai kadar darah turun dengan hasil sebagai berikut 84.30 mg/dL (kontrol), 83.40 md/dL (senyawa uji dosis 100mg/kg) 79.581 mg/dL (senyawa uji dosis 200mg/kg) (Harsha M et al., 2020). Berdasarkan penelitian Harsha M et al., (2020) ditemukan bahwa Legundi (*Vitex trifolia* L.) memiliki aktivitas antidiabetes yang dapat menurunkan kadar gula darah. Selain pengujian secara in-vivo dapat diujikan juga secara in-vitro untuk uji aktivitas antihiperglikemik dengan metode instrumentasi melalui mekanisme kerja dengan menghambat enzim alfa glukosidase.

2.2 Manfaat Tanaman Legundi (*Vitex trifolia* L.)

Legundi (*Vitex trifolia* L.) merupakan tanaman obat yang dapat ditemukan di China, India, Indonesia, Sri Lanka, Australia, dan Singapura. Dalam laporan tinjauan, disebutkan bahwa *Vitex trifolia* L. digunakan secara tradisional untuk mengobati beberapa penyakit berbeda, termasuk nyeri sendi, infeksi kurap, kusta, ruam kulit dan lainnya. Menurut Talreja et al., (2020) bagian daun dapat menyembuhkan nyeri sendi, kurap, kusta, ruam kulit. Kemudian menurut Li et al., (2005) bagian buah dapat menyembuhkan sakit kepala, migrain, demam biasa, sakit mata, kanker. Jangwan et al., (2013) menyatakan bahwa bagian batang dan daun dapat menyembuhkan disentri, rematik, sendi terkilir. Sedangkan menurut Matsui et al., (2009) bagian daun dapat menyembuhkan sakit kepala, infeksi mulut dan inflamasi. Dan menurut Tiwari et al., (2013) Legundi (*Vitex trifolia* L.) biasa digunakan sebagai obat antidiabetes secara empiris.

2.3 Diabetes Mellitus

Diabetes melitus merupakan penyakit hiperglikemia akibat adanya gangguan dari fungsi insulin seperti; sekresi, gangguan kerja maupun keduanya. Penyakit ini merupakan kelainan metabolisme heterogen. Pasien diabetes dalam kategori hiperglikemia kronis berisiko mengalami komplikasi jangka panjang pada mikrovaskuler yang dapat mempengaruhi organ mata, ginjal dan syaraf serta

meningkatkan risiko penyakit kardiovaskular. Diabetes sendiri terbagi menjadi dua klasifikasi utama berdasarkan tipenya: diabetes tipe 1 dan diabetes tipe 2. Meskipun sulit untuk diklasifikasikan, misalnya seperti diabetes gestasional mengacu pada intoleransi glukosa dan terjadi atau pertama kali diketahui selama kehamilan. Berikut klasifikasi diabetes mellitus dikategorikan menjadi beberapa tipe, diantaranya adalah sebagai berikut : (Punthakee et al., 2018).

2.3.1 Diabetes Melitus tipe 1

Diabetes tipe 1 disebabkan oleh kerusakan sel β pancreas yang mengakibatkan kekurangan insulin, sehingga rentan menyebabkan terjadinya ketoasidosis. Diabetes mellitus tipe ini diperkirakan timbul akibat adanya proses destruksi autoimun dengan kasus etiologinya yang menghancurkan sel beta pankreas (Punthakee et al., 2018). Diabetes tipe 1 dibagi lagi menjadi penyebab yang diperantarai imun (tipe 1a) dan idiopatik (tipe 1b) (Katzung, 2018).

