

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Ekstraksi dan Fraksinasi Daun Pelawan (*Tristaniopsis merguensis*)

Ekstraksi pada penelitian ini menggunakan metode maserasi. Cara ekstraksi menggunakan maserasi cukup sederhana yaitu dengan merendam serbuk dalam pelarut dan dibiarkan dalam suhu ruangan dengan beberapa kali pengadukan. Metode maserasi dipilih karena merupakan metode ekstraksi cara dingin yang mudah dilakukan, penggunaan alat/caranya sederhana dan menghasilkan ekstrak dengan kadar senyawa aktif yang lebih tinggi. Menurut Hasanah dkk (2016) proses ekstraksi menggunakan metode maserasi lebih aman untuk semua metabolit sekunder yang tidak tahan selama pemanasan. Pemilihan pelarut aseton karena aseton mempunyai sifat semi polar sehingga akan melarutkan senyawa-senyawa baik bersifat polar maupun non polar. Aseton memiliki kelarutan yang relatif baik, tidak beracun dan dapat bercampur dengan air (Kusmiati, 2012).

Fraksinasi dilakukan untuk memisahkan senyawa kimia yang tidak diinginkan dan senyawa aktif yang terkandung pada daun pelawan berdasarkan tingkat kepolarannya. Ekstrak kental daun pelawan dilakukan fraksinasi secara partisi menggunakan corong pisah menggunakan 3 pelarut yang berbeda kepolarannya yaitu *n*-heksana, MeOH:air dan etil asetat.

Tabel. 4.1 Berat Fraksi Kental Daun Pelawan

Ekstrak Kental Daun Pelawan (gr)	Fraksi Kental Etil Asetat (gr)	Fraksi Kental n-heksana (gr)	Fraksi Kental MeOH:air (gr)
102,0216	13,8773	1,00	4,12

Menurut Mahardika dkk (2020) fraksinasi menggunakan pelarut *n*-heksan yang bersifat non polar adalah untuk menarik senyawa-senyawa non polar seperti steroid, klorofil dan terpenoid yang terdapat dalam ekstrak aseton daun pelawan. Penggunaan pelarut etil asetat bertujuan untuk memisahkan senyawa golongan polifenol ataupun flavonoid. Sedangkan pelarut metanol yang bersifat polar melarutkan senyawa yang bersifat polar seperti golongan fenol (Kusumaningtyas

dkk., 2008). Dari hasil fraksinasi berdasarkan pada Tabel 4.1 penggunaan pelarut etil asetat menghasilkan ekstrak kental paling banyak dibandingkan fraksi lainnya, jadi ekstrak daun pelawan banyak terdapat metabolit sekunder yang bersifat semi polar.

4.2 Hasil Uji Fitokimia dan Analisis FT-IR

Skrinning fitokimia dari ekstrak dan fraksi kental daun pelawan dilakukan untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder yang terdapat dalam daun pelawan. Hasil pengujian fitokimia ekstrak daun pelawan dan fraksi kental daun pelawan dapat dilihat pada Tabel 4.2.

Tabel 4.2 Hasil uji fitokimia dari ekstrak kental dan fraksi.

NO	Uji Fitokimia	Ekstrak	F. MeOH : air	F. Etil asetat	F. <i>n</i> -heksana	Hasil
1.	Alkaloid : P. Mayer	+	-	+	-	Terbentuk endapan putih kekuningan dan jingga.
	P. Wagner	+	-	+	-	
2.	Steroid	-	-	-	-	terbentuk warna larutan menjadi hijau.
3.	Saponin	-	-	-	-	Tidak terbentuk busa.
4.	Fenolik	+	-	+	-	Terbentuk warna hijau tua.
5.	Flavonoid	+	+	+	+	terbentuk warna kuning/jingga.

Skrinning fitokimia dari daun pelawan dilakukan untuk mengidentifikasi kandungan metabolit sekunder seperti alkaloid, steroid, saponin, fenolik dan flavonoid yang terdapat pada ekstrak dan fraksi daun pelawan. Identifikasi senyawa alkaloid pada sampel tanaman dilakukan dengan penambahan H₂SO₄. Fungsi

H₂SO₄ yaitu untuk membentuk garam alkalooid, karena alkalooid yang bersifat basa dapat larut dalam pelarut yang bersifat asam. Identifikasi alkalooid dengan pereaksi mayer, hasil positif alkalooid menunjukkan adanya endapan putih. Alkalooid memiliki pasangan elektron bebas pada atom nitrogen sehingga dapat membentuk ikatan kovalen koordinat dengan ion logam (McMurry, 2004). Atom nitrogen pada alkalooid bereaksi dengan ion logam K⁺ dari kalium tetraiodomerkurat (II) membentuk kalium-alkalooid kompleks yang mengendap.

