

**Penetapan Kadar Flavonoid
Dan Uji Aktivitas
Penghambat Enzim α -amilase
Ekstrak Etanol Dan Fraksi
Batang Kersen (*muntingia
calabura l.*) Secara *In Vitro***

Djaya Saputra Pakiding

Universitas Duta Bangsa Surakarta

ABSTRAK

Diabetes Mellitus merupakan penyakit metabolik dan ditandai dengan kenaikan kadar glukosa dalam darah. Salah satu strategi penting dalam menurunkan kadar gula dalam darah adalah dengan menghambat enzim yang menghidrolisis karbohidrat seperti α -amilase. Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk mengetahui efek penghambatan ekstrak batang kersen terhadap aktivitas enzim α -amilase sebagai kandidat anti diabetes. Hasil fraksi dari ekstrak etanol batang kersen tersebut dievaluasi potensi penghambatannya terhadap enzim α -amilase dengan menggunakan metode spektrofotometri Uv-Vis serta menggunakan amilum sebagai substrat dan dihitung nilai IC_{50} nya. Hasil menunjukkan bahwa ekstrak etanol, ekstrak etil asetat dan ekstrak n- heksan yang diuji memiliki kemampuan menghambat aktivitas enzim α -amilase. dengan nilai IC_{50} berturut- turut yaitu 129,47 ppm, 10,25 ppm dan 110,80. Diantara ketiga fraksi ekstrak tersebut Fraksi etil asetat memiliki nilai penghambatan paling tinggi dengan nilai IC_{50} 10,25 ppm.

Kata kunci: Batang Kersen
(*Muntingia calabura*

L.), *diabetes melitus,*
enzim α - amilase.

ABSTRACT

Diabetes Mellitus is a metabolic disease and is characterized by an increase in blood glucose levels. One of the important strategies in lowering blood sugar levels is to inhibit enzymes that hydrolyze carbohydrates such as α -amylase. The purpose of this study was to determine the inhibitory effect of cherry stem extract on the activity of the α -amylase enzyme as an anti-diabetic candidate. The results of the fraction of ethanol extract of cherry stems were evaluated for their inhibition potential against the α -amylase enzyme using the UV-Vis spectrophotometric method and using starch as a substrate and the IC_{50} value was calculated. The results showed that the ethanol extract, ethyl acetate extract and n-hexane extract tested had the ability to inhibit the activity of the α -amylase enzyme. with IC_{50} values respectively 137,79 ppm, 19,712 ppm and 132,40 ppm. Among the three extract fractions, the ethyl acetate fraction had the highest inhibition value with an IC_{50} value of 19,712 ppm.

Key words: Stem Cherry (*Muntingia calabura L.*), *diabetes mellitus,* *enzyme α -amylase*

PENDAHULUAN

Diabetes Mellitus selalu mengalami peningkatan setiap tahun dan menjadi ancaman kesehatan dunia. Prevalensi Diabetes Mellitus tipe 2 menyumbang 90% dari semua diabetes dan merupakan salah satu yang terbanyak di seluruh dunia. Menurut Federasi Diabetes Internasional (IDF) (2019), sekitar setengah miliar orang menderita diabetes. Berdasarkan data World

Health Organization (WHO) memperkirakan 2,2 juta kematian akibat penyakit diabetes melitus.

Menurut Kemenkes RI (2018), Diabetes Melitus diperkirakan akan terus meningkat sekitar 600 juta jiwa pada tahun 2035. Sementara itu, hampir setengah dari populasi orang dewasa di Amerika menderita Diabetes Melitus (ADA, 2019). Pada tahun 2016, 1,7 juta orang dewasa di Taiwan didiagnosis sebagai menderita diabetes, dan menjadi penyebab kematian keempat atau kelima di antara orang dewasa Taiwan selama 1995-2015 (Ling Wu, *et.al*, 2019). Beban diabetes tipe 2 di Afrika Sub-Sahara diproyeksikan meningkat dua kali lipat pada tahun 2040, sebagian disebabkan oleh pola makan yang berubah dengan cepat (Kiguli, *et.al*, 2019).

Berdasarkan data sample registration survey 2014, menunjukkan bahwa diabetes mellitus merupakan penyebab kematian terbesar nomor 3 di Indonesia dengan persentase sebesar 6,7%, setelah Stroke (21,1%), dan penyakit jantung koroner (12,9%) (Kementerian Kesehatan RI, 2015). Berdasarkan hasil Riskesdas tahun 2013 dan 2018, prevalensi diabetes melitus pada penduduk yang berusia ≥ 15 tahun berdasarkan pemeriksaan darah di Indonesia meningkat dari tahun 2013 sebesar 6,9 % menjadi 8,5% pada tahun 2018. Sedangkan prevalensi diabetes melitus menurut diagnosa dokter di Indonesia meningkat dari 1,2 % menjadi 2%.