2.3.2 Diabetes Mellitus tipe 2

Diabetes tipe 2 terjadi akibat adanya resistensi insulin dominan dengan defisiensi insulin relatif . umumnya tidak terjadi ketosis pada penderita (Punthakee et al., 2018). Seseorang mungkin mempunyai resistensi yang lebih besar atau defisiensi sel beta yang lebih banyak, dan kelainannya mungkin ringan atau berat. Penderita diabetes tipe 2 pada awalnya dapat dikontrol dengan diet, olahraga dan obat penurun glukosa oral atau suntikan non-insulin. Namun, beberapa pasien mengalami kegagalan sel beta progresif dan pada akhirnya mungkin juga memerlukan terapi insulin (Katzung, 2018).

2.3.3 Diabetes tipe Gestational

Diabetes gestasional adalah intoleransi glukosa yang pertama kali terdeteksi selama kehamilan dan sebelumnya tidak memiliki riwayat penyakit diabetes (Punthakee et al., 2018). Selama kehamilan, resistensi insulin terjadi karena plasenta dan hormon plasenta sebagai penyebabnya, kondisi paling parah biasa terjadi pada trimester ketiga. Disarankan untuk memulai penilaian risiko diabetes pada kunjungan prenatal pertama. Wanita berisiko tinggi harus

segera dievaluasi. Pada wanita berisiko rendah, skrining dapat ditunda hingga usia kehamilan 24-28 minggu (Katzung, 2018)..

2.3.4 Diabetes tipe lainnya

Tipe spesifik lainnya mencakup beragam kondisi yang relatif jarang terjadi. Terutama diabetes spesifik yang berhubungan dengan genetik, penyakit lain atau penggunaan obat-obatan (Punthakee et al., 2018). Dalam pengobatannya menurut Katzung, (2018) pasien diabetes dapat menggunakan insulin dan obat anti-hiperglikemik oral. Pasien dengan riwayat penderita diabetes mellitus tipe 1 dapat diobati pada awalnya dengan agen hipoglikemik oral tetapi kemudian memerlukan insulin karena fungsi sel beta mereka menurun. Sedangkan untuk pasien riwayat penderita diabetes mellitus tipe II pada awalnya dapat dikontrol dengan diet, olahraga dan obat penurun glukosa oral atau suntikan non-insulin. Berdasarkan klasifikasi tersebut terdapat beberapa klasifikasi penggunaan obat dan tatalaksana pengobatan untuk pasien diabetes mellitus.

2.4 Terapi Diabetes Mellitus

2.4.1 Terapi insulin

Terapi pengobatan bagi pasien penderita diabetes mellitus tipe 1 yang diakibatkan karena adanya penghancuran sel b autoimun, sehingga menyebabkan defisiensi insulin absolut memerlukan terapi menggunakan insulin. (Elsayed et al., 2023). Terdapat juga enam analog insulin manusia. Tiga analognya bekerja cepat: insulin lispro, insulin aspart, dan insulin glulisine; dan tiga insulin kerja panjang: insulin glargine, insulin detemir, dan insulin degludec (Katzung, 2018).

2.4.2 Terapi Obat Anti Hiperglikemik Oral

Pengobatan dengan agen hipoglikemik oral sering digunakan untuk mengobati pasien dengan riwayat diabetes tipe 2 karena hilangnya sekresi insulin sel beta yang memadai secara progresif non-autoimun yang disebabkan oleh resistensi insulin atau sindrom metabolik. Menurut Katzung (2018), ada beberapa kategori obat hipoglikemik yang tersedia untuk pasien diabetes tipe

2. Seperti obat yang mengikat reseptor sulfonilurea dan merangsang sekresi insulin (sulfonilurea, meglitinida, turunan D-fenilalanin); obat yang meningkatkan glukosa; kadar yang mengurangi efek pada hati, otot, dan jaringan adiposa (biguanida, tiazolidinedion), obat yang pada dasarnya memperlambat penyerapan glukosa di usus (inhibitor alfa-glukosidase), obat yang meniru kerja inkretin, atau obat yang memperpanjang kerja inkretin (agonis reseptor GLP-1, inhibitor dipeptidyl peptidase-4 [DPP-4]), obat yang menghambat reabsorpsi glukosa ginjal (sodium-glucose cotransporter inhibitors [SGLT]), dan mekanisme yang berbeda atau tidak jelas.obat yang bekerja melalui mekanisme serupa (Praminade, Bromokriptin, Colesevelam).