Hasil positif alkalooid membentuk endapan coklat pada pereaksi Wagner. Endapan coklat tersebut merupakan iodine yang bereaksi dengan ion I⁻ dari kalium iodida menghasilkan ion I₃ yang berwarna coklat. Ion logam K⁺ akan membentuk ikatan kovalen koordinat dengan nitrogen membentuk kalium-alkalooid kompleks yang mengendap.

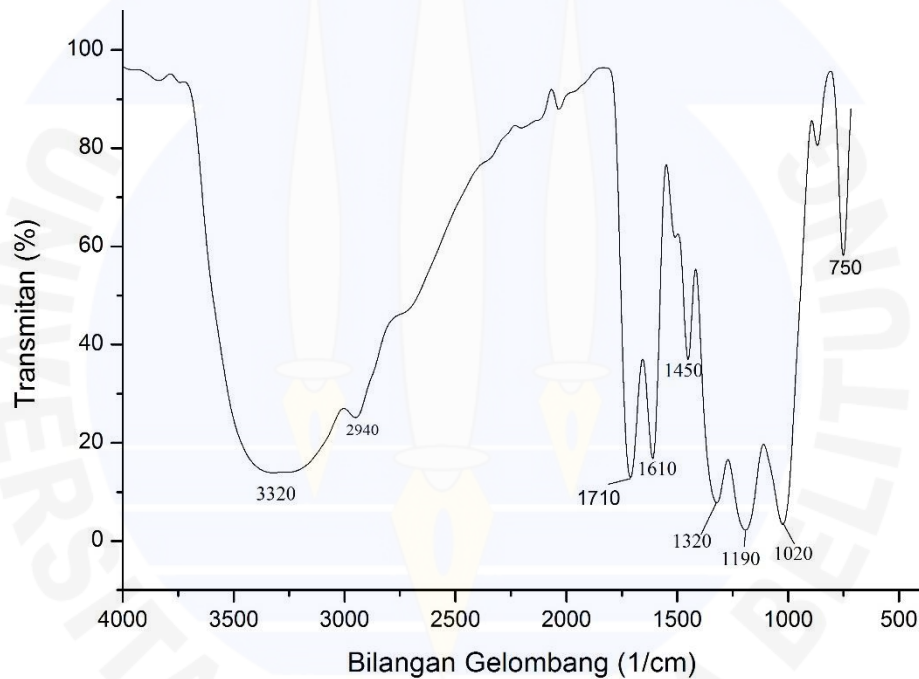
Uji kandungan fenolik dilakukan dengan penambahan larutan FeCl₃. Logam Fe sering digunakan dalam reaksi kompleksasi karena lebih mudah membentuk senyawa kompleks.. Larutan FeCl₃ ini digunakan untuk mengetahui kandungan gugus fenol dalam suatu sampel. Perubahan warna hijau kehitaman atau biru kehitaman disebabkan tanin (senyawa polifenol) membentuk senyawa kompleks dengan FeCl₃.

Pengujian flavonoid menunjukkan hasil positif dengan menambahkan serbuk Mg dan HCl pekat ke dalam ekstrak tanaman. Hal ini terjadi perubahan warna menjadi jingga dan terdapat busa sehingga terjadinya reduksi flavonoid oleh logam Mg yang membentuk garam flavilium. Pada tanaman daun pelawan tidak terdapat senyawa saponin, karena pada saat penambahan air panas, sampel tidak terbentuk busa. Air panas dipakai untuk mempercepat reaksi dan memunculkan busa karena adanya kombinasi struktur senyawa penyusun dari gugus steroid sebagai gugus nonpolar dan rantai samping polar yang larut dalam air sehingga timbulnya busa (Naoumkina *et al.*, 2010).

Berdasarkan hasil fitokimia pada **Tabel 4.2** yang dilakukan pengujian terhadap ekstrak kental dan masing-masing fraksi daun pelawan metabolit sekunder kandungan saponin dan steroid menunjukkan hasil yang negatif. Metabolit sekunder yang terdapat pada ekstrak kental daun pelawan mengandung senyawa alkalooid, fenolik dan flavonoid. Pada fraksi MeOH : air mengandung senyawa flavonoid.