Kersen atau talok merupakan tanaman yang memiliki buah kecil berwarna merah dan manis seperti cery. Kersen merupakan salah satu jenis pohon pinggir jalan yang umum sekali dijumpai, terutama di wilayah-wilayah yang kering, bahkan tidak

hanya di pedesaan, di daerah perkotaan pun dapat dijumpai pohon ini. Pohon kecil ini awalnya tumbuh liar ditepi jalan, selokan atau bahkan ditengah retakan tembok lantai atau pagar. Walau sekarang banyak dipakai hanya sebagai tanaman peneduh, sebenarnya tanaman ini mempunyai manfaat kesehatan yang sangat berguna (Peoloengan, 2006).

Kersen (*Muntingia calabura* L.) merupakan tanaman yang telah lama digunakan masyarakat untuk berbagai tujuan pengobatan antara lain sebagai obat batuk, sakit kuning dan asam urat, sakit kepala, antipasmodik, antiseptik. Daun kersen mengandung berbagai zat kimia antara lain polifenol, flavanoid dan saponin (Warintek. 2006).

Meningkatnya angka penderita diabetes melitus di Indonesia dan menjadi permasalahan serius dalam bidang kesehatan, dan juga makin banyak pengobatan tradisional yang dipercaya masyarakat sebagai salah satu pengobatan alternatif, maka peneliti tertarik untuk melakukan penelitian “Uji Aktivitas Penghambat Enzim α -Amilase Ekstrak Etanol Dan Fraksi Batang Kersen (*Muntingia calabura* L.) Secara *In Vitro*”.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini termasuk penelitian eksperimental. Tempat dan waktu penelitian dilakukan di Laboratorium Farmasetika dan Kimia Universitas Duta Bangsa pada bulan Juni 2022.

Bahan:

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu ekstrak batang kersen, Amilum, aquadestillata, buffer fosfat pH 6,9, DMSO (*dimethyl sulfoxide*) 1%, etanol 96%,

enzim α -amilase, Etil asetat, HCL 1 N, *n*-heksan.

Alat:

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu Alumuniumfoil, Alat-alat gelas, cawan porselen, corong pisah, kain saring, mikropipet, penangas air, *rotary evaporator*, Spektrofotometri UV-Vis *thermo scientific*, timbangan analitik.

Cara Kerja:

1. Susut Pengeringan

Penetapan susut pengeringan serbuk batang kersen dengan cara menimbang serbuk batang kersen sebanyak 2 gram. Susut pengeringan diukur dengan alat *Moisture Balance*. standarisasi yang terdapat dalam Farmakope Herbal Indonesia Edisi I (2008) dimana nilai susut pengeringan tidak lebih dari 12%.

2. Penetapan Kadar Air

Penetapan kadar air serbuk batang kersen dengan cara menimbang serbuk batang kersen sebanyak 2 gram. Kadar air diukur dengan alat *Moisture Balance* yang dilakukan sebanyak 3 kali. Suhu diatur 105°C dan dihidupkan, ditunggu sampai alat berbunyi yang dimana menandakan analisis telah selesai. Kadar air memenuhi syarat bila suatu serbuk simplisia tidak boleh lebih dari 10 % (Maneak, 2018).

3. Skrining Fitokimia Ekstrak Batang Kersen

a) Uji Alkaloid

Sebanyak 0,5 g ekstrak ditambahkan 1 ml asam klorida 2 N dan 9 ml air suling, dipanaskan diatas penangas air selama 2 menit, didinginkan lalu disaring.

b) Uji Tanin

Sebanyak 2 g sampel tumbuhan yang telah dihaluskan, ditambahkan etanol sampai sampel terendam sepenuhnya. Kemudian 1 ml larutan dipindahkan kedalam tabung reaksi dan ditambahkan 2-3 tetes larutan FeCl₃ 1 %. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna hitam kebiruan atau hijau (Ngajow dkk, 2013).

c) Uji Flavonoid

Sebanyak 0,1 g ekstrak simplisia ditambahkan 100 ml air panas, didihkan selama 5 menit dan saring dalam keadaan panas. Filtrat yang diperoleh kemudian diambil 5 ml lalu tambahkan 0,1 g serbuk Mg dan 1 ml HCl pekat dan 2 ml amil alkohol, digojok lalu dibiarkan memisah, jika terjadi warna merah, kuning atau jingga pada lapisan amil alkohol menunjukkan adanya flavonoid (Harbone, 1987).

d) Uji Saponin

Sebanyak 5 g sampel dimasukan kedalam tabung reaksi dan tambahkan 10 ml air suling panas, didinginkan kemudian dikocok kuat-kuat selama 10 menit hingga setinggi 1-10 cm. pada penambahan 1 tetes larutan asam klorida 2 N, apabila buih tidak menghilang menunjukjan adanya saponin (DepKes, 1989).

