BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Diabetes Melitus

Diabetes adalah penyakit kronis yang muncul akibat kurangnya produksi atau bahkan tidak memproduksi sama sekali insulin. Insulin dibutuhkan untuk membantu menyerap glukosa dalam darah ke tubuh. Tanpa adanya insulin, maka glukosa tidak dapat diserap oleh tubuh (WHO, 2023).

Gejala yang dapat dirasakan ketika diabetes tidak dikontrol dengan baik adalah merasa haus, buang air kecil lebih sering daripada biasanya, penglihatan kabur, merasa lelah dan turunnya berat badan. Orang dengan diabetes memiliki risiko tinggi terhadap masalah kesehatan seperti serangan jantung, stroke dan gagal ginjal (Forouhi and Wareham, 2019).

Diagnosa awal dapat dilakukan dengan cara cek glukosa dalam darah. Normalnya kadar glukosa dalam darah tidak lebih dari 200 mg/dL dan glukosa darah puasa tidak lebih dari 126 mg/dL. Bila ketika dicek glukosa darah tidak dalam rentang tersebut, maka bisa diindikasi awal bahwa pasien tersebut memiliki penyakit Diabetes (Petersmann *et al.*, 2019).

2.2 Tumbuhan Hanggasa (Amomum dealbatum Roxb.)

Tumbuhan Hanggasa (*Amomum dealbatum* Roxb.) merupakan jenis tumbuhan yang termasuk ke dalam suku *Zingeberaceae* yang sering ditemukan di Indonesia, dikenal dengan berbagai nama lokal seperti Hanggasa, Renggak atau Wresah. Tumbuhan Hanggasa memiliki daun berbentuk lonjong, melengkung dan putih seperti beludru dengan panjang sekitar 30 sampai 90 cm dan lebar sekitar 10 sampai 20 cm, tinggi tumbuhannya sekitar 2 sampai 3 meter. Buah dari tumbuhan ini memiliki rasa yang manis dan terkadang agak sedikit masam.

Hanggasa umumnya tumbuh subur di tepi-tepi hutan atau kebun, terutama di tanah yang lembab dan kaya humus (Muliasari, 2019). Secara tradisional, tumbuhan Hanggasa (*Amomum dealbatum* Roxb.) telah digunakan dalam pengobatan herbal

untuk berbagai gangguan kesehatan seperti gangguan pencernaan, nyeri sendi, rematik otot, antiseptik dan diabetes (Kusuma *et al.*, 2021; Chelleng *et al.*, 2023). Adapun klasifikasi dari tumbuhan ini adalah (Newman *et al.*, 2004):

• Kingdom : Plantae

Subkingdom: TracheobiontaSuperdivisi: SpermatophytaDivisi: Magnoliophyta

• Kelas : Liliopsida

Subkelas : CommelinidaeOrdo : ZingiberalesFamili : Zingiberaceae

• Genus : Amomum

• Spesies : *Amomum dealbatum* Roxb.

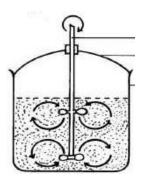
Aktivitas farmakologi yang telah diketahui dari tumbuhan ini adalah pada ekstrak etanol buah Hanggasa memiliki aktivitas antibakteri pada *Bacillus cereus* (Kusuma *et al.*, 2021) dan memiliki aktivitas antioksidan pada ekstrak daun Hanggasa dengan nilai IC₅₀ sebesar 149,59 μg/mL dengan menggunakan metode DPPH (Mustariani, 2021).



Gambar 2. 1 Tumbuhan Amomum dealbatum Roxb.

2.3 Ekstraksi Maserasi

Ekstraksi merupakan metode dalam memisahkan suatu zat di dalam sampel dengan pelarut yang sesuai. Terdapat beberapa metode ekstraksi yang dapat dilakukan, namun biasanya yang paling umum digunakan adalah metode maserasi. Ekstraksi maserasi dilakukan dengan cara memasukkan serbuk simplisia dan pelarut yang diinginkan ke dalam wadah yang tertutup rapat dan didiamkan selama beberapa hari. Metode ini memang cukup sederhana, namun tentunya terdapat kekurangannya yaitu proses ekstraksi yang lama, memerlukan pelarut yang banyak dan kemungkinan terdapat beberapa senyawa yang hilang. Penggunaan metode ini biasanya untuk menghindari risiko rusaknya senyawa yang bersifat termolabil. Ketika cairan pelarut dan serbuk simplisia tergabung dalam satu wadah. Cairan pelarut akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel, lalu melarutkan zat aktif yang diinginkan (Kemenkes RI, 2017).