Fraksi etil asetat positif mengandung senyawa metabolit sekunder alkaloid, fenolik dan flavonoid. Sedangkan fraksi *n*-heksana menunjukkan hasil negatif pada uji senyawa fenolik hal ini dikarenakan adanya perbedaan sifat kepolaran antara senyawa fenolik yang bersifat polar dan pelarut *n*-heksana bersifat non-polar sehingga pelarut *n*-heksana tidak dapat mengekstraksi senyawa fenolik yang terdapat didalam sampel daun pelawan.

Hasil analisis FT-IR yang dilakukan pada ekstrak kental, fraksi MeOH : air, fraksi etil asetat, dan fraksi *n*-heksana bertujuan untuk melihat gugus fungsi yang terdapat ekstrak kental dan masing-masing fraksi yang ditunjukkan timbulnya serapan pada panjang gelombang tertentu. Hasil FT-IR dapat dilihat pada Gambar 4.1 dan Tabel 4.3 :



Gambar 4.1 Spektrum FT-IR fraksi etil asetat ekstrak daun pelawan

Berdasarkan spektrum serapan panjang gelombang dari hasil analisis FT-IR pada fraksi etil asetat ekstrak daun pelawan yang akan di analisis dalam bentuk tabel sebagai berikut :

Tabel 4.3 Hasil data analisis FT-IR fraksi etil asetat daun pelawan

Gugus Fungsi	Bilangan Gelombang (cm⁻¹)
O-H <i>stretching</i>	3320
CH ₃ <i>stretching, asymmetric</i> (CH ₂ <i>stretching</i>)	2940
C=O <i>stretching</i>	1710
C=C <i>aromatic stretching</i>	1610
CH ₂ <i>bending</i>	1450
C-H <i>bending</i>	1320
C-OH <i>alcohol stretching</i>	1020
C-H <i>aromatic bending</i>	750

Spektrum IR pada fraksi etil asetat memberikan informasi adanya gugus hidroksil pada bilangan gelombang 3412,08 cm⁻¹ dan terbentuk pita serapan yang melebar. Gugus hidroksi OH juga terdapat pada serapan bilangan gelombang 750 cm⁻¹. Serapan lemah pada bilangan gelombang 2940 cm⁻¹ menunjukkan gugus CH₃ (metil) dan vibrasi asimetris CH₂ (metilen). serapan kuat pada bilangan gelombang 1710 yang menandakan adanya gugus C=O (karbonil). Ikatan C=C ditunjukkan pada serapan gelombang 1610 cm⁻¹. Bilangan gelombang pada 1450 cm⁻¹ menunjukkan gugus C-H. Gugus C-H ditunjukkan pada serapan bilangan gelombang 1320 cm⁻¹. Pada bilangan gelombang 1710 cm⁻¹ menandakan adanya gugus karbonil (C=O)]. Serapan gelombang pada 1710 cm⁻¹ diduga bahwa senyawa yang terdapat pada fraksi etil asetat merupakan senyawa flavonoid.

4.3 Pembuatan dan Karakterisasi Nanoemulsi Daun Pelawan

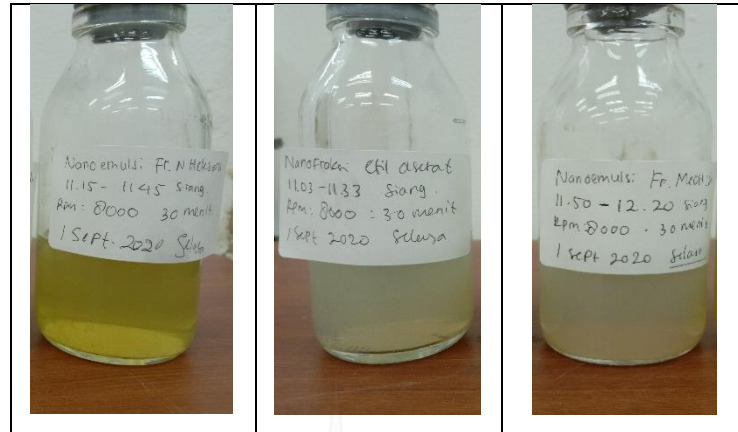
Pembuatan nanoemulsi dari masing-masing fraksi daun pelawan dibuat dalam konsentrasi yang sama kemudian diemulsikan dengan menggunakan homogenizier pada kecepatan pengadukan 8000 rpm selama 30 menit. Nanoemulsi fraksi daun pelawan dibuat dengan penambahan *virgin coconut oil* (VCO) sebagai fase minyak dan tween 80 sebagai surfaktan. Pada proses pembuatan nanoemulsi fase minyak dan air dibuat secara terpisah.