4. Fraksinasi

Proses fraksinasi menggunakan partisi cair-cair, dilakukan dengan menimbang ekstrak kental batang kersen sebanyak 10 g dilarutkan dalam 50 mL etanol dan ditambahkan 100 mL aquades hangat daan diaduk

sampai larut dalam beaker glass, ditunggu hingga dingin. Setelah dingin dimasukkan ke dalam corong pisah dan ditambahkan *n*-heksan 150 mL, dikocok dan didiamkan hingga terpisah sempurna 2 fase. Fase *n*-heksan akan pada bagian atas dan fase etanol-air berada dibagian bawah, kemudian dipisahkan lakukan 3x replikasi. Fase etanol-air kemudian ditambahkan dengan etil asetat 150 ml, dikocok perlahan dan didiamkan hingga terpisah sempurna. Fase etil asetat akan berada pada bagian atas dan fase etanol-air pada bagian bawah kemudian dipisahkan lakukan 3x replikasi.

5. Pembuatan Larutan Uji

a) Larutan amilum 1%

Ditimbang sebanyak 1 g amilum dan disuspensikan dalam 100 mL aquadest dan dipanaskan sampai larut. Larutan amilum dibuat beberapa saat sebelum digunakan untuk mencegah pembusukan oleh bakteri.

b) Larutan dapar Fosfat pH 6,9 0,02 M

Diambil 800 mL aquadest masukan ke dalam labu ukur 1000 mL. Ditimbang 2.861 g sodium fosfat dibasic heptahidrat (Na_2HPO_4) dan 1,287 g sodium fosfat monobasic monohidrat masukan ke dalam labu ukur 1000 mL. dan larutkan sampai homogen tambahkan larutan dengan pH akhir yang diinginkan menggunakan HCl atau NaOH. Tambahkan aquadest sampai tanda batas.

c) Larutan DMSO 1%

Larutan stok DMSO 1% dibuat dengan mengambil 1,005 mL dari dari larutan DMSO 99%

dimasukkan ke dalam labu takar 100 mL dan ditambahkan aquadest bebas CO_2 sampai tanda batas.

d) Larutan Enzim α -Amilase

Diambil sebanyak 2,5 μL enzim α -amilase ke dalam labu ukur 50 mL dan ditambahkan larutan dapar fosfat sampai tanda batas.

e) Larutan HCL 1 N

Diambil sebanyak 250 mL aquadest bebas CO_2 masukkan ke dalam labu takar 1 L, lalu tambahkan 83 mL HCl pekat secara perlahan - lahan dialirkan melalui dinding labu. Gojog sebentar kemudian tambahkan aquadest bebas CO_2 sampai tanda batas dan tunggu hingga dingin.

f) Larutan Induk Ekstrak dan Fraksi batang Kersen

Pembuatan larutan induk 1000 ppm. Ekstrak etanol dan fraksi batang kersen (*Muntingia calabura* L.) ditimbang 10 mg, kemudian dilarutkan dengan 1 ml DMSO adak sampai larut selanjutnya dimasukkan kedalam labu ukur 10 mL dan ditambahkan buffer fosfat pH 6,9 sampai tanda batas.

g) Larutan Seri Konsentrasi Ekstrak dan Fraksi batang Kersen

Dari larutan baku 1000 ppm dibuat seri konsentrasi 12,5 ppm, 25 ppm, 50 ppm, 100 ppm, dan 200 ppm dengan mengambil masing-masing 0,125 mL, 0,25 mL, 0,50 mL, 1 ml, dan 2 mL kemudian dimasukkan dalam labu ukur 10 mL dan

ditambahkan buffer fosfat pH 6,9 sampai tanda batas.

h) Larutan Induk Akarbose

Akarbose tablet 50 mg digerus dan diambil sebanyak 5 mg di masukkan ke dalam labu ukur 5 mL untuk membuat larutan induk dengan konsentrasi 1000 ppm, kemudian ditambahkan 5 μ L DMSO, kemudian ditambahkan dapar fosfat 6,9 sampai tanda batas.

i) Larutan Seri Konsentrasi Akarbose

Dari larutan induk dibuat seri konsentrasi 0,625 ppm, 1,25 ppm, 2,5 ppm, 5 ppm dan 10 ppm dengan memipet masing-masing 6,25 μ L, 12,5 μ L, 25 μ L, 50 ppm dan 100 μ L kemudian dimasukkan dalam labu ukur 10 mL kemudian dicukupkan volumenya hingga tanda batas.

