

**AKTIVITAS DAN ISOLASI SENYAWA AKTIF PENGHAMBAT ENZIM ALFA-  
GLUKOSIDASE DARI EKSTRAK ETIL ASETAT DAUN STEVIA  
(*Stevia rebaudiana* Bertoni) SECARA *IN VITRO***

**ACTIVITY AND ISOLATION OF ACTIVE COMPOUND ALPHA-GLUCOSIDASE  
ENZYME INHIBITOR FROM ETHYL ACETATE EXTRACT OF STEVIA LEAVES  
(*Stevia rebaudiana* Bertoni) *IN VITRO***

**Laura Stephanie Joner<sup>\*1</sup>, Lilik Sulastris<sup>1,2</sup>, Partomuan Simanjuntak<sup>2,3</sup>**

<sup>1</sup>Sekolah Tinggi Teknologi Industri dan Farmasi (STTIF) Bogor, Indonesia

<sup>2</sup>Fakultas Farmasi, Universitas Pancasila Jakarta, Indonesia

<sup>3</sup>Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional (BBPPTOOT), Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN), Cibinong, Indonesia

\*Corresponding Author: laura.joner65@gmail.com

Diterbitkan: 01 Maret 2023

**ABSTRACT**

Stevia leaves (*Stevia rebaudiana* Bertoni) is a plant that commonly used as a natural sweetener to replace sugar. According to research, stevia has many health benefits and one of them is antidiabetic. The aims of this research are to determine the activity of the ethyl acetate extract of stevia leaves (*Stevia rebaudiana* Bertoni) as an inhibitor of  $\alpha$ -glucosidase enzyme. The stages on this research include extraction with 96% ethanol solvent, then the ethanolic extract was partitioned with ethyl acetate – water = 1:1. Isolation and purification of the ethyl acetate extract was carried out by column chromatography (SiO<sub>2</sub>; i). *n*-hexane – etil acetate = 10 : 1 ~ 1 : 1 ii). *n*-hexane – etil acetate = 20:1 which was guided by testing the inhibitory activity of  $\alpha$ -glucosidase enzyme by *in vitro* studies. The results showed that the STEA-1.1 fraction had the best activity with IC<sub>50</sub> value 39,55 ± 0,51 ppm compared to the partitioned ethyl acetate extract with an IC<sub>50</sub> value 43,47 ± 0,05 ppm, while the acarbose had an IC<sub>50</sub> value 19,24 ± 0,03 ppm.

**Keywords:** *Stevia rebaudiana* Bertoni,  $\alpha$ -glucosidase, Antidiabetic, Indonesian Medicinal Plants, IC<sub>50</sub>

**ABSTRAK**

Daun Stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) adalah tanaman yang biasa digunakan sebagai pemanis alami pengganti gula. Menurut penelitian, stevia mempunyai banyak manfaat bagi kesehatan dan salah satunya sebagai antidiabetes. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas dari ekstrak etil asetat daun stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) sebagai penghambat enzim  $\alpha$ -glukosidase. Tahapan penelitian yang dilakukan meliputi ekstraksi dengan pelarut etanol 96%, kemudian dipartisi dengan etil asetat – air = 1:1. Isolasi dan pemurnian terhadap ekstrak etil asetat dengan kromatografi kolom (SiO<sub>2</sub>; i). *n*-heksan – etil asetat = 10 : 1 ~ 1 : 1 ii). *n*-heksan – etil asetat = 20:1 yang dipandu dengan pengujian aktivitas penghambatan enzim  $\alpha$ -glukosidase secara *in vitro*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa fraksi STEA 1-1 menunjukkan aktivitas penghambatan enzim  $\alpha$ -glukosidase yang paling baik dengan nilai IC<sub>50</sub> sebesar 39,55 ± 0,51 ppm dibandingkan ekstrak etil asetat hasil partisi dengan nilai IC<sub>50</sub> sebesar 43,47 ± 0,05 ppm, sedangkan akarbose memiliki IC<sub>50</sub> sebesar 19,24 ± 0,03 ppm.

**Kata kunci :** *Stevia rebaudiana* Bertoni,  $\alpha$ -glukosidase, Antidiabetes, Tanaman Obat Indonesia, IC<sub>50</sub>.