a. Sulfonilurea

Mekanisme kerja obat golongan ini dapat merangsang sekresi insulin dari granul sel-sel β -langerhans pankreas. Berikatan dengan reseptor sulfonilurea dengan afinitas tinggi sebesar 140-kDa yang berhubungan dengan saluran kalium sensitif ATP ke dalam sel beta. Obat-obatan yang termasuk kedalam golongan ini diantaranya tolbutamid, chlorpropamide, tolazamide dan acetohexamid untuk generasi pertama sedangkan glyburide, glipizide, glimepiride dan gliclazide untuk generasi kedua (Katzung, 2018).

b. Meglitinide

Mekanisme obat serupa dengan sulfonylurea, golongan ini merangsang insulin dengan menutup kanal K yang *ATP-independent* di sel β -langerhans pancreas. Obat-obatan yang termasuk kedalam golongan ini diantaranya repaglinide dan mitiglinide (Katzung, 2018).

c. D- phenylalanine derivative

Mekanisme kerja obat golongan turunan d-fenilalanin bekerja dengan merangsang pelepasan insulin secara cepat dan sementara dari sel beta melalui penutupan saluran K^+ yang sensitif terhadap ATP. Obat-obatan yang termasuk kedalam golongan ini adalah nateglinide (Katzung, 2018).

d. Biguanid

Mekanisme kerja obat golongan ini secara lengkap terkait mekanisme kerja biguanida masih belum diketahui, namun efek utamanya adalah mengurangi produksi glukosa hati dengan mengaktifkan enzim AMP-activated protein kinase (AMPK). Salah satu obat dari golongan ini merupakan metformin (Katzung, 2018).

e. Tiazolidine

Mekanisme kerja obat golongan ini adalah meningkatkan sensitivitas insulin pada otot, jaringan adiposa, dan hati dengan cara berikatan melalui (PPAR- γ) sehingga membentuk kompleks dan menghasilkan GLUT baru yang menyebabkan penurunan resistensi insulin. Kelompok obat ini antara lain pioglitazone dan rosiglitazone (Katzung, 2018).

f. GLP-1 Inhibitors

Agonis reseptor Glucagon-like peptide 1 (GLP-1) memiliki mekanisme kerja untuk menurunkan sekresi glukagon dengan meningkatkan sekresi insulin. Mekanisme kerjanya berbasis inkretin pada saluran pencernaan terutama usus. Obat-obatan yang termasuk kedalam golongan ini diantaranya exenatide, liraglutide, albiglutide dan dulaglutide (Katzung, 2018).

g. DPP4- Inhibitors

Inhibitor DPP-4 bekerja dengan meningkatkan sekresi insulin dengan cara yang bergantung pada glukosa, melalui enzim DPP-4 yang dihambat serta menonaktifkan inkretin. Inkretin, sebaliknya, merangsang sekresi insulin dan menekan pelepasan glukagon. Obat yang termasuk adalah sitagliptin, vildagliptin, saxagliptin, dan alogliptin (Simatupang A, 2019).

h. SGLT2 Inhibitors

SGLT2 adalah transporter di tubulus proksimal yang menyerap kembali glukosa dari lumen tubulus. Dengan menghambat reabsorpsi

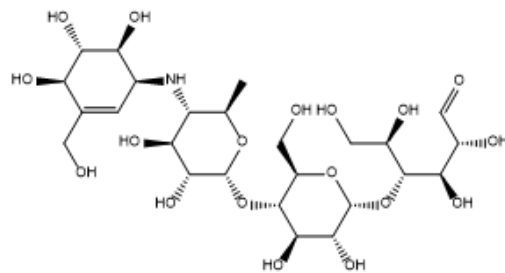
glukosa, glukosa diekskresikan melalui urin sehingga kadar glukosa plasma berkurang. Inhibitor SGLT2 menurunkan kadar gula darah dengan mengubah ambang batas ginjal daripada kerja insulin. Inhibitor SGLT2 canagliflozin, dapagliflozin, dan empagliflozin semuanya merupakan obat oral dan telah disetujui untuk penggunaan klinis (Katzung, 2018).