j) Larutan Iodin 1%

Ditimbang sebanyak 1,5 g kalium iodida dan 1g iodium di masukkan kedalam beaker glass dan dilarutkan dalam 100 ml aquades kemudian dipanaskan sampai larut.

k) Larutan Natrium Asetat 1 M

Ditimbang natrium asetat sebanyak 1 g dan di masukkan ke dalam beaker glass dan dilarutkan dengan sebagian aquadest hingga larut sempurna, kemudian di masukkan ke dalam labu ukur 10 mL dan ditambahkan aquadest sampai tanda batas.

l) Larutan AlCl₃ 10%

Ditimbang serbuk AlCl₃

sebanyak 5 g kemudian di masukkan ke dalam beaker glass dan dilarutkan dengan sebagian aquadest hingga larut sempurna, kemudian di masukkan ke dalam labu ukur 50 mL dan ditambahkan aquadest sampai tanda batas

6. Penetapan Kadar Flavonoid

a) Pembuatan larutan blanko

Diambil reagen AlCl₃ 10% sebanyak 0,2 mL ditambahkan 0,2 mL larutan natrium asetat 1 M ke dalam labu ukur 10 mL, kemudian ditambahkan aquadest sampai tanda batas.

b) Pembuatan Larutan Induk Kuersetin

Larutan induk kuersetin dibuat dengan konsentrasi 100 ppm dengan cara menimbang dengan seksama serbuk kuersetin sebanyak 2,5 mg dan di masukkan kedalam labu ukur 25 mL, kemudian dilrutkan dengan methanol p.a sampai tanda batas.

c) Pembuatan Larutan Seri Kuersetin

Dari larutan induk kuersetin konsentrasi 100 ppm, kemudian dibuat beberapa konsentrasi 5 ppm, 10 ppm, 15 ppm, 20 ppm, dan 25 ppm.

d) Penentuan panjang gelombang maksimum

Larutan seri kuersetin konsentrasi 15 ppm diambil 1 mL ditambah 1 mL larutan AlCl₃ 10 % dan 1 mL larutan natrium asetat 1 M, kemudian diukur serapannya pada rentang panjang gelombang

400-450 nm pada waktu operating time.

e) Penentuan *operating time*

Diambil 1 mL larutan seri kuersetin konsentrasi 15 ppm, kemudian ditambahkan 1 mL larutan AlCl₃ 10% dan 1 mL larutan natrium asetat 1 M dan dibaca pada gelombang maksimum dengan interval waktu 5 menit sampai di peroleh absorbansi konstan.

f) Penetapan kadar flavonoid

Ekstrak etanol 96% batang masing masing ditimbang 10,0 mg. Larutan dipipet 1,0 ml diencerkan dengan metanol p.a dalam labu ukur 10,0 ml, selanjutnya diambil 1,0 ml ditambah dengan 3,0 ml metanol p.a, ditambahkan 0,2 ml AlCl₃ 10%, 0,2 ml natrium asetat 1M, dan ditambahkan akuades dalam labu ukur 10,0 ml. Campuran dikocok homogen lalu di inkubasi sesuai waktu operating time kemudian diukur serapannya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum. Dicatat nilai absobansinya dan dihitung.

7. Uji Aktivitas Penghambat Enzim α -Amilase

a) Penentuan panjang gelombang maksimum

Diambil 500 mL buffer fosfat pH 6,9 ditambahkan 500 μ L larutan enzim α -amilase dan diinkubaksi pada suhu 37°C selama 10 menit. Setelah itu ditambahkan 500 μ L larutan amilum 1% dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 15 menit, ditambahkan 100 μ L larutan

iodin 1% dan dibaca pada gelombang 400-800 nm.

b) Penentuan *Operating Time*

Diambil 500 mL buffer fosfat pH 6,9 ditambahkan 500 μ L larutan enzim α -amilase dan diinkubaksi pada suhu 37°C selama 10 menit. Setelah itu ditambahkan 500 μ L larutan amilum 1% dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 0 menit, 5 menit, 10 menit, 20 menit, 25 menit. ditambahkan 100 μ L larutan iodium 1% dan dibaca pada gelombang maksimum.

c) Pengujian Blanko

Diambil 500 μ L buffer fosfat 0,02 M pH 6,9 ditambah 500 μ L larutan enzim α -amilase dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 10 menit. Kemudian tambahkan 500 μ L larutan amilum 1% dan dinkubasi sesuai hasil penetapan OT (*Operating Time*). Setelah inkubasi tambahkan 100 μ L larutan yodium 1% dan 20 μ L HCl 1 N untuk menghentikan reaksi enzimatik. Ukur absorbansi pada gelombang maksimum. Blanko merupakan reaksi yang mewakili reaksi aktivitas enzim 100% dan kontrol blanko merupakan reaksi tanpa enzim (Buffer fosfat dan larutan amilum).