**PENDAHULUAN**

Diabetes atau hiperglikemia merupakan salah satu masalah yang paling umum terjadi di seluruh dunia. Diabetes adalah suatu penyakit gangguan metabolik yang ditandai dengan

terjadinya kenaikan kadar gula dalam darah serta abnormalitas dalam proses metabolisme lemak, protein, dan karbohidrat yang disebabkan karena kelainan sekresi insulin, kerja insulin, maupun keduanya [1]. Berdasarkan data dari

*International Diabetes Federation* (IDF) pada tahun 2021, penderita diabetes melitus (DM) mencapai 10,5% dari total populasi dunia dan diperkirakan jumlah tersebut akan terus meningkat pada tahun 2030 menjadi 11,3% dan 12,2% pada tahun 2045. Indonesia berada di peringkat ke-5 dunia dengan penderita diabetes melitus sebanyak 19,5 juta jiwa [2].

Beberapa upaya dapat dilakukan untuk mengurangi dan mengendalikan diabetes, salah satu pendekatan terapi yang dilakukan yaitu mengendalikan kadar glukosa darah dengan menunda penyerapan glukosa pada saluran pencernaan. Enzim  $\alpha$ -glukosidase adalah enzim yang berperan untuk menghidrolisis karbohidrat menjadi glukosa dan berpengaruh terhadap terjadinya peningkatan kadar glukosa darah. Oleh karena itu, penghambatan enzim ini secara signifikan dapat mengurangi penyerapan dan peningkatan glukosa darah pada penderita diabetes [3]. Hal tersebut dapat dilakukan melalui penggunaan obat antidiabetes oral sintetis. Namun, penggunaan obat sintetis tersebut dapat menyebabkan efek samping dan menimbulkan masalah serius seperti rasa kembung dan rasa tidak nyaman pada perut, diare, dan kegagalan serta kerusakan fungsi hati [4]. Mengingat efek samping yang ditimbulkan tersebut, hal ini mendorong upaya untuk dilakukan pengembangan dan penelitian obat antidiabetes non sintetis dengan harapan pengobatan alami memiliki aktivitas dan sifat lebih baik dengan risiko efek samping yang rendah.

Tanaman obat Indonesia telah banyak digunakan untuk tujuan kesehatan dan pengobatan, salah satunya untuk pengobatan diabetes. Daun stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) telah lama digunakan dan memiliki banyak manfaat untuk pengobatan bagi berbagai penyakit, salah satunya untuk pengobatan diabetes [5]. Daun stevia dikenal sebagai pemanis alami bebas kalori berkualitas tinggi [3]. Rasa manis dari stevia berasal dari senyawa glikosida diterpene yang terkandung didalamnya seperti isosteviol, stevioside, rebaudioside A-F, steviolbioside, dulcoside, dan rubusoside [6]. Selain itu, daun stevia juga mengandung antrakuinon, steroid, sterol, saponin, alkaloid, flavonoid, tannin dan triterpene [7],[8]. Shivanna *et al.*, juga menyatakan bahwa polifenol yang terkandung didalam daun stevia dapat menurunkan kadar glukosa darah sebesar 64% dan ekstrak daun stevia tergolong aman untuk mencegah dan mengobati diabetes [9].

Berdasarkan hasil penelitian sebelumnya, ekstrak etanol stevia memiliki aktivitas inhibisi terhadap enzim  $\alpha$ -glukosidase sebesar 34,74% [10]. Sedangkan ekstrak etil asetat daun stevia yang didapat melalui proses maserasi bertingkat dapat menghambat enzim  $\alpha$ -glukosidase sebesar 31,5% [11]. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui adanya senyawa bioaktif dalam ekstrak etil asetat daun stevia yang mempunyai aktivitas penghambatan terhadap enzim  $\alpha$ -glukosidase.

## METODOLOGI PENELITIAN

### Alat dan Bahan

Alat yang digunakan terdiri dari perangkat gelas, pH meter, set kromatografi, pipa kapiler, set KLT lempeng silika gel GF<sub>254</sub>, *chamber*, inkubator (Firlabo), *hotplate* (Maspiion), timbangan analitik (Precisa 240A), lampu UV 254 nm, mikropipet (Thermo Scientific), Microplate (Corning® 96 Well TC-Treated Microplates size 96 wells, SIGMA), ELISA *reader* (Thermo Electron Corporation)