i. α -glucosidase inhibitors

Mekanisme kerja obat golongan ini adalah secara kompetitif menghambat enzim α -glukosidase di usus, dengan memperlambat pencernaan dan penyerapan pati dan disakarida sehingga dapat mengurangi pergerakan glukosa postprandial. Golongan obat ini antara lain acarbose dan miglitol (Katzung, 2018).

2.5 Inhibisi Alpha Glukosidase

Inhibitor α -Glukosidase mengurangi penyerapan pati, disakarida dan dekstrin didalam usus dengan menghambat kerja α -glukosidase di *brush border* usus. Obat-obatan ini juga meningkatkan pelepasan hormon glukoregulator GLP-1 ke dalam sirkulasi, yang mungkin berkontribusi terhadap efek penurunan glukosa. Obat golongan ini adalah akarbose, miglitol, dan voglibos (Goodman&Gilman's, 2018).

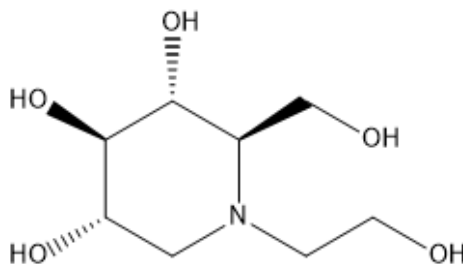


Gambar 2.2 Struktur Akarbosa (Sumber: Koleksi Pribadi, ChemDraw)

Acarbose bekerja menghambat glikosida hidrolase, khususnya alfa-glukosidase, yang memecah karbohidrat di *brush border* usus. Penghambatan ini mengurangi rasio karbohidrat kompleks dan sederhana yang diserap usus. Efek jangka

pendek pada penderita diabetes tipe 2 adalah penurunan gula darah, sedangkan efek jangka panjang adalah penurunan HbA1c (Simatupang A, 2019).

Pengobatan akarbosa diinisiasi dengan dosis awal 50 mg dua kali sehari dengan peningkatan bertahap hingga 100 mg tiga kali sehari. Efek dari konsumsi obat tersebut dapat menurunkan kadar glukosa post prandial sebesar 30-50%. (Katzung, 2018). Efek Samping Akarbosa sering menyebabkan gangguan gastrointestinal, terutama perut kembung karena aksi bakteri pada karbohidrat yang tidak terserap di usus besar. Distensi perut, diare, dan nyeri dapat terjadi. Ileus jarang dilaporkan. Toksisitas hepato dapat terjadi dan mungkin memerlukan pengurangan dosis atau penghentian obat. Reaksi kulit jarang terjadi. Sangat jarang dilaporkan adanya edema (Goodman&Gilman's, 2018).



Gambar 2.3 Struktur Miglitol (Sumber: Koleksi Pribadi, *ChemDraw*)

Obat ini tidak bekerja langsung terhadap jumlah insulin, tetapi memperlambat proses pencernaan karbohidrat di dalam tubuh. Terapi miglitol dibagi atas dosis inisiasi dan pemeliharaan, dimulai dengan dosis 25 mg tiga kali sehari. Kemudian dilanjutkan konsumsi 50 mg tiga kali sehari untuk dosis pemeliharaan, namun beberapa pasien mungkin memerlukan 100 mg tiga kali sehari (Katzung, 2018). Efek samping yang dapat terjadi sama seperti akarbosa namun ruam kulit mungkin terjadi. Pada pasien dengan gangguan ginjal miglitol harus digunakan dengan hati-hati (Goodman&Gilman's, 2018).