Penambahan minyak VCO pada proses pembuatan nanoemulsi diharapkan nanoemulsi bersifat stabil hal ini dikarenakan didalam VCO asam lemak rantai menengah yang sangat stabil apabila dibuat atau disimpan pada suhu yang rendah dan tinggi (Syah dan Sumangat, 2005). Surfaktan yang digunakan adalah tween80 dikarenakan tween80 merupakan senyawa non ionik yang tidak mengiritasi kulit, toksisitasnya rendah, larut dalam air dan memiliki nilai HLB 15. (Williams dan Barry, 2004). Sedangkan fase air yang digunakan dalam pembuatan nanoemulsi berupa akuades.

Fase minyak, surfaktan dan fase air diemulsikan menggunakan homogenizier dengan kecepatan pengadukan 8000 rpm selama 30 menit. Kecepatan pengadukan nanoemulsi sangat mempengaruhi sifat dan ukuran partikel yang diperoleh. Menurut Lachman (1994) pengadukan yang terlalu cepat akan menghasilkan warna larutan keruh dan ukuran partikel yang lebih besar dikarenakan globul didalam emulsi akan semakin mudah untuk saling berbenturan. Sedangkan pengadukan yang terlalu lama emulsi yang dihasilkan sulit homogen. Nanoemulsi yang baik merupakan emulsi yang tampilan warnanya jernih, homogen, dan memiliki ukuran partikel yang kecil.

Tabel 4.4 Karakterisasi nanoemulsi fraksi daun pelawan

Nanoemulsi	pH	Massa jenis	viskositas (cP)	Persen Transmitan	Stabilitas Fisik	Ukuran Partikel (nm)
n-heksana	5	0,9871	5,903	67,311	Tidak ada pemisahan fase	361,0 nm
Etil Asetat	5	0,9878	5,9855	52,026	Tidak ada pemisahan fase	153,9 nm
MeOH:air	5	0,9877	5,6614	47,488	Tidak ada pemisahan fase	123,8 nm



Gambar 4.2 (a) Nanoemulsi *n*-heksana, (b) Nanoemulsi etil asetat, (c) Nanoemulsi MeOH:air

Berdasarkan hasil uji karakterisasi nanoemulsi dari fraksi-fraksi daun pelawan pada Tabel 4.4 menunjukkan bahwa tingkat keasaman (pH) pada berbagai fraksi nanoemulsi memiliki nilai yang sama yaitu 5. Hasil ini menunjukkan pembuatan nanoemulsi dari fraksi dengan menggunakan pelarut yang berbeda tidak mempengaruhi nilai pH (Talegaonkar dkk., 2011). Nanoemulsi dari fraksinasi daun pelawan aman untuk digunakan karena nilai pH daun pelawan termasuk pada rentang 4,5-6,5 yang sesuai dengan rentang pH kulit. Apabila pH pada sediaan nanoemulsi terlalu asam atau basa akan membuat kulit iritasi dan bersisik.

Pengujian massa jenis pada tiap fraksi menghasilkan massa jenis yang relatif sama. Hal ini mungkin dikarenakan pada proses pembuatan nanoemulsi fraksi daun pelawan menggunakan komposisi yang sama, sehingga massa jenis yang didapatkan memiliki perbedaan nilai yang tidak terlalu signifikan. Hasil pengujian viskositas nanoemulsi fraksi daun pelawan diperoleh perbedaan nilai viskositas yang tidak terlalu signifikan. Nanoemulsi dari tiap fraksi daun pelawan mempunyai nilai viskositas 5 cP. Nilai viskositas pada fraksi nanoemulsi daun pelawan termasuk nilai ideal karena pada umumnya nilai viskositas ideal nanoemulsi berkisar antara 1-1000 cP dengan nilai pH antara 4,5-6,5 (Purnamasari, 2012).

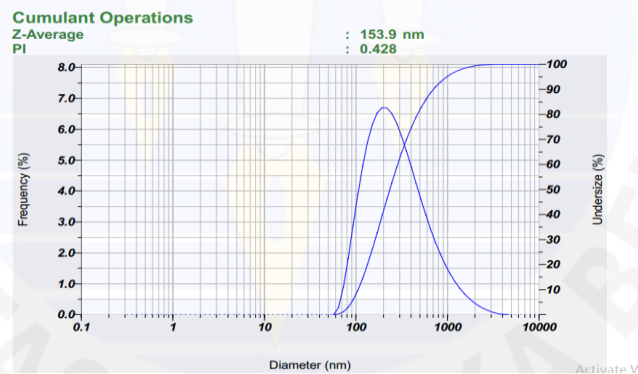
Berdasarkan Tabel 4.4 viskositas dengan nilai terendah terdapat pada nanoemulsi fraksi MeOH: air yaitu 5,6614 cP sedangkan viskositas fraksi etil asetat merupakan yang tertinggi yaitu 5,9855 cP. Nanoemulsi dari fraksi etil asetat