Bahan yang digunakan terdiri dari ekstrak etil asetat daun stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) yang tersedia di Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional (BBPPTOOT), Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN), metanol, diklorometan, *n*-heksan, etil asetat, akuades, enzim  $\alpha$ -glukosidase (Sigma), *p*-nitrofenil-D-glukopiranosida (*p*NPG) (Sigma-Aldrich N 1337-1G), akarbosa (tablet 100 mg generik Dexa Medica), stevioside (PT. Andalas Sitawa Fitolab), Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>.H<sub>2</sub>O, larutan buffer fosfat pH 6,8, dimetilsulfoksida (DMSO), serum sulfat (Ce(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>) 1%

### Cara Kerja

#### Fraksinasi dan Isolasi Menggunakan Kromatografi Kolom

Ekstrak etil asetat daun stevia yang akan difraksinasi dilakukan analisis KLT terlebih dahulu untuk mengetahui dan mendapatkan eluen yang sesuai untuk digunakan pada proses pemisahan menggunakan kromatografi kolom. Sebanyak 15 g ekstrak etil asetat daun stevia difraksinasi dengan kromatografi kolom (KK) menggunakan eluen yang diperoleh dari hasil analisis KLT sebelumnya. Pada KK pertama menggunakan sistem elusi gradien. Fase diam yang digunakan yaitu silika gel 60 *mesh* yang dilarutkan dalam eluen. Silika yang telah larut dimasukkan sedikit demi sedikit kedalam kolom.

Untuk memadatkan silika tersebut, kolom digetarkan secara perlahan. Sampel ekstrak etil asetat yang telah dihomogenkan dengan celite dimasukkan kedalam kolom, kemudian secara perlahan dimasukkan eluen sedikit demi sedikit melalui dinding kolom. Kemudian siapkan botol ± 50 mL untuk menampung eluat yang dihasilkan sambil dimonitor kembali dengan KLT.

Frakasi yang memiliki aktivitas tertinggi difraksinasi kembali menggunakan kromatografi kolom kedua dengan sistem elusi isokratik.

Subfraksi yang dihasilkan ditampung dalam vial dengan volume ± 30 mL sambil dimonitor menggunakan KLT dan dilakukan pengujian aktivitas kembali.

### Uji Penghambatan Enzim $\alpha$ -Glukosidase

Pengujian aktivitas dilakukan berdasarkan penelitian oleh Alvionitasari [12] dengan sedikit modifikasi. Skema dari uji aktivitas dapat dilihat pada Tabel 1.

**Tabel 1.** Skema Uji Aktivitas Penghambatan Enzim  $\alpha$ -Glukosidase

No.	Bahan	Blanko ( $\mu$ L)	K(-) ( $\mu$ L)	K(+) ( $\mu$ L)	Sampel ( $\mu$ L)
1.	Ekstrak etil asetat	-	-	-	50
2.	Akarbosa	-	-	50	-
3.	DMSO	5	5	-	-
4.	Dapar fosfat pH 6,8	95	60	15	15
5.	Substrat <i>p</i> NPG 5 mM	-	10	10	10
<i>Inkubasi pada suhu 37°C selama 5 menit</i>					
6.	Enzim $\alpha$ -glukosidase 0,15 U/mL	-	25	25	25
<i>Inkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit</i>					
7.	Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> 200 mM	100	100	100	100

Keterangan :

Blanko = campuran tanpa sampel dan enzim

K (-) = kontrol positif, campuran tanpa sampel dengan tambahan enzim

K (+) = kontrol positif, perbandingan sampel (antidiabetes : akarbosa)

Sampel = campuran fraksi etil asetat dengan penambahan enzim

Hasil yang diperoleh adalah absorbansi yang didapatkan dari hasil pengukuran menggunakan ELISA *reader* pada panjang gelombang 405 nm. Selanjutnya, dilakukan perhitungan % inhibisi menggunakan persamaan regresi linier yang berasal dari kurva *p*-nitrofenol yang terbentuk dengan rumus sebagai berikut [13]:

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{\text{Abs kontrol negatif} - \text{Abs sampel}}{\text{Abs kontrol negatif}} \times 100\%$$

Kemudian persentase penghambatan yang diperoleh dari data diatas digunakan untuk menghitung IC<sub>50</sub> dengan rumus persamaan regresi linier  $y = a + bx$  sebagai berikut :

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

Keterangan :

a dan b didapatkan dari persamaan regresi linier ( $y = a + bx$ ) antara konsentrasi (sumbu X) dan % penghambatan (sumbu Y).

