



## Aktivitas Penghambatan Enzim Alfa-Amilase Ekstrak Dan Fraksidaun Nipah (*Nypa Fruticans* Wurmb)

Nurul Hidayah<sup>1</sup>, Kharisma Jayak Pratama<sup>2</sup>, Danang Raharjo<sup>3</sup>

<sup>1,2,3</sup> Program Studi S1 Farmasi, Universitas Duta Bangsa Surakarta

### Abstract

Received: 29 November 2023

Revised: 11 Desember 2023

Accepted: 18 Desember 2023

*Diabetes mellitus (DM) adalah kelompok kelainan metabolisme yang heterogen secara genetik dan klinis yang ditandai dengan peningkatan glukosa darah atau hiperglikemia. Diabetes mellitus disebabkan oleh polimorfisme banyak gen pada kromosom yang dapat mengubah proses metabolisme glukosa. Salah satu cara untuk mengobati diabetes mellitus yaitu dengan menurunkan kadar glukosa melalui proses penghambatan oleh enzim alfa amilase. Enzim alfa amilase adalah enzim ekstra seluler yang mampu membelah ikatan  $\alpha$ -D-glukosidik antara monumer glukosa dalam rantai amilosa linier. *Nypa fruticans* merupakan tumbuhan magrove mirip dengan tanaman palem dengan memiliki kemampuan menghasilkan metabolit sekunder dengan berbagai sifat dan aktivitas biologis. Tujuan dalam penelitian ini adalah untuk mengetahui efektivitas ekstrak etanol dan fraksi daun Nipah (*Nypa fruticans* Wurmb) dalam menghambat aktivitas enzim alfa amilase dengan menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis serta dihitung nilai persent inhibition dengan  $IC_{50}$ . ekstrak dibuat dengan menggunakan metode maserasi menggunakan pelarut metanol 96%. Hasil uji aktivitas penghambatan enzim alfa amilase menggunakan tablet akarbose (glucobay), ekstrak etanol dan fraksi n-heksana, etil asetat, aquadest dengan mempunyai nilai  $IC_{50}$ . Berdasarkan penelitian diatas dapat disimpulkan bahwa hasil penghambatan enzim alfa amilase yang lebih tinggi adalah acarbose dan fraksi etil asetat dengan memiliki nilai  $IC_{50}$  masing-masing 1,739 mg/mL dan 5,014 mg/mL.*

**Keywords:** *Diabetes Mellitus, enzim alfa amilase, Nypa fruticans Wurnb.*

(\*) Corresponding Author: [nh5484692@gmail.com](mailto:nh5484692@gmail.com)

**How to Cite:** Hidayah, N., Pratama, K. J., & Raharjo, D. (2023). Aktivitas Penghambatan Enzim Alfa-Amilase Ekstrak Dan Fraksidaun Nipah (*Nypa Fruticans* Wurmb). <https://doi.org/10.5281/zenodo.10433927>.

### PENDAHULUAN

Diabetes melitus (DM) adalah kelompok kelainan metabolisme yang heterogen secara genetik dan klinis yang ditandai dengan peningkatan glukosa darah atau hiperglikemia. Secara genetik, diabetes mellitus disebabkan oleh polimorfisme banyak gen pada kromosom yang mengubah proses metabolisme glukosa, seperti gen HNF  $\alpha$  (Hepatocyte Nuclear Factor-Alpha) pada kromosom 20, yang berperan dalam proses perkembangan, pankreas, gen GLUT2 (Glucose Transporter 2) pada kromosom 3, yang berperan dalam proses konsumsi glukosa sel  $\beta$  pada pankreas dan gen LPL (Lipo Protein Lipase) pada kromosom 8, yang berperan dalam proses pelepasan insulin (Setiawan dkk., 2018).

Strategi pengobatan yang diberikan pada penderita diabetes melitus salah satunya menggunakan strategi menghambat enzim  $\alpha$ -amilase. Enzim  $\alpha$ -amilase adalah enzim ekstraseluler yang mampu membelah ikatan 1, - $\alpha$ -D-glukosidik antara

monomer glukosa dalam rantai amilosa linier. Enzim  $\alpha$ -amilase terdiri dari protein. Beberapa enzim memiliki lebih dari satu situs aktif untuk berikatan dengan substrat, sehingga enzim dapat berikatan dengan substrat lain setelah berikatan dengan substrat tertentu. Sifat enzim ini disebut alosterik (Ramadhani, 2018).

