

Uji Aktivitas Penghambatan Enzim Alfa Amilase Ekstrak dan Fraksi Daun Binahong Merah (*Anredera cordifolia* (ten.) Steenis)

Normaita Latiefah Dinnar

Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Duta Bangsa Surakarta, Indonesia

Email: normaita15@gmail.com

Artikel info

Artikel history

Diterima : 22-09-2022

Direvisi : 12-09-2022

Disetujui : 20-10-2022

Kata Kunci: Diabetes Mellitus; Alfa Amilase; Binahong Merah.

Keywords: Diabetes Mellitus; Alfa Amilase; Red Binahong.

Abstrak

Diabetes mellitus (DM) merupakan penyakit gangguan metabolisme kronis, ditandai dengan tingginya kadar glukosa dalam darah (hiperglikemia) yang disebabkan karena penurunan sekresi insulin. Salah satu cara mengobati diabetes mellitus dengan menurunkan kadar glukosa *post prandial*, yaitu memperlambat penyerapan glukosa melalui penghambatan enzim alfa amilase. Inhibitor alfa amilase adalah senyawa yang dapat mengambat pemecahan karbohidrat menjadi glukosa oleh enzim alfa amilase. Salah satu tanaman yang memiliki efek hiperglikemia adalah binahong merah (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas penghambatan enzim alfa amilase oleh ekstrak etanol dan fraksi *n*-heksan, etil asetat, etanol-air dari daun binahong merah (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) secara *in vitro* dengan inhibitor standar acarbose sebagai pembanding. Acarbose dapat menunda hidrolisis karbohidrat dan disakarisa, absorpsi gula dan menghambat metabolisme sukrosa menjadi glukosa dan fruktosa. Dari hasil pengujian yang telah dilakukan, diketahui bahwa daun binahong merah (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) mengandung senyawa metabolit sekunder meliputi flavonoid, alkaloid, tannin dan steroid/triterpenoid. Sementara itu hasil pengujian penghambatan enzim alfa amilase oleh ekstrak etanol dan fraksi diperoleh nilai IC_{50} berturut-turut sebesar 113,926 mg/mL, 159,042 mg/mL, 23,609 mg/mL, 31,704 mg/mL. Berdasarkan hasil tersebut, dapat disimpulkan bahwa fraksi etil asetat daun binahong merah (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) pada konsentrasi 200 ppm mempunyai aktivitas tertinggi dalam menghambat enzim alfa amilase dengan persen penghambatan sebesar 84,650% dan IC_{50} sebesar 23,609 mg/mL.

Abstract

Diabetes mellitus (DM) is a chronic metabolic disorder, characterized by high levels of glucose in the blood (hyperglycemia) caused by decreased insulin secretion. One way to treat diabetes mellitus is to reduce postprandial glucose levels, which is to slow down glucose absorption through the inhibition of the alpha amylase enzyme. Alpha amylase inhibitors are compounds that can inhibit the breakdown of carbohydrates into glucose by the enzyme alpha amylase. One of the plants that have a hyperglycemic effect is red binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis). This study aimed to determine the inhibitory activity of the alpha amylase enzyme by ethanol extract and *n*-hexane, ethyl acetate, and ethanol-water fractions from the leaves of red binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) *in vitro* with a standard inhibitor of acarbose as a comparison. Acarbose can delay the hydrolysis of carbohydrates and disaccharides, absorption of sugar and inhibit the metabolism of sucrose into glucose and fructose. From

*the results of the tests that have been carried out, it is known that the leaves of red binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) contain secondary metabolites including flavonoids, alkaloids, tannins, and steroids/triterpenoids. Meanwhile, the results of the alpha amylase inhibition test by ethanol extract and fractions obtained IC_{50} values of 113.926 mg/mL, 159.042 mg/mL, 23,609 mg/mL, and 31.704 mg/mL. Based on these results, it can be concluded that the ethyl acetate fraction of red binahong leaves (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) at a concentration of 200 ppm had the highest activity in inhibiting the alpha amylase enzyme with a percentage of inhibition of 84.650% and IC_{50} of 23.609 mg/mL.*

Koresponden author: Normaita Latiefah Dinnar

Email: normaita15@gmail.com

artikel dengan akses terbuka dibawah lisensi

CC BY SA

2022



Pendahuluan

Diabetes melitus merupakan penyakit atau gangguan metabolisme kronis yang ditandai dengan tingginya kadar gula darah disertai dengan gangguan metabolisme karbohidrat, lipid dan protein sebagai akibat dari kelainan sekresi insulin (WHO, 1999). Tingkat prevalensi penderita diabetes di dunia pada tahun 2017 sebanyak 425 juta penduduk, diperkirakan pada tahun 2045 jumlah tersebut akan meningkat sebesar 48% menjadi 629 juta penduduk (Carracher *et al.*, 2018). Pada tahun 2015 Indonesia menempati peringkat ke tujuh dunia untuk prevalensi penderita diabetes tertinggi di dunia bersama dengan China, kedua India, Amerika Serikat, Brazil, Rusia, dan Meksiko dengan jumlah estimasi orang dengan diabetes sebesar 10 juta (Roglic, 2016).

Terapi yang diberikan pada penderita diabetes melitus salah satunya menggunakan strategi menghambat penyerapan gula ke dalam tubuh dengan melibatkan enzim pencernaan. Salah satu enzim yang berperan adalah enzim alfa amilase. Enzim ini merupakan produk yang dihasilkan oleh kelenjar pankreas dan saliva, memecah molekul besar polisakarida yang tidak terlarut menjadi molekul yang dapat diserap tubuh seperti maltosa, dekstrin, dan glukosa (Ariandi, 2017).

Dalam pengobatan tradisional, tanaman binahong memiliki banyak khasiat diantaranya dapat menyembuhkan penyakit diabetes mellitus, disentri, maag, asam urat, ambeien, menyembuhkan luka, sesak napas, batuk, patah tulang, menambah stamina dan dapat menyembuhkan jerawat (Marzuki & Nova, 2018). Menurut (Sumayyah & Salsabila, 2017), penggunaan obat tradisional dinilai lebih aman daripada obat modern. Hal ini disebabkan karena obat tradisional memiliki efek samping yang relatif lebih sedikit daripada obat modern. Namun, tetap diperlukan ketepatan dalam penggunaan obat tradisional untuk meminimalisir efek sampingnya. Sementara itu, penggunaan tanaman binahong untuk ramuan cukup menggunakan daun tanaman binahong saja tanpa harus memakai bahan tambahan lain. Biasanya daun binahong diramu dengan cara direbus, diseduh seperti teh, ditumbuk, bahkan ada yang mengonsumsinya sebagai lalapan saja sesuai keinginan (Zulaeha & Hakim, 2015)

Berdasarkan penelitian (Ardiani *et al.*, 2020), ekstrak daun binahong dapat menurunkan kadar gula darah pada mencit diabetes akibat induksi aloksan. Dosis optimal ekstrak daun binahong sebagai antidiabetes adalah 400 mg/KgBB. Dalam penelitian lain yang dilakukan oleh (Sukandar *et al.*, 2011), pemberian ekstrak metanol daun binahong dosis 50, 100 dan 200 mg/kgBB dapat menurunkan kadar glukosa darah berbeda bermakna ($p < 0,05$) terhadap kontrol setelah pemberian ekstrak 7 dan 14 hari, dan secara histologi dapat meningkatkan jumlah sel dan memperbaiki kerusakan sel β -pankreas akibat pemberian aloksan. Sementara itu, menurut penelitian (Makalalag & Wullur, 2013) menunjukkan

bahwa ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia* Steen.) 1,8 g/KgBB dapat menurunkan kadar gula darah pada tikus putih jantan galur wistar yang diinduksi dengan sukrosa.