d) Pengujian Kontrol Blanko

Diambil 1000 μ L buffer fosfat 0,02 M pH 6,9 diinkubasi pada suhu 37°C selama 10 menit. Kemudian tambahkan 500 μ L larutan amilum 1% dan dinkubasi sesuai hasil penetapan

OT (*Operating Time*). Setelah inkubasi tambahkan 100 μL larutan yodium 1% dan 20 μL dan HCl 1 N untuk menghentikan reaksi enzimatik. Ukur absorbansi pada gelombang maksimum.

e) Pengujian Sampel (ekstrak, fraksi, akarbose)

Di ambil 500 μL sampel ditambah 500 μL 0,04 unit larutan enzim α -amilase dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 10 menit. Kemudian tambahkan 500 μL larutan amyllum 1% inkubasi pada suhu 37°C sesuai hasil *Operating Time*. Setelah inkubasi tambahkan 100 μL larutan

yodium 1% dan 20 μL HCl 1 N untuk menghentikan reaksi enzimatik. Ukur absorbansi pada gelombang maksimum.

f) Pengujian Kontrol Sampel (ekstrak, fraksi, akarbose)

Di ambil 500 μL sampel ditambah 500 μL buffer fosfat 0,02 M pH 6,9 dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 10 menit. Kemudian tambahkan 500 μL larutan amyllum 1% inkubasi pada suhu 37°C sesuai hasil *Operating Time*. Setelah inkubasi tambahkan 100 μL larutan yodium 1% dan 20 μL HCl 1 N untuk menghentikan reaksi enzimatik. Ukur absorbansi pada gelombang maksimum.

8. Analisis Data

Aktivitas α -amilase dinyatakan sebagai persen penghambatan aktivitas

$$\text{Percent inhibition} = \left\{ \frac{(A - B) - (C - D)}{(A - B)} \right\} \times 100$$

enzim α -Amilase yang dihitung menggunakan persamaan:

Dimana :

A : Absorbansi tanpa sampel

B : Absorbansi kontrol tanpa sampel dan enzim

C : Absorbansi sampel

D : Absorbansi kontrol tanpa enzim (Wirasti, 2021)

Menurut Sugiwati (2009), perhitungan IC_{50} menggunakan persamaan regresi linear, konsentrasi sampel sebagai sumbu x dan % inhibisi sebagai sumbu y. Nilai IC_{50} dapat dihitung dari persamaan $y = bx + a$, dengan menggunakan rumus :

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

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk batang kersen

Penetapan susut pengeringan serbuk batang kersen dengan cara menimbang serbuk batang kersen sebanyak 2 gram. Susut pengeringan diukur dengan alat Moisture Balance. standarisasi yang terdapat dalam Farmakope Herbal Indonesia Edisi I (2008) dimana nilai susut pengeringan tidak lebih dari 12%. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk batang kersen dilakukan dengan menggunakan alat *Moisture Balance* dengan suhu yang di atur 105°C, ditunggu hingga alat berbunyi

secara otomatis yang menandakan bahwa analisis telah selesai. Hasil perhitungan susut pengeringan yaitu sebesar 6,14%. susut pengeringan

standarisasi yang terdapat dalam Farmakope Herbal Indonesia Edisi I (2008) dimana nilai susut pengeringan tidak lebih dari 12%.

Tabel 4.2 Hasil penetapan susut pengeringan serbuk batang kersen dengan menggunakan *moisture balance*

Berat awal (g)	Susut pengeringan % b/V
2	6.14

2. Hasil pengeringan batang kersen

Batang Kersen dikeringkan dengan menggunakan oven pada suhu 40⁰C yang bertujuan untuk mengurangi kadar air sehingga mencegah tumbuhnya jamur dan bakteri yang menurunkan pembusukan dan mencegah

perubahan perubahan kimiawi yang menurunkan mutu serbuk. Berdasarkan tabel 4.1 dapat diketahui bahwa batang kersen dengan bobot basah 6000 gram dikeringkan dan diperoleh bobot kering yaitu 2700 gram. Prosentase bobot kering terhadap bobot basah sebesar 45%.