memiliki sifat pelarut semi polar dan pada ekstrak juga menggunakan pelarut yang bersifat semi polar sehingga partikel yang terlarut akan semakin banyak (*like dissolved like*). Tingginya nilai viskositas dikarenakan semakin banyak partikel yang terlarut didalam pelarut pada pembuatan nanoemulsi maka gesekan yang terjadi antar partikel akan semakin tinggi sehingga viskositas larutan yang dihasilkan akan tinggi (Nguyen, 2010). Tingginya kecepatan dan semakin lama energi yang diberikan pada saat pembuatan nanoemulsi maka akan menyebabkan semakin kecil ukuran butiran dan dapat meningkatkan nilai viskositas. Semakin meningkatnya viskositas menunjukkan bahwa adanya interaksi yang kuat antara butiran fase terdispersi dengan fase pendispersi.

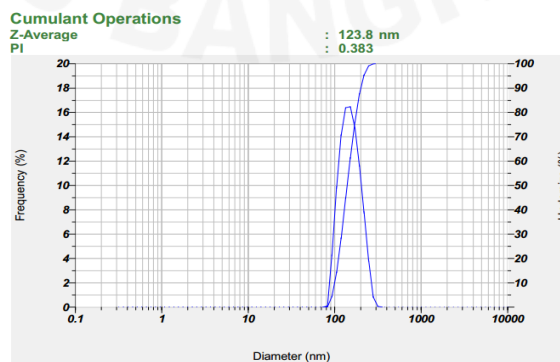
Pengujian stabilitas fisik nanoemulsi dari fraksi daun pelawan dengan menggunakan sentrifugasi dilakukan untuk mengetahui sediaan nanoemulsi yang terbentuk, terdapat pemisahan larutan atau tidak (Stephanie, 2015). Prinsip kerja sentrifugasi adalah memisahkan partikel berdasarkan berat jenis molekulnya, sehingga molekul dengan berat jenis lebih besar akan berada dibawah dan yang memiliki berat jenis lebih kecil akan naik (Gopala, 2016). Berdasarkan hasil uji stabilitas fisik pada fraksi-fraksi nanoemulsi daun pelawan tidak mengalami pemisahan ataupun terbentuk endapan sehingga nanoemulsi fraksi daun pelawan memiliki stabilitas yang baik dan relatif stabil. Sediaan nanoemulsi dengan stabilitas fisik stabil jika disimpan pada waktu yang lama tidak akan mengalami perubahan.

Hasil pengujian persen transmittan bertujuan untuk mengetahui kejernihan sediaan nanoemulsi fraksi daun pelawan. Kejernihan sediaan nanoemulsi yang dihasilkan memiliki nilai transmittan mendekati 90-100% secara visual jernih dan transparan (Zulfa dkk., 2014). Berdasarkan pada gambar 4.2 terlihat bahwa nanoemulsi dari fraksi n-heksan yang memiliki warna larutan kuning dan tampak jernih memiliki nilai persen transmittan 67,33% yang merupakan nilai tertinggi dibandingkan dari 2 fraksi nanoemulsi lainnya. Nanoemulsi dari fraksi etil asetat memiliki persen transmittan 52,02% dengan warna larutan sedikit keruh. Sedangkan pada nanoemulsi fraksi MeOH:air memiliki nilai persen transmittan terkecil yaitu 47,88% dimana larutan nanoemulsi pada fraksi MeOH: air memiliki warna putih keruh sehingga nilai persen transmittan yang diperoleh juga kecil.