Mengingat semakin meningkatnya angka penderita diabetes melitus di Indonesia sehingga menjadi permasalahan serius dalam bidang kesehatan, dan juga makin banyak pengobatan herbal yang dipercaya masyarakat sebagai salah satu pengobatan alternatif, maka peneliti tertarik untuk melakukan penelitian “Uji Aktivitas Penghambatan Enzim Alfa Amilase Ekstrak Etanol dan Fraksi Daun Binahong Merah (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) Secara *In Vitro*”.

Berdasarkan latar belakang, maka tujuan dalam penelitian adalah untuk mengetahui aktivitas penghambatan enzim alfa amilase oleh ekstrak etanol dan fraksi n-heksan, etil asetat, etanol-air dari daun binahong merah (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) secara *in vitro* dengan inhibitor standar acarbose sebagai pembanding.

Ada pun manfaat dalam penelitian ini adalah dapat dijadikan salah satu upaya dalam mengembangkan daun tanaman binahong menjadi salah satu tanaman yang memiliki khasiat sebagai antidiabetes.

Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini yaitu metode penelitian eksperimental dimana penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan senyawa metabolit sekunder ekstrak etanol dan fraksi daun binahong merah (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) dan aktivitas penghambatan enzim α -amilase ekstrak etanol dan fraksi daun binahong merah (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis). Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kimia Prodi S-1 Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Duta Bangsa Surakarta. Penelitian dilakukan selama 2 bulan dari Juni-Agustus 2022.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain corong pisah, timbangan analitik, penangas air, mikropipet, kuvet, spektrofotometri UV-Vis (*Shimadzu UV mini-1240*), *rotary evaporator* (*IKA HB 10 Basic*), timbangan analitik (*Ohaus EP 214* sensitivitas 0,1 mg), blender (*Philips*), corong pisah (*Pyrex*), chamber (*CAMAG*), sinar UV 254 dan 366 nm (*CAMAG*), *waterbath*, labu takar serta alat-alat yang berupa gelas.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari etanol 70%, *n*-heksan, etil asetat, *aquadest*, serbuk simplisia daun binahong merah (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis), enzim alfa amilase (*Sigma Aldrich*), tablet acarbose 50 mg (*Glucobay*), amilum, larutan iodine 1%, buffer fosfat pH 6,9, DMSO (*Dimethyl sulfoxide*) 1%, HCL 1 N.

Hasil dan Pembahasan

A. Determinasi dan Preparasi Sampel

Tanaman binahong merah dideterminasi dengan cara mengidentifikasi seluruh bagian tanaman yang dilakukan di Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional (B2P2TOOT) Tawangmangu, Karanganyar, Jawa Tengah. Determinasi tanaman telah dilakukan sesuai literatur dengan nomor KM.04.02/2/1408/2022 (Lampiran 1). Hasil determinasi menunjukkan bahwa sampel tanaman merupakan tanaman binahong merah (*Gendola*) yang termasuk dalam *family Basellaceae*.

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini yaitu tanaman binahong merah (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) yang diperoleh dari Dusun Ngepet, Kalurahan Srigading, Kapanewon Sanden, Kabupaten Bantul, Yogyakarta. Bagian tanaman binahong merah yang digunakan untuk penelitian yaitu daun. Daun binahong merah dipetik dan dilakukan sortasi basah untuk memisahkan antara daun hijau yang segar dan tidak terdapat kapang. Setelah dilakukan sortasi basah daun kemudian ditimbang dan didapatkan hasil sebanyak 5,3 kg sampel daun basah.

Daun yang telah ditimbang kemudian dicuci dengan air yang mengalir untuk memisahkan daun dari pengotor (debu, hama, dan bahan asing lainnya). Setelah bersih, daun binahong merah ditiriskan

lalu dikeringkan di dalam lemari pengering pada suhu 40-60 °C sampai kering. Prosentase bobot kering terhadap bobot basah dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1
Hasil Perhitungan Presentase Simplisia Daun Binahong Merah

Daun Basah (g)	Daun Kering (g)	Presentase (%)
5300	945	17,83

Berdasarkan tabel 1 dapat diketahui bahwa daun binahong merah sebanyak 5300 gram yang dikeringkan dan diperoleh bobot kering sebesar 945 gram. Simplisia daun binahong merah kemudian dihitung prosentasenya terhadap berat awal daun basah dan diperoleh hasil 17,38 %. Selanjutnya simplisia diserbuk dan diayak menggunakan ayakan mesh 40.

Tabel 2
Hasil Perhitungan Presentase Serbuk Simplisia Terhadap Simplisia Kering Daun Binahong

Daun Kering (g)	Serbuk Simplisia (g)	Presentase (%)
945	540	57,14

Berdasarkan tabel 2 dapat diketahui bahwa hasil presentase serbuk simplisia terhadap daun kering binahong merah sebesar 57,14%.

B. Ekstraksi dan Fraksinasi

1. Ekstraksi

Ekstrak etanol daun binahong merah dibuat dengan metode maserasi. Metode maserasi dipilih karena prosedur dan peralatan yang digunakan sederhana dan tidak dipanaskan sehingga memungkinkan banyak senyawa terekstraksi ([Nurhasnawati et al., 2017](#)).

Proses maserasi dilakukan dengan menimbang sebanyak 300 gram serbuk simplisia daun binahong merah kemudian direndam menggunakan 2100 ml etanol 70% (1:7) selama 3 hari sambil sesekali diaduk. Untuk remaserasi dilakukan dengan merendam ampas hasil maserasi dengan 900 mL selama 2 hari dengan 2 kali pengulangan. Penggunaan etanol 70% sebagai pelarut maserasi karena etanol 70% merupakan pelarut yang lebih polar dari etanol 96% dan lebih non polar dari etanol 50% sehingga senyawa flavonoid yang sifatnya polar akan cenderung terlarut lebih banyak dalam etanol 70% ([Riwanti et al., 2020](#)).

Filtrat maserasi dan remaserasi kemudian dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* lalu diuapkan menggunakan *waterbath* sampai diperoleh ekstrak kental. Dari serbuk simplisia daun binahong merah (*Anredera cordiolia* (Ten.) Steenis) sebanyak 300 gram didapatkan hasil ekstrak kental sebanyak 58 gram. Hasil perhitungan rendemen ekstrak etanol daun binahong dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3
Hasil Rendemen Ekstrak Etanol Daun Binahong Merah

Serbuk Simplisia (g)	Ekstrak Kental (g)	Rendemen Ekstrak (%)
300	58	19,33

Berdasarkan tabel 3 perhitungan hasil rendemen ekstrak etanol daun binahong merah tersebut dapat *diketahui* bahwa ekstrak kental yang dihasilkan sebanyak 58 gram dengan rendemen sebesar 19% dari serbuk simplisia sebanyak 300 gram. Hasil rendemen ekstrak daun binahong pada penelitian ([Zulfa et al., 2018](#)) menunjukkan rendemen ekstrak daun binahong

sebesar 55,72% dari serbuk simplisia sebanyak 987 gram. Adanya sedikit perbedaan perbandingan hasil rendemen karena disebabkan oleh banyaknya sampel serbuk simplisia yang digunakan. Rendemen ekstrak menunjukkan keefektifan pada saat ekstraksi. Karena semakin besar nilai rendemennya maka semakin efektif proses ekstraksinya.