Umumnya efek samping yang sering terjadi pada obat-obatan golongan penghambat α -glukosidase sering ditemukan seperti perut kembung, diare, dan sakit perut yang diakibatkan oleh tidak tercernanya karbohidrat di usus besar sehingga

melepaskan gas karena asam lemak difermentasi menjadi rantai pendek (Katzung, 2018). Efek samping yang terjadi terhadap pasien dengan pengguna obat anti-hiperglikemik oral tersebut dapat diminimalisir dengan penggunaan obat alternatif dari bahan alam yang memiliki aktivitas inhibisi enzim alfa glukosidase seperti *Vitex trifolia* L. Secara empiris Tiwari *et al.*, (2013) Di India, tanaman *Vitex trifolia* L. secara turun temurun banyak digunakan sebagai obat tradisional antidiabetes. Selain itu, tanaman *Vitex trifolia* L. mengandung senyawa bioaktif seperti flavonoid dan fenol yang diduga berpotensi menghambat enzim α -glukosidase (Prasanna *et al.* , 2012).

2.6 Uji Aktivitas Inhibisi Alpha Glukosidase

Uji penghambatan alfa Glukosidase dilakukan dalam tabung kuvet atau pun dalam pelat mikrodilusi. Penggunaan dan pengembangan metode skala mikro dilakukan untuk menilai aktivitas penghambatan α -glukosidase. Keuntungan bekerja pada skala mikro antara lain adalah rendahnya kuantitas bahan kimia yang dibutuhkan, sehingga biaya bahan kimia dapat dikurangi, pembuangan bahan kimia setelah melakukan percobaan menjadi lebih mudah, dan bahaya keselamatan seringkali berkurang, dan banyak eksperimen dapat dilakukan dengan cukup cepat (Granados-Guzmán *et al.*, 2017).

Post prandial Hiperglikemia (PPHG) adalah suatu kondisi yang ditandai oleh peningkatan glukosa darah yang tidak normal dan telah dikaitkan dengan diabetes tipe II. Hidrolisis karbohidrat dalam makanan merupakan sumber utama glukosa darah. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa penghambatan ion karbohidrat menghidrolisis enzim akan memperlambat penyerapan glukosa, sehingga menurunkan Post prandial Hiperglikemia (PPHG) (Granados-Guzmán *et al.*, 2017)

Alpha Glucosidases adalah enzim yang terletak di membran sel kecil di nepithelium. Bertanggung jawab atas hidrolisis molekul pati makanan, yang menghasilkan pelepasan glukosa bebas. Salah satu metode yang digunakan untuk mengevaluasi aktivitas aktivitas alpha glukosidase adalah berdasarkan pada penentuan spektrofotometri ini dari p-nitrofenol (pNP) yang dilepaskan dari p-nitrophenyl α -D-glucopyranoside (p-NPG) disubstitusi oleh aksi dari enzim.(Granados-Guzmán *et al.*, 2017).

Uji penghambatan α -glukosidase didasarkan pada deteksi p-nitrofenoksida, yang berasal dari nitrofenol dalam media basa. P-nitrofenol dilepaskan dari p-NPG melalui aksi enzim glukosidase pada panjang gelombang 405 nm. Persentase penghambatan (penurunan spesies penyerapan cahaya, p-nitrofenoksida) dihitung tanpa adanya zat penghambat (kontrol negatif, 100% aktivitas enzim) dan dengan adanya zat penghambat. Persentase penghambatan ini dianggap sebagai respon dari metode tersebut. Untuk melakukan optimasi, terlebih dahulu dilakukan screening untuk mengetahui faktor-faktor yang berpengaruh besar, dengan mempertimbangkan parameter berikut: konsentrasi enzim, konsentrasi substrat para-nitrofenil α -D-glukopyranoside, konsentrasi buffer, pH, suhu inkubasi, waktu preinkubasi, waktu inkubasi, konsentrasi albumin, dan konsentrasi natrium karbonat (Granados-Guzmán et al., 2017).