Ekosistem yang sangat produktif, pada tanaman nipah dapat diperkaya dengan berbagai kelas fitokimia yang sangat penting dalam bidang obat-obatan yang berbasis dalam bahan alam. Tanaman Nipah (*Nypa fruticans* Wurmb) adalah tanaman bakau yang mirip palem serta memiliki kemampuan menghasilkan metabolit sekunder dengan sifat dan aktivitas biologis yang sangat berbeda, menjadikan tumbuhan tersebut sebagai salah satu sumber bahan alam terpenting yang dapat dikembangkan untuk bahan obat (Sukma dkk., 2018). Bagian daun nipah mengandung senyawa flavonoid yang aktif, alkaloid, fenol, steroid, triterpenoid, saponin dan tanin (Lestari dkk., 2016). Tumbuhan Nipah (*Nypa fruticans* Wurmb) telah biasa dimanfaatkan sebagai bahan obat tradisional seperti obat sakit perut, diabetes, obat penurun panas dalam, obat sakit gigi dan obat sakit kepala.

Mengingat semakin meningkatnya angka penderita diabetes mellitus di Indonesia mendorong peneliti untuk mengkaji lebih lanjut mengenai potensi ekstrak dan fraksi daun Nipah (*Nypa fruticans* Wurmb) dalam menghambat aktivitas enzim  $\alpha$ -amilase sehingga dapat digunakan sebagai salah satu alternative dalam pengobatan diabetes mellitus menggunakan tanaman.

## **METODE PENELITIAN**

### **Alat dan bahan**

corong pisah, chamber, seperangkat alat kromatografi kolom, alumunium foil, cawan porselen, timbangan analitik, kertas saring, penangas air, mikropipet, *rotary evaporator*, alat alat gelas, spektrofotometer UV-Vis, plat KLT, vial, etanol 96%, n-heksana, etil asetat, aqua destillata, butanol, asam asetat glasial, metanol pro analisis, simplisia kering Daun Nipah (*Nypa fructicans* Wurmb), enzim alfa amilase, tablet akarbose 50 mg, amilum, larutan iodium 1%, buffer fosfat PH 6,9, HCL 1 N.

### **Ekstraksi**

Sebanyak 500 gram serbuk daun nipah di ekstraksi dengan cara maserasi menggunakan pelarut etanol 96% selama 3 kali selama 24 jam dengan beberapa kali pengadukan kemudian disaring menggunakan corong buchner ampas diremasersi selama selama 2 kali selama 24 jam. Maserat yang dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 40 - 60°C. Ampas di remaserasi sebanyak 3 kali. Filtrat diuapkan diatas *waterbath* dan didapatkan ekstrak kental.

### **Fraksinasi**

Ekstrak kental sebanyak 10 gram ekstrak dilarutkan dengan aquades sebanyak 75 mL, kemudian dimasukkan dalam corong pisah. Fraksinasi pertama dengan penambahan n-heksana sebanyak 75 mL kemudian digojog dan didiamkan sampai terbentuk 2 lapisan, ambil lapisan n-heksana. Fraksinasi selanjutnya dilakukan dengan penambahan etil asetat sebanyak 75 mL ke dalam lapisan kemudian digojog dan didiamkan sampai terbentuk 2 lapisan, ambil lapisan etil

asetat. Fraksi air, fraksi etil asetat dan fraksi *n*-heksana selanjutnya dipekatkan dengan rotary evaporator dan dikentalkan di atas *waterbath* (Maravirnadita, 2019).

### **Uji Aktivitas Penghambatan Enzim $\alpha$ -Amilase.**

#### **Pengujian Blanko**

Pengujian blanko dapat diukur dengan mengambil 1000  $\mu$ L dapar fosfat pH 6,9 dan diinkubasi selama 10 menit pada suhu 37°C. Kemudian ditambahkan 500  $\mu$ L amilum 1 %, lalu diinkubasi kembali selama waktu OT pada suhu 37°C. Setelah masa inkubasi selesai, maka ditambahkan 100  $\mu$ L iodine 1 % dan 20  $\mu$ L HCl 1 N untuk menghentikan reaksi enzimatik. Ukur absorbansi pada gelombang maksimum 600 nm maksimum.