2. Fraksinasi

Fraksinasi merupakan teknik pemisahan senyawa kimia berdasarkan tingkat kepolarannya. Pada prinsipnya, suatu senyawa akan terlarut pada pelarut yang memiliki tingkat kepolaran sama (Harborne, 1987). Pada penelitian ini, ekstrak etanol daun binahong merah difraksinasi dengan metode partisi cair-cair (corong pisah) menggunakan pelarut *n*-heksan, etil asetat dan etanol-air.

Menurut (Putri *et al.*, 2020), fraksinasi dengan pelarut *n*-heksan bertujuan untuk menarik senyawa non polar seperti steroid/triterpenoid. Pelarut etil asetat merupakan pelarut semi polar yang dapat memisahkan senyawa golongan polifenol, sedangkan pelarut etanol-air bersifat polar yang dapat menarik senyawa polar dalam ekstrak etanol daun binahong merah seperti alkaloid, flavonoid dan golongan fenol lainnya. Masing-masing pelarut dilakukan fraksinasi sebanyak 3 kali pengulangan. Hal tersebut bertujuan agar senyawa yang terkandung dalam ekstrak etanol dapat larut dengan maksimal. Fraksi yang didapatkan kemudian dikentalkan menggunakan *waterbath*. Fraksi kental lalu dihitung beratnya dan didapatkan hasil bobot fraksi. Setelah itu dilakukan perhitungan rendemen fraksi yang dapat dilihat pada tabel 3.

Proses fraksinasi ekstrak menghasilkan bobot fraksi pekat *n*-heksan sebesar 2,520 gram fraksi etil asetat 3,291 gram dan fraksi etanol-air 2,984 gram. Perhitungan rendemen dilakukan berdasarkan pada perbandingan antara berat masing-masing fraksi dengan berat ekstrak pekat yang telah didapatkan. Presentase rendemen masing-masing fraksi dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 4
Hasil Rendemen Fraksi

Pelarut	Bobot Ekstrak (g)	Bobot Fraksi (g)	Rendemen (%)
<i>n</i> -heksan	10	2,520	25,2
Etil asetat	10	3,291	32,91
Etanol-air	10	2,984	29,84

C. Standarisasi Simplisia dan Ekstrak

Pada penelitian ini dilakukan standarisasi parameter non spesifik. Penentuan parameter non spesifik yaitu penentuan aspek kimia, mikrobiologi dan fisik yang akan menjamin mutu sehingga keamanan konsumen dan stabilitas suatu produk dapat terjamin (Saifudin *et al.*, 2017). Standarisasi susut pengeringan dilakukan terhadap serbuk simplisia, sementara itu ekstrak etanol daun binahong merah dilakukan standarisasi berupa kadar air.

1. Susut Pengeringan Simplisia

Susut pengeringan merupakan salah satu parameter non spesifik yang bertujuan untuk memberikan batasan maksimal (rentang) tentang besarnya senyawa yang hilang pada proses pengeringan. Parameter susut pengeringan pada dasarnya pengukuran sisa zat setelah pengeringan pada temperatur 105°C sampai berat konstan, yang dinyatakan sebagai nilai persen (Depkes RI, 2000). Susut pengeringan serbuk simplisia daun binahong merah dapat dilihat pada tabel 5.

Tabel 5

Replikasi	Berat Awal (g)	Berat Akhir (g)	Susut Pengerinan (%)
1	1	0,918	8,2
2	1	0,907	9,3
3	1	0,905	9,5
Rata-rata			9

Dari hasil tabel 5 tersebut, diketahui bahwa susut pengerinan serbuk simplisia daun binahong merah sebesar 9%. Nilai acuan kadar susut pengerinan menurut Farmakope Herbal Indonesia adalah <10%.

2. Kadar Air Ekstrak Etanol Daun Binahong Merah

Kadar air merupakan parameter standarisasi ekstrak yang bertujuan untuk menetapkan residu air setelah proses penguapan dari filtrat hasil maserasi menjadi ekstrak kental (Utami et al., 2017). Parameter kadar air merupakan banyaknya kadar air yang terkandung dalam sebuah simplisia atau ekstrak yang dihitung setelah pengerinan pada suhu 105 °C dalam rentang waktu tertentu. Hasil penetapan kadar air ekstrak etanol daun binahong merah (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) dapat dilihat pada tabel 5.

Tabel 5

Berat Awal (g)	Berat Akhir (g)	Kadar Air (%)
1	0,903	9,7

Dari hasil tabel 5 tersebut dapat diketahui bahwa kadar air ekstrak etanol daun binahong merah sebesar 9,7%. Syarat mutu kadar air dari suatu bahan berupa ekstrak kental adalah 5-30%, ekstrak cair >30%, dan ekstrak kering <10% (Voight, 1994). Semakin besar persentase kandungan air dalam suatu bahan maka semakin mudah suatu ekstrak mengalami kerusakan dan pembusukan yang disebabkan oleh adanya pertumbuhan mikroba. Kadar air yang tinggi juga dapat menyebabkan terjadinya dekomposisi senyawa aktif dalam ekstrak akibat dari adanya aktivitas reaksi enzimatis. Oleh sebab itu, kadar air sangat menentukan kualitas dan stabilitas suatu ekstrak maupun pembentukan suatu sediaan ekstrak tersebut (Saifudin et al., 2017).

D. Skrining Fitokimia Ekstrak dan Fraksi Daun Binahong Merah

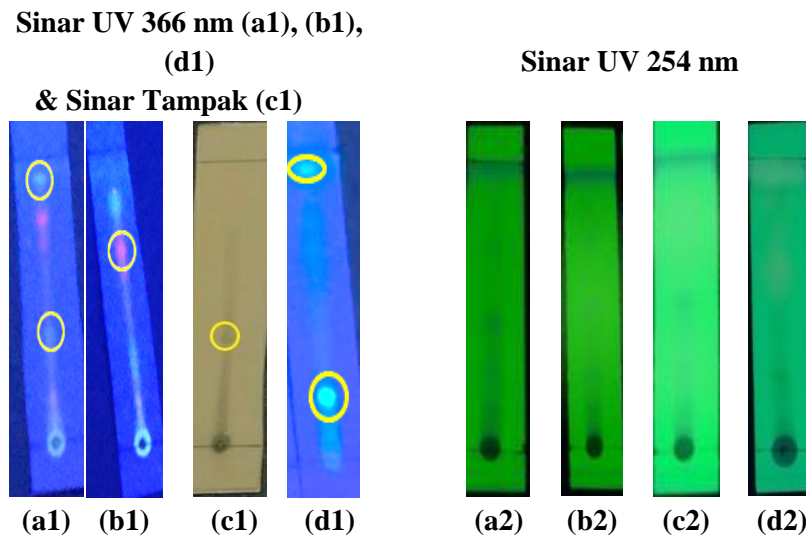
Skrining fitokimia yang dilakukan dalam penelitian ini menggunakan metode kromatografi lapis tipis (KLT). Skrining fitokimia dilakukan untuk mengidentifikasi kandungan senyawa fitokimia dalam ekstrak etanol dan fraksi daun binahong merah. Metode KLT merupakan pemisahan komponen kimia berdasarkan prinsip adsorpsi dan partisi yang ditentukan oleh fase diam (adsorben) dan fase gerak (eluen). Komponen kimia bergerak naik mengikuti fase gerak karena daya serap adsorben terhadap komponen-komponen kimia tidak sama sehingga komponen kimia dapat bergerak dengan jarak yang berbeda berdasarkan tingkat kepolarannya (Ashworth & Stahl, 2013).