Tabel 4.1 Perhitungan Prosentase bobot kering terhadap bobot basah batang kersen

Bobot basah (g)	Bobot kering (g)	Prosentase (%b/b)
6000	2700	45

3. Penetapan Kadar Air

Penetapan kadar air serbuk batang kersen dilakukan menggunakan alat *Moisture Balance*. Syarat kadar yang baik yakni tidak boleh lebih dari 10% (KEMENKES RI, 2017). Pada penelitian ini didapatkan hasil penetapan kadar air pada serbuk simplisia yaitu 6,12%. Maka pada penelitian ini dapat dikatakan bahwa kadar air dalam serbuk simplisia batang kersen memenuhi persyaratan yang ada. Semakin tinggi kadar air di dalam serbuk simplisia atau yang melebihi batas maksimal maka akan menyebabkan timbulnya mikroba (jamur dan kapang) semakin tinggi sehingga dapat menurunkan aktivitas biologis atau stabilitas sediaan pada saat penyimpanan (Salim dkk, 2017).

4. Hasil pembuatan ekstrak etanol batang kersen

Serbuk batang Kersen sebanyak 500 gram yang diperoleh dari proses penyerbukan dimasukkan kedalam botol kaca, ditambahkan etanol sebanyak 3500 ml. Maserasi dilakukan selama 3 hari dengan sesekali diaduk. Maserat dipisahkan dengan cara disaring, Hasil maserasi diuapkan dengan *rotary evaporator* dengan suhu 40⁰C sampai terbentuk ekstrak kental, kemudian diuapkan kembali di atas penangas air pada suhu 50⁰C sampai terbentuk ekstrak yang kental dan padat. dapat diketahui bahwa prosentase rendemen ekstrak etanol batang kersen yang diperoleh sebanyak 11,07%.

Tabel 4.3 Hasil pembuatan ekstrak etanol batang kersen

Bahan sampel (g)	Bobot ekstrak (g)	Rendemen ekstrak (%)
------------------	-------------------	----------------------

5. Skrining fitokimia ekstrak batang kersen

Skrining fitokimia merupakan analisis kualitatif terhadap senyawa senyawa metabolit sekunder. Suatu ekstrak dari bahan alam terdiri atas berbagai macam metabolit sekunder yang berperan dalam aktivitas biologinya. Senyawa senyawa

tersebut dapat di indentifikasi dengan pereaksi-pereaksi yang mampu memberikan ciri khas dari setiap golongan dari metabolit sekunder (Harborne,1987). Skrining fitokimia pada penelitian ini untuk mengetahui senyawa kimia yang terdapat didalam ekstrak etanol batang kersen.

Tabel 4.4 skrining fitokim

No	Senyawa bioaktif	Warna	Hasil
1	Alkaloid	Merah kekuningan	+
2	Flavonoid	Merah	+
3	Tanin	Hitam	+
4	Terpenoid/Steroid	Merah kehitaman	+
5	Saponin	Kuning Busa	+

Berdasarkan hasil pada tabel 4.4 dapat dilihat bahwa hasil indentifikasi kandungan kimia ekstrak batang kersen yaitu alkaloid, flavonoid, tanin, terpenoid/steroid, dan saponin yang telah dilakukan di Laboratorium Bahan Alam Universitas Duta Bangsa menunjukkan hasil positif untuk indentifikasi alkaloid, flavonoid, tanin, terpenoid/steroid, dan saponin.

6. Hasil fraksinasi

Hasil ekstraksi yang diperoleh dari metode maserasi dalam pelarut etanol 96%, kemudian ditimbang sebanyak 10 gram untuk dilakukan fraksinasi. Senyawa-senyawa yang bersifat polar akan masuk ke pelarut polar, senyawa yang bersifat non polar akan masuk kepelarut non polar dan senyawa semi polar akan masuk kepelarut semi polar (Irene, 2018). berikut hasil Prosentasi fraksi *n*-heksan, etil asetat, dan air.

Tabel 4.5. Rendemen hasil fraksi *n*-heksan, etil asetat, dan air.

Fraksi	Bobot ekstrak (g)	Bobot fraksi (g)	Prosentase% (b/b)
<i>n</i> -heksan	10,0	1,54	15,4

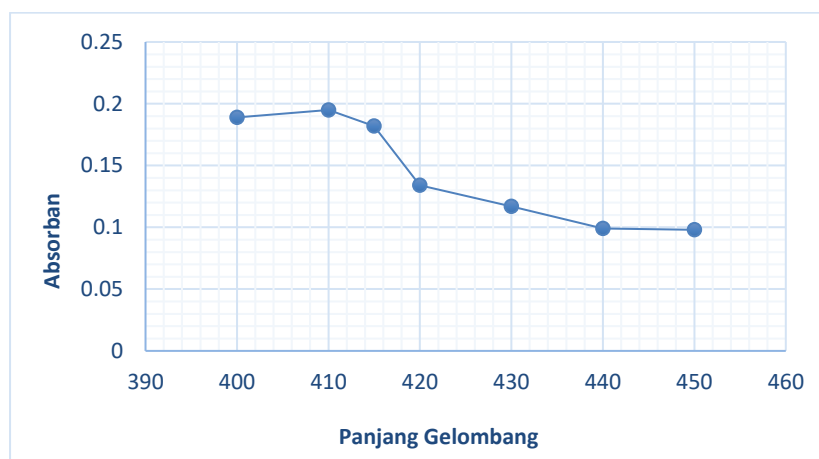
Etil asetat	10,0	1,13	11,3
Air	10,0	1,62	16,2