#### **Pengujian Kontrol Blanko**

Kontrol blanko dibuat dengan mengambil 1000  $\mu$ L dapar fosfat pH 6,9 dan diinkubasi selama 10 menit pada suhu 37°C. Kemudian ditambahkan 500  $\mu$ L amilum 1 %, lalu inkubasi kembali selama waktu OT pada suhu 37°C. Setelah masa inkubasi selesai maka ditambahkan 100  $\mu$ L dapar fosfat pH 6,9 dan 20  $\mu$ L HCl 1 N untuk menghentikan reaksi enzimatik. Absorbansi diukur pada panjang gelombang maksimum 600 nm.

#### **Pengujian Sampel**

Di ambil 500  $\mu$ L sampel ditambah 500  $\mu$ L larutan enzim  $\alpha$ -amilase dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 10 menit. Kemudian tambahkan 500  $\mu$ L larutan amylum 1% inkubasi pada suhu 37°C sesuai hasil OT. Setelah inkubasi tambahkan 100  $\mu$ L larutan iodium 1% dan 20  $\mu$ L HCl 1 N untuk menghentikan reaksi enzimatik. Ukur absorbansi pada gelombang 600 nm.

#### **Pengujian Kontrol Sampel**

Di ambil 500  $\mu$ L sampel ditambah 500  $\mu$ L buffer fosfat 0,02 M pH 6,9 dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 10 menit. Kemudian tambahkan 500  $\mu$ L larutan amylum 1% inkubasi pada suhu 37°C sesuai hasil OT. Setelah inkubasi tambahkan 100  $\mu$ L larutan iodium 1% dan 20  $\mu$ L HCl 1 N untuk menghentikan reaksi enzimatik. Ukur absorbansi pada 600 nm.

#### **Analisis Data**

Aktivitas  $\alpha$ -amylase dinyatakan sebagai persen penghambatan aktivitas enzim  $\alpha$ -amilase yang dihitung menggunakan persamaan:

$$\text{Percent Inhibition} = \left[ \frac{(A-B)-(C-D)}{(A-B)} \right]$$

Dimana :

A: Absorbansi tanpa sampel

B : Absorbansi kontrol tanpa sampel dan enzim

C : Absorbansi sampel

D : Absorbansi kontrol tanpa enzim

Perhitungan IC<sub>50</sub> menggunakan persamaan regresi linear, konsentrasi sampel sebagai sumbu x dan % inhibisi sebagai sumbu y. Nilai IC<sub>50</sub> dapat dihitung dari persamaan dengan menggunakan rumus :

$$y = bx + a$$

$$50 = bx + a$$

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

## PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas penghambatan enzim  $\alpha$ -amilase yang terkandung dalam salah satu bagian tanaman yaitu daun nipah (*Nypa fruticans* Wurmb). Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi dengan sampel serbuk daun nipah sebanyak 500 gram dan didapatkan rendemen sebesar 7,376%. Skrining fitokimia dilakukan dengan bertujuan untuk mengetahui keberadaan metabolit sekunder yang diharapkan dapat berfungsi sebagai antidiabetes. Skrining fitokimia meliputi pengujian alkaloid, steroid, flavonoid, saponin, fenolik, dan terpenoid. Dari hasil skrining fitokimia ekstrak etanol daun nipah mengandung senyawa golongan lain alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, steroid/triterpenoid. Hasil skrining fitokimia daun nipah dapat dilihat pada tabel 1.

**Tabel 1. Hasil Skrining Fitokimia Daun Nipah (*Nypa fruticans*. Wurmb)**

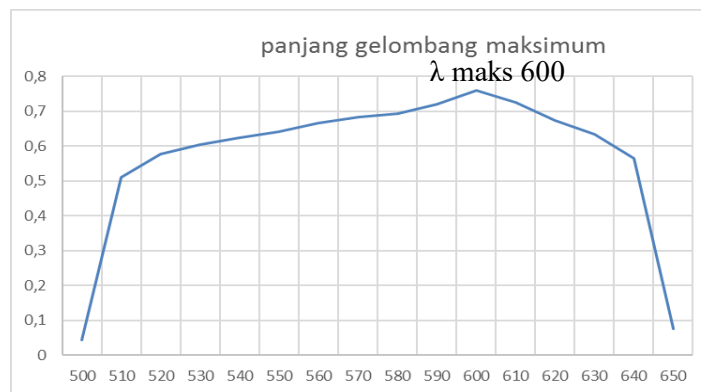
Senyawa	Pereaksi	Hasil	Ket
Flavonoid	Serbuk mg + HCl pekat	Terbentuk warna merah kecoklatan	+
Alkaloid	Mayer	Terdapat endapan putih yang tipis	+
	Dragendorff	Terdapat endapan merah kecoklatan tipis	+
	Bourchardat	Terbentuk warna merah kecoklatan	+
Fenolik/Tanin	FeCl <sub>3</sub>	Terbentuk warna biru kehitaman	+
Steroid	Kloroform + asam asetat anhidrat + asam sulfat pekat	Terdapat cincin violet	+
Triterpenoid	Kloroform + asam asetat anhidrat + asam sulfat pekat	Terbentuk warna merah kehijauan	+