Fase gerak yang digunakan dalam skrining fitokimia ini adalah plat silika gel GF₂₅₄ dengan ukuran 1×5 cm yang telah diaktivasi dengan dipanaskan pada suhu 105°C selama 10 menit. Hal tersebut bertujuan untuk mengurangi kadar air agar plat silika dapat menyerap senyawa yang akan dipisahkan (Wulandari, 2011). Bejana yang digunakan dan berisi eluen dijenuhkan terlebih dahulu agar seluruh permukaan bejana terisi uap dari eluen sehingga mendapatkan hasil yang baik. Penjenuhan bejana bertujuan supaya mendapatkan homogenitas di dalam bejana dan meminimalkan penguapan pelarut di lempeng KLT (Devi, 2017).

Golongan senyawa fitokimia yang akan dideteksi antara lain flavonoid menggunakan pereaksi

semprot sitroborat, alkaloid menggunakan pereaksi semprot dragendroff (Saifudin, 2014), tannin menggunakan pereaksi semprot FeCl₃ 1% (Wardhani & Sulistyani, 2012) dan steroid menggunakan pereaksi semprot *liebermann-burchard* (Hidayah et al., 2016).

1. Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Binahong Merah



Gambar 1 Hasil skrining fitokimia ekstrak etanol. (a1) Hasil positif flavonoid, (b1) Hasil positif alkaloid, (c1) Hasil positif tanin, (d1) Hasil positif steroid/triterpenoid.

Keterangan: (a) peraksi sitroborat, (b1) pereaksi dragendroff, (c) pereaksi FeCl₃, (d) pereaksi *libermann-burchard*.

Dalam skrining fitokimia ekstrak etanol daun binahong dengan metode kromatografi lapis tipis (KLT), fase gerak yang digunakan adalah campuran *n*-heksan dan etil asetat dengan perbandingan 5:5. Hasil skrining fitokimia dengan metode KLT dapat dilihat pada tabel 5. didapatkan hasil bahwa ekstrak etanol daun binahong merah mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, tannin dan steroid/triterpenoid.

Tabel 6
Hasil KLT Ekstrak Etanol Daun Binahong Merah

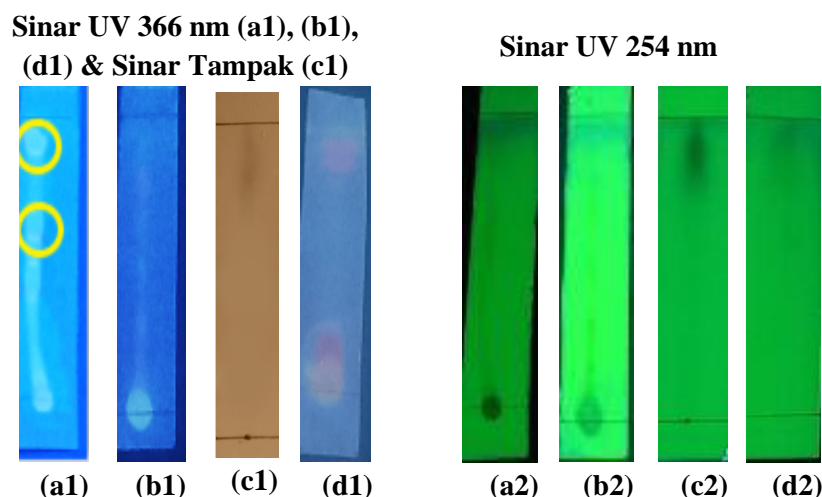
Senyawa yang Diuji	Pereaksi	Fase Gerak	Hasil	Rf	Rf Acuan
Flavonoid	Sitroborat	<i>n</i> -heksan : etil asetat (5:5)	Adanya flouresensi berwarna biru kehijauan	0,425 0,8	0,84 (Samirana et al., 2017)
Alkaloid	Dragendroff	<i>n</i> -heksan : etil asetat (5:5)	Adanya flouresensi berwarna jingga kemerahan	0,75	0,82 (Titis et al., 2013)
Tannin	FeCl ₃ 1%	<i>n</i> -heksan : etil asetat (5:5)	Adanya spot berwarna biru kehitaman/hitam di bawah sinar tampak	0,375	0,25 (Samirana et al., 2017)
Steroid/ Triterpenoid	<i>Liberman Buchard</i>	<i>n</i> -heksan : etil asetat (5:5)	Adanya flouresensi berwarna hijau kekuningan	0,825	0,68 (Samirana et al., 2017)

Berdasarkan tabel 6 hasil positif flavonoid ditunjukkan pada bercak berwarna biru kehijauan setelah disemprot menggunakan pereaksi sitroborat di bawah sinar UV 366 nm, hal ini menunjukkan kemungkinan kandungan golongan senyawa flavonoid pada bercak tersebut ([Samirana et al., 2017](#)). Adanya spot berwarna biru di bawah sinar UV 366 nm pada Rf 0,425 dan 0,8 diduga menandakan adanya kandungan senyawa flavonoid pada ekstrak etanol daun binahong merah (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis). Adanya spot berwarna jingga di bawah sinar tampak UV 366 nm pada Rf 0,75 diduga merupakan senyawa alkaloid pada ekstrak etanol daun binahong merah (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis). Hasil positif tannin ditunjukkan dengan pereaksi FeCl₃ yang memberikan noda warna biru kehitaman, hijau atau biru kehijauan ([Wardhani & Sulistyani, 2012](#)).

2. Skrining Fitokimia Fraksi Daun Binahong Merah

Uji skrining fitokimia dengan metode kromatografi lapis tipis (KLT) dilakukan pula terhadap fraksi dari ekstrak etanol daun binahong merah (*Anredera cordifolia* (Ten.) steenis). Digunakan fase diam plat silika gel GF₂₅₄ dengan ukuran 1×5 cm yang telah diaktivasi dengan dipanaskan pada suhu 105°C selama 10 menit. Fase gerak yang digunakan untuk fraksi *n*-heksan menggunakan campuran antara *n*-heksan dan etil asetat dengan perbandingan 2:8, sedangkan fraksi etil asetat dan etanol-air menggunakan fase gerak antara etil asetat dan *n*-heksan dengan perbandingan 7:3 ([Pamungkas & Indrayudha, 2019](#)).

a. KLT fraksi *n*-heksan



Gambar 2. Hasil skrining fitokimia fraksi *n*-heksan. (a1) Hasil positif flavonoid, (b1) Hasil negatif alkaloid, (c1) Hasil negatif tanin, (d1) Hasil negatif steroid/triterpenoid.