7. Penetapan kadar flavonoid ekstrak etanol batang kersen

Analisis kadar flavonoid dilakukan dengan menggunakan metode Kolorimetri – $AlCl_3$. Prinsip penetapan kadar flavonoid metode aluminium klorida adalah terjadinya pembentukan kompleks antara aluminium klorida dengan gugus keto pada atom C-4 dan gugus hidroksi pada atom C-3 atau C-5 yang bertetangga dari golongan flavon dan flavonol. Senyawa yang digunakan sebagai standar pada penetapan kadar flavonoid ini adalah kuersetin, karena kuersetin merupakan flavonoid golongan flavonol yang memiliki gugus keto pada

atom C-4 dan juga gugus hidroksil pada atom C-3 dan C-5 yang bertetangga (Azizah dkk, 2014).

Pengukuran serapan panjang gelombang maksimum dilakukan *running* dari panjang gelombang 400 - 450 nm. Hasil *running* menunjukkan panjang gelombang maksimum standar flavonoid berada pada panjang gelombang 410 nm. Panjang gelombang maksimum digunakan untuk mengukur serapan kurva baku kuersetin dan sampel ekstrak etanol daun kersen. Hasil panjang gelombang dapat dilihat pada Gambar 4.1.

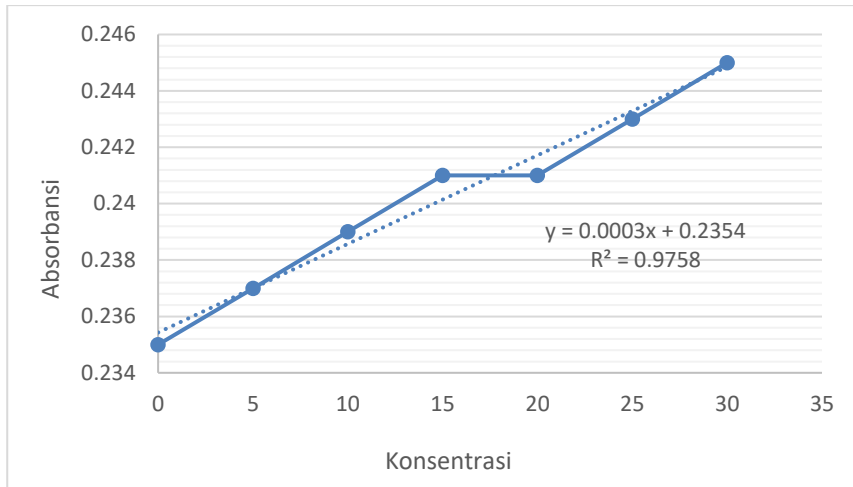


Gambar 4.1 panjang gelombang kuersetin

Setelah dilakukan penetapan panjang gelombang maksimum selanjutnya dilakukan penentuan operating time maksimum menggunakan kuersetin pada konsentrasi 15 $\mu\text{g/ml}$ (15 ppm) penentuan operating time dilakukan selama 30 menit dengan interval waktu 5 menit dengan hasil penentuan operating time pada menit

ke-15 Pada penelitian ini interval waktu yang digunakan yaitu 30 menit menggunakan panjang gelombang 410 nm. Setelah didapatkan panjang gelombang maksimum dan operating time selanjutnya pembuatan kurva baku kuersetin. Pembuatan baku kuersetin dilakukan dengan mengukur absorbansi kuersetin pada konsentrasi 5 ppm, 10 ppm, 15 ppm,

20 ppm, 25 ppm. Hasil dapat dilihat pada gambar 4.2.



Gambar 4.2 Operating Time kurva kuersetin

8. Hasil uji aktivitas penghambatan enzim α -amilase

Uji penghambatan aktivitas α -amilase dilakukan pada tiga fraksi yaitu fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air-etanol. Masing-masing fraksi dengan variasi konsentrasi 12,5 ppm, 25 ppm, 50 ppm, 100 ppm, dan 200 ppm. Tujuan dari adanya variasi konsentrasi yaitu untuk memperoleh persen penghambatan yang digunakan untuk menghitung nilai IC_{50} . Jika persen penghambatan yang diperoleh lebih

besar maka efek yang ditimbulkan lebih baik. Sedangkan untuk nilai IC_{50} , jika menunjukkan nilai yang rendah maka efek yang ditimbulkan lebih besar.