Gambar 2. 2 Alat maserasi

2.4 Kromatografi

2.4.1 Kromatografi lapis tipis

Kromatografi lapis tipis merupakan sebuah metode yang digunakan untuk memisahkan senyawa dalam campurannya. Proses pemisahannya diakibatkan oleh adanya sistem yang terdiri atas dua fase, yaitu fase diam dan fase gerak. Fase diam dalam KLT merupakan lapisan tipis dengan serbuk halus yang dilapiskan pada plat kaca. Oleh karena itu, kromatografi ini disebut kromatografi lapis tipis.

Faktor Retensi (R_f) digunakan untuk mengukur pergerakan senyawa sepanjang plat KLT. R_f didefinisikan sebagai jarak tempuh komponen dibagi dengan total jarak tempuh fase gerak.

$R_{\rm f} = \frac{{\rm Jarak\ yang\ ditempuh\ komponen}}{{\rm Jarak\ tempuh\ fase\ gerak}}$

Umumnya, semakin kuat suatu senyawa berikatan dengan fase diam, maka semakin lambat migrasinya. Fase diam dari KLT berupa absorben yang bersifat polar, maka dari itu senyawa non polar akan bermigrasi lebih cepat dan mendapatkan R_f yang tinggi (Nurdiani, 2018).

2.4.2 Kromatografi kolom

Kromatografi kolom merupakan metode yang digunakan untuk memisahkan suatu senyawa dalam campuran. Pada kromatografi ini, biasanya digunakan silika gel atau alumina sebagai fase diam. Sampel dilarutkan bersama dengan pelarut yang sesuai atau dibuat serbuk bersama absorben. Fase diam dimasukkan terlebih dahulu ke dalam kolom, lalu selanjutnya sampel. Migrasi senyawa akan terjadi dimulai dari atas dan turun ke bawah. Fase gerak secara terus menerus ditambahkan ke dalam kolom. Komponen yang memiliki ikatan dengan fase diam akan memakan waktu yang cukup lama untuk terimigrasi.

Dalam pembuatan kolom terbagi atas dua jenis, yaitu cara kering dan cara basah. Untuk pembuatan kolom cara kering yaitu masukkan selapis pasir ke dalam kolom, lalu fase diam sedikit demi sedikit dan lakukan pemampatan. Kemudian, masukkan kertas saring dan alirkan pelarut sampai mengalir ke bawah melalui absorben. Untuk pembuatan kolom cara basah yaitu dengan mengisi sepertiga tabung dengan pelarut, lalu buat lumpuran fase diam dengan cara mencampurkan absorben dengan pelarut, kemudian tuangkan ke dalam tabung. Tunggu hingga mengendap dan sesekali diketuk agar diperoleh lapisan yang seragam (Nurdiani, 2018).

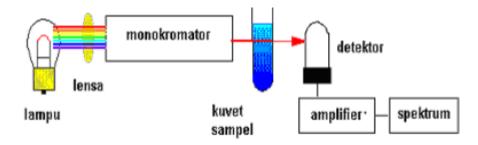
2.5 Spektrofotometri UV-VIS

Spektrofotometri UV-VIS adalah metode yang digunakan untuk mengukur panjang gelombang dan intensitas sinar UV dan VIS yang diserap oleh sampel. Ketika seberkas cahaya monokromatik ditembakkan pada sampel, maka energi cahaya tersebut akan diserap oleh sampel. Jumlah energi cahaya yang diserap itu

berbanding lurus dengan konsentrasi. Sebagai sumber cahaya biasanya digunakan lampu hidrogen atau deuterium untuk pengukuran UV dan lampu tungsten untuk pengukuran cahaya tampak. Untuk memisahkan setiap panjang gelombang digunakan prisma atau monokromator.

Hukum Lambert-Beer biasanya digunakan untuk mengetahui hubungan linearitas antara absorban dengan konsentrasi larutan sampel. Hukum Lambert-Beer biasanya ditulis dengan rumus $A = \varepsilon$.b.C yang dimana A merupakan absorban (serapan), ε = koefisien ekstingsi molar (M^{-1} cm $^{-1}$), b = tebal kuvet (cm), dan C = konsentrasi (M).

Untuk menentukan konsentrasi sampel menggunakan hukum Lambert-Beer, dapat dilakukan dengan mengukur banyaknya cahaya yang diabsorbsi sampel. Kemudian, dibuat larutan standar dalam berbagai variasi konsentrasi yang terukur, kemudian pengukuran dilakukan pada panjang gelombang yang sama dengan sampel. Absorban yang didapat, dicatat dan dibuat hubungan antara konsentrasi dengan absorban memakai persamaan garis lurus. Tak hanya itu, penggunaan spektrofotometri UV-VIS pun dapat digunakan untuk penentuan struktur. Dari spektrum absorpsi dapat diketahui panjang gelombang dengan serapan maksimum dari suatu unsur atau senyawa (Dachriyanus, 2004).