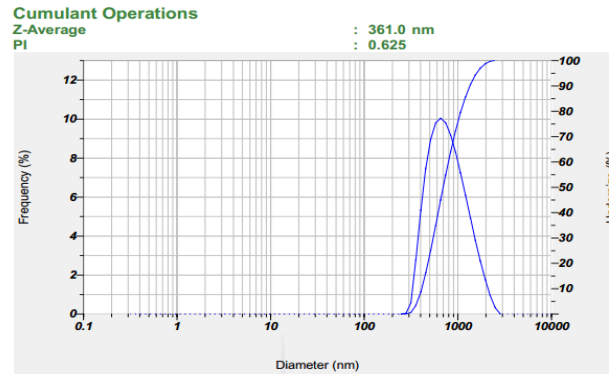
Pengujian partikel dari nanoemulsi fraksi daun pelawan dilakukan dengan menggunakan instrumen *Particle Size Analyzer* (PSA) Horiba SZ-100 yang bertujuan untuk mengetahui ukuran partikel dari setiap fraksi. Berdasarkan pada tabel 4.2 nanoemulsi fraksi MeOH : air memiliki ukuran partikel terkecil dengan nilai 123,8 nm. Fraksi n-heksana memiliki nilai ukuran tertinggi sebesar 361,0 nm. Pada nanoemulsi fraksi MeOH : air diperoleh ukuran partikel yang paling kecil (123,8 nm) daripada nanoemulsi fraksi etil asetat dan n-heksana, hal ini dikarenakan nanoemulsi fraksi MeOH : air pada fase terdispersinya larut dengan sempurna terhadap fase pendispersinya yang berupa air dan tween 80. Sedangkan pada fraksi n-heksana memiliki ukuran partikel yang paling besar hal ini menunjukkan adanya proses dispersi yang belum sempurna antara fase terdispersi dengan pendispersinya (Nina dkk, 2019). Selain itu juga terdapat perbedaan kepolaran pada yang terdapat pada komponen nanoemulsi dan fraksi n-heksan. Komposisi terbanyak pada sistem nanoemulsi adalah air sebanyak 37,5 ml dimana air bersifat polar, sehingga kelarutan n-heksana dalam sistem nanoemulsi kurang larut sehingga ukuran partikel yang diperoleh berukuran lebih besar dibandingkan dengan fraksi nanoemulsi lainnya.



(a)



(b)

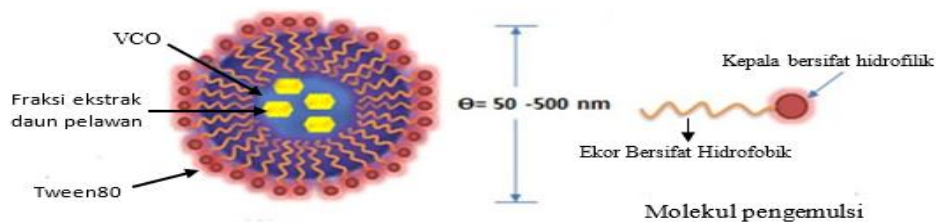


(c)

Gambar 4.3 Grafik hasil pengujian PSA (*Particle size analyzer*) nanoemulsi (a) fraksi etil asetat, (b) nanoemulsi fraksi MeOH : air, dan (c) nanoemulsi fraksi n-heksan

Pada hasil pengujian ukuran partikel nanoemulsi dapat dilihat distribusi ukuran molekul yang berdasarkan pada nilai indeks polidispersitas. Indeks polidispersitas merupakan ukuran dari distribusi massa molekul dalam sampel tertentu yang mengindikasikan keseragaman ukuran globul pada sediaan nanoemulsi. Indeks polidispersitas pada rentang nilai 0,01 sampai 0,7 menyatakan distribusi ukuran partikel yang seragam, sedangkan nilai indeks polidispersitas lebih dari 0,7 menyatakan distribusi ukuran partikel yang tidak seragam dalam sediaan nanoemulsi (Nidhin, 2009).

Berdasarkan hasil nilai indeks polidispersitas nanoemulsi pada fraksi etil asetat, fraksi n-heksana, dan MeOH:air memiliki indeks polidispersitas berturut-turut sebesar 0,428; 0,383; dan 0,625. Indeks polidispersitas nanoemulsi fraksi daun pelawan memiliki nilai dibawah rentang 0,7 yang mengindikasikan bahwa pada nanoemulsi fraksi daun pelawan mempunyai distribusi ukuran partikel yang seragam. Semakin rendah nilai indeks polidispersitas menunjukkan sistem emulsi yang stabil dalam jangka waktu yang lama (Gao dkk., 2008).



Gambar 4.4 Struktur nanoemulsi fraksi daun pelawan

Berdasarkan pada gambar 4.4 digambarkan bentuk sediaan nanoemulsi fraksi daun pelawan, dimana pada bagian inti terdapat fraksi etil asetat yang terlindungi oleh fase minyak (VCO) dan surfaktan. Pada nanoemulsi juga terdapat bagian kepala dan ekor, dimana bagian kepala berupa gugus karboksil (COO) dari VCO yang dikelilingi oleh surfaktan. Bagian ekor merupakan gugus alifatik dari VCO. Kepala pada nanoemulsi bersifat hidrofilik dan ekor bersifat hidrofobik, hal ini yang membuat nanoemulsi menjadi stabil. Ukuran nanoemulsi yang diperoleh mempengaruhi kinerja sebagai penghambat α -glukosidase. Nanoemulsi dengan rentang ukuran 20-200 nm akan mempermudah penyerapan oleh dinding halus dan akan bekerja lebih lama didalam tubuh (Kammona dan Costas, 2012).