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### Fraksinasi dan Isolasi Menggunakan Kromatografi Kolom

Ekstrak etil asetat daun stevia dianalisis menggunakan KLT terlebih dahulu untuk mengetahui dan mendapatkan eluen yang sesuai, yang kemudian akan digunakan untuk proses pemisahan menggunakan kromatografi kolom. Analisis KLT dari ekstrak etil asetat dilakukan dengan berbagai perbandingan eluen *n*-heksan – etil asetat (10:1, 5:1, 2:1). Eluen *n*-heksan – etil asetat 5:1 menunjukkan pemisahan noda lebih baik dibandingkan perbandingan fase gerak lainnya sehingga digunakan dalam proses KK pertama dengan metode elusi gradien mulai dari perbandingan 10:1 sampai 1:1 agar pemisahan

terjadi secara bertahap dan didapatkan pemisahan yang baik.

Untuk pemilihan fase gerak pada proses fraksinasi KK kedua didasari dari hasil analisis pada KLT sebelumnya dari fraksi hasil KK 1 dengan aktivitas paling tinggi yaitu STEA-1 dengan menggunakan eluen *n*-heksan – etil asetat 5:1, 10:1, 20:1. Profil KLT yang diperoleh menunjukkan bahwa perbandingan eluen *n*-heksan – etil asetat 20:1 menunjukkan pemisahan noda yang lebih baik dibandingkan perbandingan eluen lainnya, sehingga perbandingan ini digunakan untuk proses KK kedua menggunakan metode elusi isokratik dengan perbandingan komposisi pelarut yang tetap selama proses elusi untuk mendapatkan senyawa yang mempunyai polaritas sama secara bertahap.

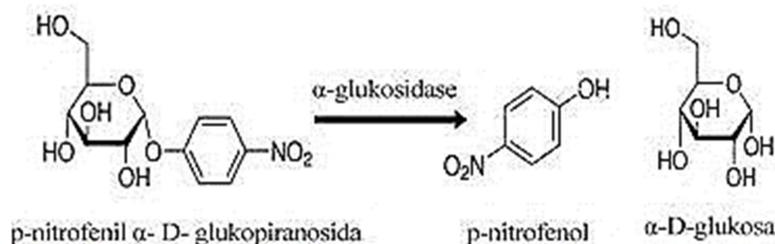
Hasil fraksinasi pada KK pertama diperoleh sebanyak 57 fraksi dan di KLT kembali. Analisis KLT fraksi gabungan KK 1 dilakukan dengan menggunakan perbandingan eluen *n*-heksan – etil asetat 5:1 dan 1:1. Fraksi yang memiliki pola kromatogram yang sama kemudian digabung, sehingga diperoleh total 9 fraksi gabungan hasil dari fraksinasi KK pertama. Selanjutnya hasil fraksi gabungan tersebut akan diuji aktivitas penghambatan enzim  $\alpha$ -glukosidase, hasil pengujian aktivitas disajikan pada Tabel 2.

Pada proses fraksinasi dari KK kedua diperoleh sebanyak 15 fraksi dan diperoleh total 6 fraksi gabungan dari hasil analisis KLT. Analisis KLT pada subfraksi gabungan dilakukan menggunakan eluen *n*-heksan – etil asetat 10:1 dan menunjukkan hasil pemisahan yang baik. Selanjutnya subfraksi tersebut akan dilakukan uji aktivitas penghambatan terhadap enzim  $\alpha$ -glukosidase yang disajikan pada Tabel 2.

### Uji Penghambatan Enzim $\alpha$ -Glukosidase

Pengujian aktivitas inhibisi enzim  $\alpha$ -glukosidase dilakukan terhadap larutan sampel, blanko, kontrol negatif dan kontrol positif dengan membandingkan nilai persen inhibisi dan konsentrasi yang dapat dilihat dalam bentuk persamaan regresi linier. Pengujian aktivitas inhibisi ini dilakukan dengan membuat larutan masing-masing sampel dengan konsentrasi 100 ppm.

Enzim  $\alpha$ -glukosidase berperan sebagai penghidrolisis substrat karbohidrat, substrat yang digunakan pada penelitian ini adalah *p*NPG. Penambahan sampel uji dilakukan untuk mengetahui adanya penghambatan aktivitas hidrolisis substrat yang menyebabkan terjadi penundaan pembentukan glukosa. Reaksi enzimatik dapat diamati pada Gambar 1.