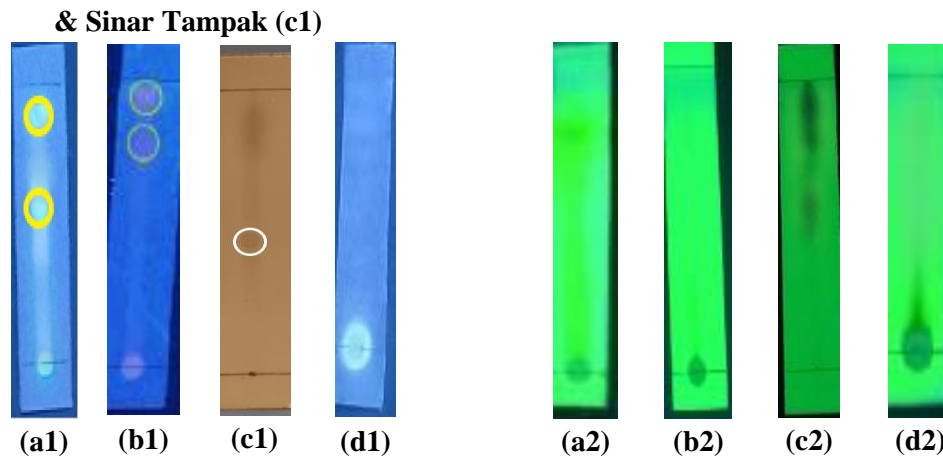
Keterangan: (a) peraksi sitroborat, (b) pereaksi dragendroff, (c) pereaksi FeCl₃, (d) pereaksi *libermann-burchard*.

Pada fraksi *n*-heksan hasil positif yang ditunjukkan diduga merupakan senyawa steroid/triterpenoid dengan spot berwarna hijau kekuningan (a1) setelah disemprot menggunakan pereaksi *liberman burcard* pada Rf 0,575 dan 0,875 di bawah sinar tampak UV 366 nm. Dari hasil tersebut dapat diketahui bahwa fraksi *n*-heksan ekstrak etanol daun binahong merah (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) mengandung senyawa fitokimia steroid/teriterpenoid.

b. KLT Fraksi Etil Asetat

Sinar UV 366 nm (a1), (b1), (d1)

Sinar UV 254 nm

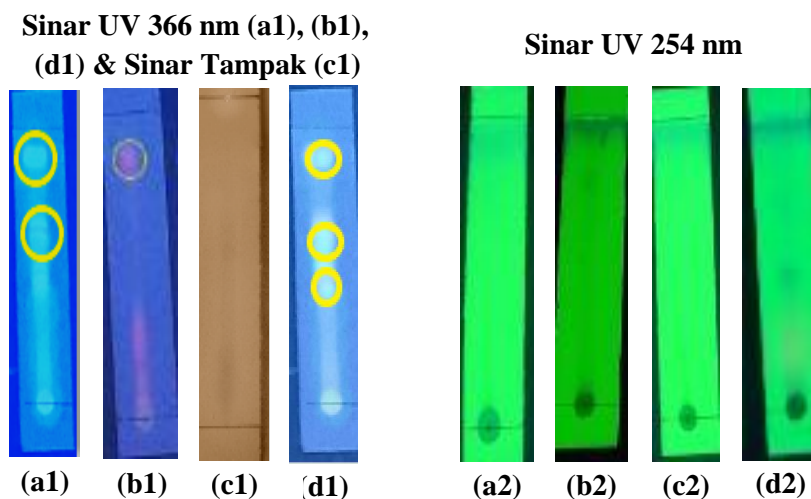


Gambar 3. Hasil skrining fitokimia fraksi etil asetat. (a1) Hasil positif flavonoid, (b1) Hasil positif alkaloid, (c1) Hasil positif tanin, (d1) Hasil negatif steroid/triterpenoid.

Keterangan: (a) peraksi sitroborat, (b) pereaksi dragendroff, (c) pereaksi FeCl_3 , (d) pereaksi *libermann-burchard*.

Pada fraksi etil asetat hasil positif ditunjukkan adanya spot berwarna biru kehijauan (a1), jingga kemerahan (b1) dan hitam (c1). Spot berwarna biru kehijauan setelah disemprot menggunakan pereaksi sitroborat dengan Rf 0,575 dan 0,825 di bawah sinar UV 366 nm diduga merupakan senyawa flavonoid. Spot berwarna jingga kemerahan setelah disemprot menggunakan pereaksi dragendroff pada Rf 0,75 dan 0,9 di bawah sinar UV 366 nm diduga merupakan senyawa alkaloid dan spot berwarna hitam setelah disemprot dengan pereaksi FeCl_3 1% di bawah sinar tampak dengan Rf 0,45 diduga merupakan senyawa tannin. Dari hasil tersebut dapat diketahui bahwa fraksi etil asetat ekstrak etanol daun binahong merah (*Anredera cordifolia* (Ten.) steenis) mengandung senyawa fitokimia flavonoid, alkaloid dan tannin.

c. KLT Fraksi Etanol-air



Gambar 4. Hasil skrining fitokimia fraksi etanol-air. (a1) Hasil positif flavonoid, (b1) Hasil positif alkaloid, (c1) Hasil negatif tanin, (d1) Hasil positif steroid/triterpenoid.

Keterangan: (a) peraksi sitroborat, (b) pereaksi dragendroff, (c) pereaksi FeCl_3 , (d) pereaksi *libermann-burchard*.

Pada KLT fraksi etanol-air menunjukkan adanya spot berwarna biru kehijauan (a1), jingga kemerahan (b1) dan biru kekuningan (d1). Spot berwarna biru kehijauan setelah disemprot

menggunakan pereaksi sitroborat pada Rf 0,55 dan 0,825 di bawah sinar tampak UV 366 nm diduga merupakan senyawa flavonoid. Spot berwarna jingga kemerahan setelah disemprot pereaksi dragendrof pada Rf 0,85 di bawah sinar tampak UV 366 nm diduga merupakan senyawa alkaloid. Sementara itu spot berwarna hijau kekuningan setelah disemprot menggunakan pereaksi *liberman burcard* pada Rf 0,55 ; 0, 625 dan 0,85 di bawah sinar tampak UV 366 nm diduga merupakan senyawa steroid/triterpenoid. Dari hasil tersebut dapat diketahui bahwa fraksi etanol-air ekstrak etanol daun binahong merah (*Anredera cordifolia* (Ten.) steenis) mengandung senyawa fitokimia flavonoid, alkaloid dan steroid/triterpenoid.