4.4 Inhibisi α -glukosidase Fraksi Etil Asetat Daun pelawan

Aktivitas antidiabetes dilakukan pengujian dengan metode α -glukosidase terhadap fraksi etil asetat. Pemilihan nanoemulsi fraksi etil asetat daun pelawan karena memiliki ukuran nano walaupun pada nanoemulsi MeOH:air memiliki ukuran nano namun perbedaan ukuran keduanya juga tidak terlalu berbeda jauh karena masih masuk dalam kisaran 100an nano. Hasil fitokimia dan FTIR pada fraksi etil asetat mengandung senyawa golongan flavonoid dan fenolik. Kedua senyawa ini memiliki aktivitas antidiabetes yang kuat berdasarkan penelitian yang telah dilakukan ariani dkk (2017) senyawa flavonoid pada ekstrak metanol daun garu memiliki IC_{50} 93,325 dan penelitian Meilia dan noraini (2017) senyawa flavonoid dan fenolik dari buah kiwi memiliki IC_{50} 7,219. Hasil penelitian Nofiantini (2013) menunjukkan aktivitas antidiabetes fraksi etil asetat daun garu (*Antidesma montanum* blume) diperoleh nilai tertinggi persentase inhibisi dalam penghambatan aktivitas α -glukosidase sebesar 60,691%. Nilai persen inhibisi ini paling tinggi jika dibandingkan dengan fraksi n-heksan dan fraksi etanol yang hanya 11,513% dan 22,862 %.

Hasil pengujian penghambatan aktivitas nanoemulsi fraksi etil asetat ditunjukkan pada tabel berikut.

Tabel 4.5 Hasil Uji Inhibisi Aktivitas α -glukosidase

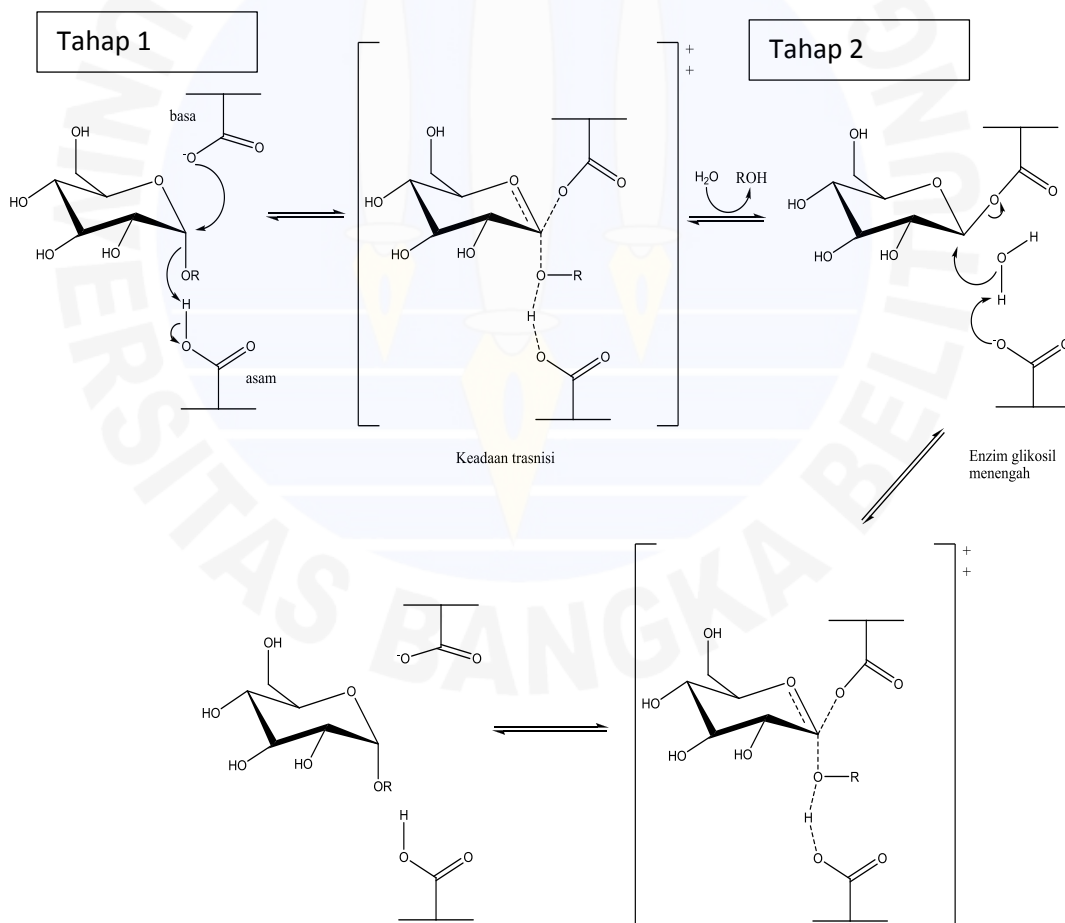
Sampel	Inhibisi (%)
Kuersetin (0,0025 mg/ml)	46,93
Nanoemulsi Fraksi Etil Asetat (0,004 mg/ml)	1,075