Sebelum dilakukan uji penghambatan aktivitas α -amilase pada fraksi terlebih dahulu dilakukan uji penghambatan aktivitas α -amilase pada akarbose sebagai kontrol positif dengan konsentrasi 0,625 ppm, 1,25 ppm, 2,5 ppm, 5 ppm, 10 ppm. Akarbose digunakan karena lebih mudah didapat dan banyak digunakan sebagai pembanding pada berbagai literatur.

Tabel 8. nilai IC_{50} dari Akarbose, ekstrak batang kersen, Fraksi *n*-heksan, etil asetat, dan air.

Sampel	Nilai IC_{50}
--------	-----------------

Akarbose	5,398
Ekstrak	137,799
<i>n</i> -heksan	132,409
Etil asetat	19,7126
Air	49,0482

Hasil pengukuran penghambatan aktivitas enzim α -amilase pada sampel daun batang kersen menunjuk hasil perhitungan nilai IC_{50} sebagai berikut: ekstrak etanol diperoleh nilai IC_{50} sebesar 137,799 mg/mL, fraksi *n*-heksan diperoleh nilai IC_{50} sebesar 132,409 mg/mL, fraksi etil asetat diperoleh nilai IC_{50} sebesar 19,7126 mg/mL dan fraksi etanol-air diperoleh nilai IC_{50} sebesar 49,0482 mg/mL. Dari hasil pengukuran tersebut menunjukkan bahwa fraksi etil asetat (semi polar) mempunyai aktivitas penghambatan enzim α -amilase tertinggi dengan nilai IC_{50} sebesar 19,7126 mg/mL. Hal ini dikarenakan senyawa yang terkandung dalam fraksi tersebut merupakan senyawa yang bersifat semi polar seperti senyawa fenolik dan flavonoid. Flavonoid adalah senyawa antidiabetik yang menurunkan kadar gula darah dengan berperan sebagai inhibitor enzim α -glukosidase, maltase dan α -amilase. Flavonoid juga mampu menstimulasi pengambilan glukosa di otot melalui regulasi GLUT-4 (Anggraini, 2020).

SIMPULAN

1. Fraksi ekstrak *n*-heksan, fraksi ekstrak etil asetat dan fraksi ekstrak etanol dari ekstrak etanol batang kersen memiliki kemampuan menghambat enzim α -amilase.
2. Fraksi ekstrak etil asetat dan fraksi ekstrak air dari ekstrak batang kersen mempunyai aktivitas tertinggi untuk menghambat enzim α -amilase diantara ketiga fraksi ekstrak dengan nilai IC_{50} 19,712 ppm dan 49,048 ppm.
3. Fraksi *n*-heksan dari ekstrak batang kersen mempunyai aktivitas terendah untuk menghambat enzim α -amilase diantara ketiga fraksi ekstrak dengan nilai IC_{50} 132,409 ppm.

PUSTAKA ACUAN

- ADA. (2019). Standar Of Medical Are In Diabetes 2019 (1st ed., Vol. 42, pp. 2–6). USA: American Diabetes Association. Diakses pada tanggal 10 September 2020
- Depkes RI, 2008, Farmakope Herbal Indonesia (Edisi 1), Jakarta Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Harborne, J.B., 1987. *Metode Fitokimia, Edisi ke dua*. Bandung: ITB. Hal: 10
- Kiguli, *et.al.* (2019). Dietary patterns and practices in rural eastern Uganda: Implications for prevention and management of type 2 diabetes. Diakses pada tanggal 12 Desember 2020 dari www.elsevier.com/locate/ap

- pet. *Appetite* 143 (2019) 104409.
- Ling Wu, *et.al.* (2019). Self-management Experience of Middle-aged and Older Adults With Type 2 Diabetes: A Qualitative Study. *Asian Nursing Research* 13. 209-215.
- Peoloengan M, Chairul, Iyep K, dan Susan MN. Aktivitas Antimikro badan Fitokimia dari Beberapa Tanaman Obat. Seminar Nasional Teknologi. Bogor : Balai Penelitian. 2006. hal. 38.
- Salim, M., Sulistyningrum, N., Isnawati, A., Sitorus, H., Yahya., Ni'mah, A., 2016. Karakterisasi Simplisia dan Ekstrak Kulit Buah Duku (*Lansium domesticum* Corr) dari Provinsi Sumatera Selatan dan Jambi. *Jurnal Kefarmasian Indonesia*, 6(2), 117-128.
- Warintek. *Muntingia calabura* L. Jakarta : Kementerian Negara Riset dan Teknologi. 2006