Tabel 7
Hasil KLT Fraksi *n*-Heksan, Etil Asetat dan Etanol-air

Fraksi	Fase Gerak	Senyawa Fitokimia	Pereaksi	Hasil	Rf			
		Flavonoid	Sitroborat	Tidak terbentuk spot				
		Alkaloid	Dragendroff	Tidak terbentuk spot				
		Tannin	FeCl ₃ 1%	Tidak terbentuk spot				
<i>n</i> -Heksan	<i>n</i> -heksan : etil asetat 2:8	Steroid/ Triterpenoid	<i>Liberman- Buchard</i>	Adanya flouresensi berwarna hijau kekuningan	0,575			
					0,875			
Etil Asetat	etil asetat : <i>n</i> -heksan 7:3	Flavonoid	Sitroborat	Adanya flouresensi berwarna biru kehijauan	0,575 0,825			
		Alkaloid	Dragendroff	Adanya flouresensi berwarna jingga kemerahan	0,75 0,9			
		Tannin	FeCl ₃ 1%	Adanya spot berwarna hitam di bawah sinar tampak	0,45			
Etanol-air	etil asetat : <i>n</i> -heksan 7:3	Steroid/ triterpenoid	<i>Liberman- Buchard</i>	Adanya flouresensi berwarna hijau kekuningan	0,55 0,825			
					Alkaloid	Dragendroff	Adanya flouresensi berwarna jingga kemerahan	0,85
					Tannin	FeCl ₃ 1%	Tidak terbentuk spot	
				Adanya flouresensi berwarna hijau kekuningan	0,55 0,625 0,85			

E. Hasil Uji Penghambatan Enzim Alfa Amilase

Uji aktivitas penghambatan enzim alfa amilase dilakukan secara *in vitro*. Pada prinsipnya, pengujian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas penghambatan enzim alfa amilase dengan

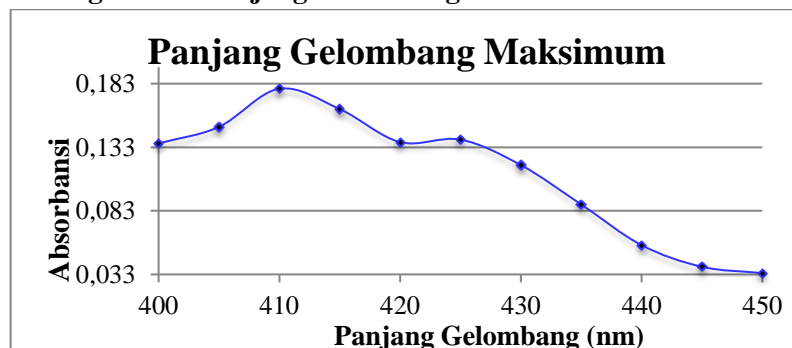
mengamati intensitas warna biru pada kompleks iodine-pati karena berkurangnya substrat pati akibat hidrolisis yang dilakukan oleh enzim alfa amilase menjadi monosakarida (glukosa) yang tidak bereaksi dengan iodine (Wardani, 2017).

Intensitas warna diukur menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Pengukuran dilakukan terhadap blanko, kontrol blanko, sampel dan kontrol sampel. Pengujian larutan blanko dan kontrol blanko bertujuan untuk mengetahui aktivitas enzim alfa amilase dalam merubah pati menjadi glukosa. Pengujian juga dilakukan pada kontrol sampel yang berperan sebagai faktor koreksi bahwa absorbansi yang diukur pada sampel merupakan absorbansi yang disebabkan oleh aktivitas enzim alfa amilase. Sampel pengujian terdiri dari acarbose, ekstrak etanol, fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi etanol-air. Acarbose digunakan sebagai pembanding karena memiliki mekanisme kerja sebagai inhibitor alfa amilase pankreas dan hidrolase alfa glukosida usus yang terkait membran. Dengan menunda pencernaan karbohidrat, acarbose memperlambat penyerapan glukosa yang mengakibatkan penurunan konsentrasi glukosa darah postprandial (Rosak & Mertes, 2012).

Penggunaan amilum dalam penelitian ini bertujuan sebagai substrat dari enzim alfa amilase. Penggunaan DMSO sebagai pelarut karena DMSO memiliki sifat tidak mudah menguap (*non-volatile solvents*). Selain itu DMSO merupakan pelarut organik paling kuat yang dapat melarutkan berbagai macam bahan organik secara efektif (Jacob & Jack, 2015). Larutan HCl digunakan untuk menghentikan reaksi enzimatik, hal ini dikarenakan pH merupakan suatu faktor yang mempengaruhi aktivitas dan stabilitas enzim dalam suatu reaksi enzimatik yang melibatkan pelepasan atau penyerapan proton (Gruber *et al.*, 2017). Larutan *buffer phosphate* pH 6,9 digunakan untuk mempertahankan pH enzim alfa amilase sehingga selama proses berlangsungnya reaksi enzim tetap bekerja secara optimal. Reagen iodine digunakan sebagai indikator warna karena pati bereaksi dengan reagen iodine membentuk warna biru kehitaman atau ungu (Louis & Gabriel, 2014).

Sebelum pengujian perlu dilakukan pengukuran panjang gelombang maksimum. Tujuan penentuan panjang gelombang maksimum agar mengetahui daerah serapan dalam kondisi optimum yang dihasilkan dari nilai absorbansi yang diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis (Sudewi & Pontoh, 2018). Optimasi dilakukan pada rentang panjang gelombang 400-450 nm dan diperoleh panjang gelombang maksimum 410 nm dengan nilai absorbansi sebesar 0,174. Hasil penentuan panjang gelombang maksimum enzim alfa amilase dapat dilihat pada gambar 1.

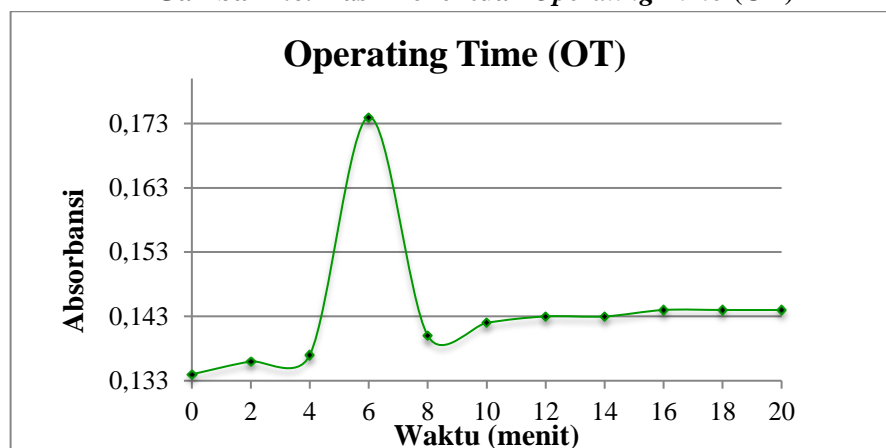
Gambar 5
Grafik Pengukuran Panjang Gelombang Maksimum Enzim Alfa Amilase



Setelah pengukuran panjang gelombang maksimum kemudian dilakukan penentuan *operating time* (OT). *Operating time* merupakan waktu pengukuran yang dilakukan untuk mengetahui waktu pengukuran yang stabil (Salamah & Widyasari, 2015). *Operating time* ditentukan dengan mengukur absorbansi pada gelombang maksimum yang telah ditentukan

sebelumnya yaitu 410 nm, selama 20 menit dengan interval waktu 2 menit. Hasil pengukuran operating time didapatkan pada menit ke 18, dapat dilihat pada gambar 2.