Berdasarkan pada Tabel 4.5 dapat dilihat bahwa nanoemulsi fraksi daun pelawan berpotensi untuk menginhibisi α -glukosidase walaupun pada penelitian nilai inhibisi yang diperoleh sangat kecil bila dibandingkan dengan kuersetin. Kursetin digunakan sebagai pembanding karena kuersetin merupakan senyawa fenolik dengan golongan flavonoid yang telah dilaporkan secara aktif menghambat enzim α -glukosidase, yang berperan dalam perannya dalam mengontrol gula darah (Khuankaew, 2014). Hal ini kemungkinan disebabkan konsentrasi ekstrak pada proses pembuatan nanoemulsi pada fraksi etil yang digunakan seberat 0,01 mg dan pada uji antidiabetes nanoemulsi fraksi etil asetat dilakukan pengenceran sampel uji sebelum diukur serapannya yang memungkinkan aktivitas antidiabetes senyawa pada fraksi tersebut berkurang. Daun pelawan mengandung senyawa golongan flavonoid yang dapat digunakan sebagai antidiabetes. Senyawa flavonoid memiliki aktivitas sebagai antidiabetes karena pada golongan flavonoid dalam bentuk glikosida mempunyai gugus-gugus gula seperti amigladin dapat menangkap radikal hidroksil sehingga dapat mencegah diabetes (Sudiawan dan Santosa, 2005).

Pada uji antidiabetes akan terjadi raksi penguraian senyawa p-nitrofenil- α -D-glukopiranosida (PNP-G) oleh enzim α -glukosidase. Senyawa PNP-G akan terhidrolisis sehingga terbentuk senyawa α -D-glukosa dan p-nitrofenol. Indikator dalam reaksi ini adalah p-nitrofenol yang menghasilkan warna kuning. Apabila warna kuning yang dihasilkan semakin cerah jika dibandingkan dengan larutan tanpa inhibitor. Semakin cerah warna yang dihasilkan maka kemampuan inhibitor dalam menghambat α -glukosidase semakin besar. Fraksi etil asetat nanoemulsi daun pelawan pada reaksi uji antidiabetes merupakan inhibitor reversibel terhadap enzim α -glukosidase. Inhibitor enzim ini dapat bersifat sebagai inhibitor kompetitif maupun non-kompetitif. Nanoemulsi fraksi etil asetat diharapkan dapat

menurunkan aktivitas enzim dengan membentuk ikatan kovalen antara enzim dan inhibitor.

Mekanisme inhibisi terhadap enzim α -glukosidase terjadi dua tahapan mekanisme reaksi untuk mempertahankan glikosida, reaksi ini melibatkan enzim glikosil. Tahap pertama (glikosilasi) yaitu dimana salah satu residu yang sebagai katalis basa berperan sebagai nukleofil yang menyerang pusat anomerik pada glukosa sehingga aglikon tergantikan dan akan membentuk suatu enzim glikosil menengah. Pada saat yang sama juga reaksi terjadi protonasi oksigen glikosidik oleh residu lain yang berfungsi sebagai katalis asam. Tahap kedua dalam inhibisi enzim α -glukosidase yaitu deglikosilasi. Deglikolisasi adalah tahapan hidrolisis enzim glikosil air, dan deprotonasi molekul air dari residu lain yang berperan sebagai katalis basa pada saat penyerangan (Rempel dan Withers, 2008). Adapun mekanisme reaksi tersebut dapat dilihat pada gambar 4.5.



Gambar 4.5 Mekanisme reaksi inhibisi α -glukosidase dari senyawa aglikon pada ekstrak /Fraksi daun pelawan