Gambar 1. Reaksi enzimatik  $\alpha$ -glukosidase [14]

Substrat *p*NPG akan dihidrolisis oleh enzim  $\alpha$ -glukosidase yang akan membentuk intensitas warna kuning dari *p*-nitrofenol. Kemampuan sampel atau inhibitor dalam menghambat  $\alpha$ -glukosidase dapat diamati melalui intensitas warna *p*-nitrofenol yang terbentuk, yang mana semakin tinggi aktivitas penghambatan dari suatu sampel maka *p*-nitrofenol yang dihasilkan semakin berkurang dan warna kuning pada larutan akan lebih memudar dibandingkan larutan tanpa inhibitor [15].

Sampel uji ekstrak etil asetat daun stevia digunakan sebagai inhibitor enzim dengan pembanding akarbose sebagai kontrol positif. Hasil uji aktivitas disajikan pada Tabel 2. Ekstrak etil asetat daun stevia (STEA) menunjukkan persentase penghambatan sebesar 15,91%.

Fraksi yang diperoleh dari kromatografi kolom I menunjukkan aktivitas inhibisi yang terbesar dengan nilai sebesar 62,95% pada STEA-1. Sedangkan hasil subfraksi dari kromatografi kolom II yang diuji menunjukkan bahwa subfraksi STEA-1.1 adalah subfraksi

teraktif yang memiliki aktivitas penghambatan sebesar 87,70% terhadap enzim  $\alpha$ -glukosidase.

**Tabel 2.** Persentase Penghambatan Enzim  $\alpha$ -Glukosidase (Konsentrasi 100 ppm)

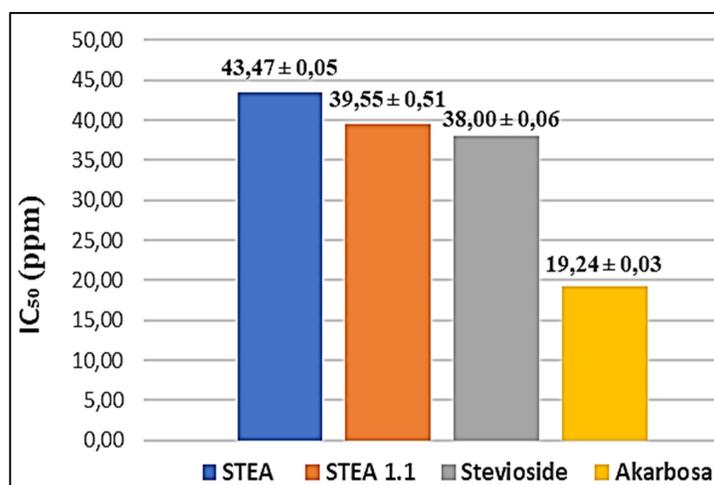
No.	Sampel	Inhibisi (%)
1.	STEA	15,91
Hasil Kromatografi Kolom I		
1.	STEA-1	62,95
2.	STEA-2	52,50
3.	STEA-3	57,72
4.	STEA-4	50,68
5.	STEA-5	34,77
6.	STEA-6	35,68
7.	STEA-7	30,68
8.	STEA-8	35,00
9.	STEA-9	21,14
Hasil Kromatografi Kolom II		
1.	STEA-1.1	87,70
2.	STEA-1.2	66,44
3.	STEA-1.3	78,52
4.	STEA-1.4	85,35
5.	STEA-1.5	87,02
6.	STEA-1.6	86,02

Keterangan : STEA = stevia etil asetat

Selanjutnya subfraksi yang memiliki aktivitas inhibisi terbaik dilakukan uji aktivitas  $IC_{50}$  untuk mengetahui besarnya konsentrasi yang dibutuhkan dalam menghambat setengah (50%)

dari aktivitas enzim. Semakin kecil nilai  $IC_{50}$  maka semakin tinggi aktivitas inhibisinya, begitupun sebaliknya. Nilai  $IC_{50}$  STEA-1.1 menunjukkan nilai  $IC_{50}$  sebesar  $39,55 \pm 0,51$  ppm yang tergolong aktif dalam menghambat enzim  $\alpha$ -glukosidase dan memiliki aktivitas lebih baik dibandingkan dengan ekstrak etil asetat hasil partisi sebesar  $43,47 \pm 0,05$  ppm. Hal ini mungkin disebabkan karena perbedaan pelarut dan metode yang digunakan. Fraksinasi menggunakan kromatografi kolom dapat memisahkan senyawa lebih spesifik dibandingkan metode partisi menggunakan corong pisah.