Gambar 4.6. Hasil Penentuan *Operating Time* (OT)



Berdasarkan gambar Uji penghambatan aktivitas enzim alfa amilase dilakukan terhadap sampel acarbose, ekstrak etanol dan fraksi daun binahong merah. Acarbose yang digunakan sebagai pembanding dibagi menjadi lima konsentrasi yaitu 0,625 ppm, 1,25 ppm, 2,5 ppm, 5 ppm dan 10 ppm. Sedangkan konsentrasi ekstrak etanol dan fraksi yang digunakan adalah 12,5 ppm, 25 ppm, 50 ppm, 100 ppm dan 200 ppm. Hasil pengukuran sampel dapat dilihat pada tabel 8.

Table 8
Hasil Uji Aktivitas Enzim Alfa Amilase

Sampel	Konsentrasi (ppm)	Penghambatan (%)	IC ₅₀ (mg/mL)
Acarbose	0,625	45,686	1,522
	1,25	49,319	
	2,5	54,042	
	5	57,766	
	10	62,398	
Ekstrak etanol	12,5	14,986	133,926
	25	21,435	
	50	35,604	
	100	49,591	
	200	61,217	
Fraksi <i>n</i> -heksan	12,5	13,896	159,042
	25	18,347	
	50	22,797	
	100	41,144	
	200	57,584	
Fraksi Etil Asetat	12,5	40,690	23,609
	25	47,866	
	50	62,035	
	100	74,932	
	200	84,650	
Fraksi Etanol-Air	12,5	37,239	31,704

25	47,411
50	64,396
100	69,119
200	90,282

Berdasarkan tabel 8 hasil pengujian tersebut ekstrak etanol dan fraksi daun binahong merah memiliki aktivitas dalam menghambat enzim alfa amilase secara *in vitro*. Nilai IC_{50} yang diperoleh dari sampel acarbose, ekstrak etanol, fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi etanol air berturut-turut sebesar 1,522 mg/mL, 133,926 mg/mL, 159,042 mg/mL, 23,609 mg/mL, 31;704 mh/mL. IC_{50} merupakan konsentrasi dari senyawa atau ekstrak yang memiliki aktivitas penghambatan terhadap enzim alfa amilase sebesar 50%. IC_{50} diperoleh dari suatu persamaan regresi linier yang menyatakan hubungan antara konsentrasi sampel sebagai variabel x dengan % penghambatan sebagai variabel y . Semakin kecil nilai IC_{50} , maka aktivitas penghambatan senyawa atau ekstrak semakin baik (Chang, 2020).

Dari hasil pengukuran % penghambatan menunjukkan bahwa fraksi etil asetat mempunyai aktivitas penghambatan enzim xantin oksidase tertinggi dengan nilai IC_{50} sebesar 23,609 mg/mL. Hal ini dikarenakan etil asetat merupakan pelarut semi polar sehingga dapat menarik senyawa yang terkandung dalam ekstrak seperti fenolik dan flavonoid. Flavonoid juga dapat menghambat fosfodiesterase sehingga meningkatkan cAMP pada sel β pankreas (Puspati *et al.*, 2013).

Dalam penelitian (Ramadhani, 2018) tentang Uji Aktivitas Penghambatan α -Amilase Secara In Vitro Ekstrak Akar Durian (*Durio zibethinus*) menunjukkan bahwa fraksi etil asetat dari ekstrak akar durian (*Durio zibethinus*) mempunyai aktivitas tertinggi untuk menghambat enzim α -amilase diantara ketiga fraksi (fraksi *n*-heksan, etil asetat dan methanol) ekstrak dengan nilai IC_{50} 10,46 bpj. Adanya perbedaan nilai IC_{50} fraksi etil asetat yang dihasilkan dengan penelitian ini dapat disebabkan oleh perbedaan sampel tanaman sehingga senyawa fitokimia yang terkandung pun berbeda.

Kesimpulan

Berdasarkan dari hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa Ekstrak etanol daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) mengandung senyawa fitokimia antara lain flavonoid, alkaloid, tannin dan steroid/triterpenoid. Fraksi *n*-heksan daun binahong merah (mengandung senyawa fitokimia steroid/triterpenoid. Fraksi etil asetat daun binahong merah mengandung senyawa fitokimia flavonoid, alkaloid dan tannin. Fraksi etanol-air daun binahong merah mengandung senyawa fitokimia flavonoid, alkaloid dan steroid. Fraksi etanol-air daun binahong merah mengandung senyawa fitokimia flavonoid, alkaloid dan steroid. Ekstrak etanol dan fraksi daun binahong merah (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) memiliki aktivitas penghambatan terhadap enzim alfa amilase secara *in vitro*. Fraksi etil asetat dianggap paling efektif dalam menghambat aktivitas enzim alfa amilase karena memiliki nilai IC_{50} sebesar 23,609. Konsentrasi fraksi etil asetat 200 ppm mempunyai % penghambatan tertinggi dalam menghambat enzim alfa amilase secara *in vitro*.

Bibliografi

- Ardiani, R., Nasution, H. M., & Tanjung, F. A. (2020). Uji Aktifitas Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) Terhadap Kadar Gula Darah Mencit. *PROSIDING SEMINAR NASIONAL HASIL PENELITIAN*, 3(1), 484–490.
- Ariandi, A. (2017). Pengenalan Enzim Amilase (Alpha-Amylase) Dan Reaksi Enzimatiknya Menghidrolisis Amilosa Pati Menjadi Glukosa. *Dinamika*, 7(1), 74–82.
- Ashworth, M. R. F., & Stahl, E. (2013). *Thin-layer Chromatography: A Laboratory Handbook*. Springer Science & Business Media.
- Carracher, A. M., Marathe, P. H., & Close, K. L. (2018). *International diabetes federation 2017*. Wiley Online Library. <https://doi.org/10.1111/1753-0407.12644>
- Chang, M. J. V. (2020). Uji Aktivitas Penghambatan Enzim Alfa-Amilase Oleh Ekstrak Air Daun Sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees.) Secara In Vitro.
- DepKes, R. I. (2000). Parameter standar umum ekstrak tumbuhan obat. *Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia*.
- Devi, E. T. (2017). Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavanoid pada Ekstrak Daun Seledri (*Apium graveolens* L.) dengan Metode Refluks. *PSEJ (Pancasakti Science Education Journal)*, 2(1), 56–67.
- Gruber, P., Marques, M. P. C., Sulzer, P., Wohlgemuth, R., Mayr, T., Baganz, F., & Szita, N. (2017). Real-time pH Monitoring of Industrially Relevant Enzymatic Reactions in a Microfluidic Side-entry Reactor (μ SER) Shows Potential for pH Control. *Biotechnology Journal*, 12(6), 1600475. <https://doi.org/10.1002/biot.201600475>
- Harborne, J. B. (1987). Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisa Tumbuhan. (Terjemahan, Kosasih Padmawinata). *ITB (Buku Asli 1984)*. Bandung.
- Hidayah, W. W., Kusri, D., & Fachriyah, E. (2016). Isolasi, Identifikasi Senyawa Steroid dari Daun Getih-getihan (*Rivina humilis* L.) dan Uji Aktivitas Sebagai Antibakteri. *Jurnal Kimia Sains Dan Aplikasi*, 19(1), 32–37.
- Jacob, S. W., & Jack, C. (2015). *Dimethyl Sulfoxide (DMSO) in Trauma and Disease*. CRC press.
- Louis, M. N., & Gabriel, B. O. (2014). Colour of Starch-iodine Complex as Index of Retrogradability of Starch Pastes. *African Journal of Pure and Applied Chemistry*, 8(5), 89–93.
- Makalalag, I. W., & Wullur, A. (2013). Uji ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia* Steen.) terhadap kadar gula darah pada tikus putih jantan galur Wistar (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi sukrosa. *PHARMACON*, 2(1). <https://doi.org/10.35799/pha.2.2013.883>
- Marzuki, R. D., & Nova, A. (2018). Pembinaan Masyarakat Tentang Pemanfaatan Tanaman Binahong (*Anredera cordifolia*) Sebagai Obat Tradisional Di Gampong Sidorejo Langsa Lama. *Jurnal Jeumpa*, 5(2), 112–118.
- Nurhasnawati, H., Sukarmi, S., & Handayani, F. (2017). Perbandingan metode ekstraksi maserasi dan sokletasi terhadap aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun jambu bol (*Syzygium malaccense* L.). *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 3(1), 91–95. <https://doi.org/10.51352/jim.v3i1.96>
- Organization, W. H. (1999). *Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its*