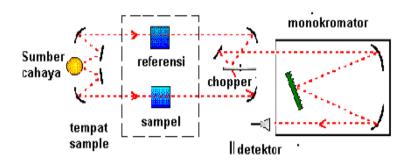
Gambar 2. 3 Skema alat spektrofotometer UV-VIS

2.6 Spektroskopi Inframerah

Spektroskopi infamerah merupakan suatu metode yang digunakan untuk mendeteksi interaksi molekul dengan radiasi elektromagnetik pada bilangan gelombang 13.000 – 10 cm⁻¹. Energi yang dipancarkan dalam radiasi ini mengakibatkan vibrasi pada molekul. Pita absorbansi inframerah memiliki

karakteristik yang unik dan spesifik untuk setiap jenis ikatan kimia atau gugus fungsi. Metode ini biasanya digunakan untuk mendeteksi senyawa organik dan organometalik. Jika suatu radiasi inframerah dilewatkan pada sebuah senyawa, maka akan terjadi penyerapan oleh senyawa tersebut. Detektor akan mendeteksi radiasi yang tidak diserap oleh senyawa. Banyaknya radiasi yang melewati senyawa akan dideteksi oleh detektor dan diukur sebagai persen transmitan.

Frekuensi vibrasi inframerah dipengaruhi oleh perubahan kecil pada molekul, sehingga sulit untuk menentukan struktur molekul hanya berdasarkan data spektrum inframerah. Akan tetapi, spektrum inframerah sangat berguna untuk mengidentifikasi senyawa dengan membandingkannya dengan spektrum standar, terutama pada daerah sidik jari karena setiap gugus fungsi memiliki spektrum yang khas. Secara praktikal, spektrum inframerah hanya dapat digunakan untuk menentukan gugus fungsi (Dachriyanus, 2004).



Gambar 2. 4 Skema alat spektroskopi inframerah

2.7 Enzim α-Glukosidase

Enzim adalah protein yang berfungsi sebagai katalis dalam suatu reaksi kimia organik. Enzim mempercepat reaksi kimia tanpa mengalami perubahan selama reaksi tersebut berlangsung. Enzim bekerja secara spesifik pada satu macam senyawa atau reaksi kimia. Hal ini disebabkan karena perbedaan struktur setiap enzim yang berbeda dan bahkan terdapat faktor yang mempengaruhi kerja enzim seperti substrat, pH, suhu, dan inhibitor.

Enzim α-glukosidase merupakan enzim yang membantu proses reaksi pemecahan karbohidrat menjadi glukosa pada saluran pencernaan. Makanan yang

mengandung karbohidrat seperti nasi, kentang atau ubi akan diubah menjadi glukosa di dalam usus dengan bantuan enzim ini (Elmanier, 2017).

HO HOW OH OH Maltose
$$\alpha$$
-glukosidase α -Glucose

Gambar 2. 5 Contoh reaksi enzimatis

2.8 Penghambat Enzim α-Glukosidase

Akarbosa berasal dari fermentasi mikroorganisme *Actinoplanes utahensis*. Akarbosa mempunyai rumus kimia $C_{25}H_{43}NO_{18}$ dan termasuk ke dalam golongan oligosakarida. Akarbosa merupakan salah satu obat diabetes oral yang sering digunakan dalam pengobatan diabetes tipe 2. Mekanisme kerjanya yaitu menghambat enzim α -glukosidase yang bertugas dalam mempercepat pemecahan sukrosa dan maltosa menjadi glukosa. Dengan menghambat enzim ini, maka akan memperlambat juga penumpukan glukosa dalam darah (McIver *et al.*, 2022).

Gambar 2. 6 Struktur kimia akarbosa

2.9 Pengujian Aktivitas Penghambat Enzim α-Glukosidase

Substrat p-Nitrofenil- α -D-Glukopiranosida (pNPG) digunakan untuk pengujian penghambatan aktivitas enzim α -glukosidase. Dengan produk akhir berupa glukosa dan p-nitrofenol. Mekanisme reaksi dapat dilihat pada Gambar 2.7.

Gambar 2. 7 Reaksi pNPG dan α -glukosidase

Pengumpulan data dilakukan dengan cara membaca nilai absorbansi menggunakan alat *microplate reader* pada panjang gelombang 405 nm. Sampel yang akan dibaca pada alat berupa *p*-nitrofenol yang berwarna kuning. Aktivitas enzim dapat ditentukan berdasarkan absorbansi *p*-nitrofenol yang didapat. Semakin rendah absorbansi yang didapat, maka semakin tinggi kemampuan sampel dalam menghambat aktivitas enzim (Qurrat-ul-Ain *et al.*, 2017).