Aktivitas subfraksi STEA-1.1 juga dibandingkan dengan kontrol positif akarbosa dan stevioside sebagai senyawa yang khas dan banyak terkandung di dalam daun stevia. Nilai  $IC_{50}$  akarbosa sebagai kontrol positif sebesar  $19,24 \pm 0,03$  dan tergolong sangat aktif sedangkan stevioside tergolong aktif dengan nilai sebesar  $38 \pm 0,06$  ppm. Kedua sampel ini memiliki aktivitas lebih baik dibandingkan subfraksi STEA-1.1. Hasil nilai  $IC_{50}$  dapat dilihat pada Gambar 2. Tingkat kekuatan sampel dalam menghambat enzim  $\alpha$ -glukosidase terbagi kedalam 4 kategori yaitu  $\leq 25 \mu\text{g/mL}$  sangat aktif,  $25-50 \mu\text{g/mL}$  aktif,  $50-100 \mu\text{g/mL}$  kurang aktif, dan  $> 100 \mu\text{g/mL}$  tidak aktif [16].



**Gambar 2.** Grafik Perbandingan Nilai  $IC_{50}$

Penelitian ini menunjukkan adanya aktivitas penghambatan terhadap enzim  $\alpha$ -glukosidase yang signifikan pada fraksi etil asetat daun stevia, sehingga mungkin dapat dijadikan kandidat sebagai pengobatan alternatif untuk

diabetes. Adanya aktivitas penghambatan ini mungkin dikarenakan adanya kandungan glikosida, alkaloid, flavonoid, tannin. Beberapa penelitian menyebutkan bahwa senyawa metabolit sekunder tersebut memiliki banyak

manfaat untuk kesehatan, salah satunya sebagai antidiabetes [17].

#### KESIMPULAN

Dari hasil penelitian yang diperoleh dapat disimpulkan bahwa subfraksi 1-1 ekstrak etil asetat daun stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) menunjukkan aktivitas dan berpotensi aktif dalam menghambat enzim  $\alpha$ -glukosidase secara in vitro dengan nilai  $IC_{50}$  sebesar  $39,55 \pm 0,51$  ppm dibandingkan ekstrak etil asetat dengan nilai  $IC_{50}$  sebesar  $43,47 \pm 0,05$  ppm, sedangkan kontrol positif akar bosa memiliki nilai  $IC_{50}$  sebesar  $19,24 \pm 0,03$  ppm. Perlu dilakukan analisis lebih lanjut untuk mengetahui dan menentukan struktur kimia dari senyawa bioaktif dengan elusidasi struktur.

#### UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini dapat dilaksanakan dengan baik berkat bantuan dari berbagai pihak. Untuk itu peneliti mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional (BBPPTOOT) dari Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN) yang telah memberikan kesempatan kepada peneliti untuk melakukan penelitian.