complications: report of a WHO consultation. Part 1, Diagnosis and classification of diabetes mellitus. World health organization.

- Pamungkas, A. R., & Indrayudha, P. (2019). Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Etanol, Fraksi Etanol-Air, Etil Asetat Serta N-Heksana Buah Pare (*Momordica charantia*) Pada Sel MCF-7 Secara In-Vitro. *Pharmacon: Jurnal Farmasi Indonesia*, 16(2), 73–82. <https://doi.org/10.23917/pharmacon.v16i2.9049>
- Puspati, N. K. S., Anthara, M. S., & Dharmayudha, A. (2013). Pertambahan Bobot Badan Tikus Diabetes Melitus dengan Pemberian Ekstrak Etanol Buah Naga Daging Putih. *Indonesia Medicus Veterinus*, 2(2), 225–234.
- Putri, E. E., Andriani, Y., Andriani, L., & Handharyani, E. (2020). Studi Gambaran Histopatologi Otak Mencit Pasca Pemberian Fraksi Daun Binahong (*Basella alba*) Sebagai Neuroprotektan. *Jurnal Farmamedika (Pharmamedika Journal)*, 5(2), 38–44. <https://doi.org/10.47219/ath.v5i2.94>
- Ramadhani, F. (n.d.). *Uji Aktivitas Penghambatan α -Amilase Secara In Vitro Ekstrak Akar Durian (*Durio zibethinus*)*.
- Riwanti, P., Izazih, F., & Amaliyah, A. (2020). Pengaruh Perbedaan Konsentrasi Etanol pada Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol 50, 70 dan 96% *Sargassum polycystum* dari Madura. *Journal of Pharmaceutical Care Anwar Medika (J-PhAM)*, 2(2), 82–95. <https://doi.org/10.36932/jpcam.v2i2.1>
- Roglic, G. (2016). WHO Global report on diabetes: A summary. *International Journal of Noncommunicable Diseases*, 1(1), 3.
- Rosak, C., & Mertes, G. (2012). Critical Evaluation of the Role of Acarbose in the Treatment of Diabetes: Patient Considerations. *Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy*, 5, 357.
- Saifudin, A. (2014). *Senyawa Alam Metabolit Sekunder Teori, Konsep, dan Teknik Pemurnian*. Deepublish.
- Saifudin, A., Teruna, H. Y., & Rahayu, V. (2017). *Standardisasi Bahan Obat Alam*. Graha Ilmu.
- Salamah, N., & Widyasari, E. (2015). Aktivitas antioksidan ekstrak metanol daun kelengkeng (*Euphoria longan* (L) Steud.) dengan metode penangkapan radikal 2, 2'-difenil-1-pikrilhidrazil. *Pharmaciana*, 5(1), 25–34.
- Samirana, P. O., Swastini, D. A., Ardinata, I. P. R., & Suarka, I. (2017). Penentuan Profil Kandungan Kimia Ekstrak Etanol Daun Binahong (*Anredera scandens* (L.) Moq.). *Jurnal Farmasi Udayana*, 6(1), 23–33.
- Sudewi, S., & Pontoh, J. (2018). *Optimasi dan Validasi Metode Analisis Dalam Penentuan Kandungan Total Fenolik pada Ekstrak Daun Gedi Hijau (*Abelmoschus manihot* L.) yang Diukur dengan Spektrofotometer UV-VIS*. *Pharmacon*, 7 (3), 32–41.
- Sukandar, E. Y., Qowiyyah, A., & Larasari, L. (2011). Efek ekstrak metanol daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) terhadap gula darah pada mencit model diabetes melitus. *J Med Planta*, 1(4), 1–10.
- Sumayyah, S., & Salsabila, N. (2017). Obat Tradisional: Antara Khasiat dan Efek Sampingnya. *Majalah Farmasetika*, 2(5), 1–4. <https://doi.org/10.24198/farmasetika.v2i5.16780>

- Titus, M. B. M., Fachriyah, E., & Kusriani, D. (2013). Isolasi, Identifikasi dan Uji Aktifitas Senyawa Alkaloid Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steenis). *Chem. Info*, 1(1), 196–201.
- Utami, Y. P., Umar, A. H., Syahrini, R., & Kadullah, I. (2017). Standardisasi Simplisia dan Ekstrak Etanol Daun Leilem (*Clerodendrum minahassae* Teijsm. & Binn.). *Journal of Pharmaceutical and Medicinal Sciences*, 2(1).
- Voight, R. (1994). Buku Pengantar Teknologi Farmasi. *Penerjemah N. Soedani. Universitas Gadjah Mada Pr Ess, Yogyakarta*.
- Wardani, N. A. K. (2017). Enzim α -Amilase Inhibitor pada Ekstrak Air Kacang Merah (*Phaseolus vulgaris* L.) untuk Penanggulangan Diabetes Melitus. *Jurnal Ilmu Pangan Dan Hasil Pertanian*, 1(2), 50–59. <https://doi.org/10.26877/jiphp.v1i2.1900>
- Wardhani, L. K., & Sulistyani, N. (2012). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Daun Binahong (*Anredera scandens* (L.) Moq.) Terhadap *Shigella flexneri* Beserta Profil Kromatografi Lapis Tipis. *Jurnal Ilmiah Kefarmasian*, 2(1), 1–6.
- Wulandari, L. (2011). *Kromatografi Lapis Tipis*.
- Zulfa, E., Lailatunnida, L., & Murukmihadi, M. (2018). Formulasi Sediaan Krim Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis): Kajian Karakteristik Fisika Kimia dan Uji Iritasi Kulit. *Jurnal Inovasi Teknik Kimia*, 3(1). <https://doi.org/10.31942/inteka.v3i1.2125>