#### DAFTAR PUSTAKA

- [1] Dipiro, J. T., Wells, B. G., Dipiro, C. V., & Schwinghammer, T. L. (2015). *Pharmacotherapy Handbook* (9th ed.).
- [2] IDF (International Diabetes Federation). (2021). *IDF Diabetes Atlas* (10th ed.). <https://diabetesatlas.org/>
- [3] Ruiz-Ruiz, J. C., Moguel-Ordoñez, Y. B., Matus-Basto, A. J., & Segura-Campos, M. R. (2015). Antidiabetic and antioxidant activity of *Stevia rebaudiana* extracts (Var. Morita) and their incorporation into a potential functional bread. *Journal of Food Science and Technology*, 52(12), 7894–7903. <https://doi.org/10.1007/s13197-015-1883-3>
- [4] Sok Yen, F., Shu Qin, C., Tan Shi Xuan, S., Jia Ying, P., Yi Le, H., Darmarajan, T., Gunasekaran, B., & Salvamani, S. (2021). Hypoglycemic Effects of Plant Flavonoids: A Review. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2021. <https://doi.org/10.1155/2021/2057333>
- [5] Amin, K., Ozgen, S., & Selamoglu, Z. (2017). *Stevia Rebaudiana: A Potential Boon for Human Health*. *SM Journal of Medicinal Plant Studies*, 1(1).
- [6] González, C., Tapia, M., Pérez, E., Pallet, D., & Dornier, M. (2014). Main properties of steviol glycosides and their potential in the food industry: A review. *Fruits*, 69(2), 127–141. <https://doi.org/10.1051/fruits/2014003>
- [7] Deshmukh, N., Sawate, A., Desai, G., Thorat, P., Kshirsagar, R., & Patil, B. (2018). Studies on proximate and phytochemical properties of *Stevia rebaudiana* leaves powder. *International Journal of Chemical Studies*, 6(2), 2231–2233. <http://www.chemijournal.com/archives/2018/vol6issue2/PartAF/6-1-338-462.pdf>
- [8] Momtazi-Borojeni, A. A., Esmaeili, S.-A., Abdollahi, E., & Sahebkar, A. (2017). A Review on the Pharmacology and Toxicology of Steviol Glycosides Extracted from *Stevia rebaudiana*. *Current Pharmaceutical Design*, 23(11), 1616–1622. <https://doi.org/10.2174/1381612822666161021142835>
- [9] Shivanna, N., Naika, M., Khanum, F., & Kaul, V. K. (2013). Antioxidant, anti-diabetic and renal protective properties of *Stevia rebaudiana*. *Journal of Diabetes and Its Complications*, 27(2), 103–113. <https://doi.org/10.1016/j.jdiacomp.2012.10.001>
- [10] Sulastri, L., Simanjuntak, P., Sumaryono, W., Ardiyanto, D., Djamil, R., & Abdillah, S. (2022). Antidiabetic Formulation Development Based on Natural Materials As  $\alpha$ -Glucosidase Enzyme Inhibitor. *Journal of Hunan University (Natural Sciences)*, 49(1).
- [11] Sulastri, L., Alawiyah, T., Isa, A. F., & Rob, P. H. (2020). *Potensi Kombinasi Ekstrak Daun Stevia ( Stevia Rebaudiana Bertoni ) Dan Daun Yakon ( Smalanthus Sonchifolius ( Poepp .) H . Rob .) Sebagai Inhibitor Enzim*. 64–68.
- [12] Alvionitasari, D. N., Sulastri, L., Desmiaty, Y., Syamsudin, & Simanjuntak, P. (2021). *Isolasi Dan Identifikasi Senyawa Kimia Penghambat Enzim  $\alpha$  - Glukosidase Dari Fraksi Air Daun Salam ( Syzygium Polyanthum (Wight) Walp.)*. 16–22.
- [13] Mahargyani, W. (2019). Uji Aktivitas Antidiabetes Ekstrak n-Heksan Kulit Buah

- Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*). *EduChemia (Jurnal Kimia Dan Pendidikan)*, 4(1), 13. <https://doi.org/10.30870/educhemia.v4i1.3958>
- [14] Pratama, Y., Sarjono, P. R., & Mulyani, N. S. (2015). Skrining Metabolit Sekunder Bakteri Endofit yang Berfungsi sebagai Antidiabetes dari Daun Mimba (*Azadirachta Indica*). *Jurnal Kimia Sains Dan Aplikasi*, 18(2), 73–78. <https://doi.org/10.14710/jksa.18.2.73-78>
- [15] Fadhli, H., Hendri Sandi, N., & Nurain Nurdin, A. (2021). Aktivitas Inhibisi Enzim Alfa-Glukosidase Dari Ekstrak Kulit Batang Bunga Kupu-Kupu (*Bauhinia semibifida* Roxb) Secara In Vitro. *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina (JIIS): Ilmu Farmasi Dan Kesehatan*, 6(2), 223–231. <https://doi.org/10.36387/jiis.v6i2.701>
- [16] Maryam, S. M., Suhaenah, A., & Amrullah, N. F. (2020). Uji Aktivitas Penghambatan Enzim  $\alpha$ -Glukosidase Ekstrak Etanol Biji Buah Alpukat Sangrai (*Persea americana* Mill.) Secara In Vitro. *Jurnal Ilmiah As-Syifaa*, 12(1), 51–56. <https://doi.org/10.33096/jifa.v12i1.619>
- [17] Sheeja, R. R., & Lawrence, B. (2015). Phytochemical Screening of the Leaves of *Stevia rebaudiana*, Bertoni. *Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci*, 4(3), 344–347.