Saponin	Aquadest	Tidak terbentuk busa	-
---------	----------	----------------------	---

Uji aktivitas penghambatan pada enzim  $\alpha$ -amilase dilakukan dengan secara *in vitro*. Pada prinsipnya, pengujian ini dilakukan mengetahui aktivitas penghambatan pada enzim  $\alpha$ -amilase dengan mengamati penurunan intensitas warna biru ke unguan pada larutan iodin- pati karena berkurangnya substrat amilum akibat hidrolisis yang dilakukan oleh enzim  $\alpha$ -amilase menjadi monosakarida (glukosa) yang tidak dapat bereaksi dengan iodine (Nugrahanti, 2020) meliputi penentuan panjang gelombang maksimum, operating time yang akan digunakan dalam pengujian.

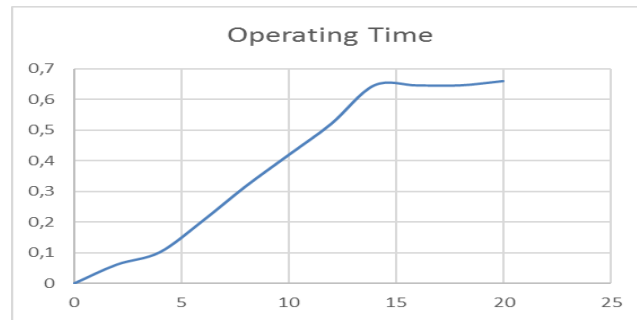
Optimasi dilakukan pada jarak panjang gelombang 500-650 nm dan diperoleh panjang gelombang maksimum 600nm dengan memiliki nilai absorbansi sebesar 0,759. Panjang gelombang maksimum pada enzim alfa amilase dapat dilihat pada gambar 1.

**Gambar 1 Grafik Pengukuran Panjang Gelombang Maksimum Enzim  $\alpha$ -Amilase.**



Setelah melakukan pengukuran panjang gelombang maksimum kemudian dilakukan pengujian operating time (OT). *Operating time* adalah waktu pengukuran yang digunakan untuk mengetahui waktu pengukuran yang stabil (Salamah & Widyasari, 2015). *Operating time* ditentukan dengan mengukur absorbansi dari panjang gelombang maksimum yang telah dilakukan sebelumnya yaitu 600 nm, dalam waktu 20 menit dengan sebuah interval 2 menit. Hasil pengukuran operating time didapatkan pada menit ke 18, dapat dilihat pada gambar 2.

**Gambar 2 Hasil Penentuan *Operating Time*.**



Uji aktivitas penghambatan enzim  $\alpha$ -amilase terhadap ekstrak etanol dan fraksi daun Nipah (*Nypa fruticans* Wurmb) dilakukan secara *in vitro*. Prinsip pengujian adalah berkurangnya intensitas warna biru dari kompleks iodium-amylum yang disebabkan adanya hidrolisis amilum (polisakarida) oleh enzim  $\alpha$ -amilase menjadi monosakarida (glukosa) yang tidak bereaksi dengan iodium. Sehingga yang diabsorbansi yang diukur dalam pengujian adalah sisa substrat amilum yang membentuk kompleks dengan iodium (Sari, 2015). Semakin aktif ekstrak yang digunakan, maka semakin sedikit pati yang terhidrolisis sehingga glukosa yang dihasilkan semakin sedikit, karena ekstrak dapat menghambat aktivitas enzim  $\alpha$ -amilase.

Dalam pengujian aktivitas penghambatan enzim  $\alpha$ -amilase pengukuran dilakukan terhadap blanko, kontrol blanko, sampel, kontrol sampel. Sampel yang digunakan terdiri dari ekstrak etanol, fraksi (fraksi n-heksane, fraksi etil asetat dan fraksi air) dan akar bosa. Penggunaan akar bosa sebagai pembanding karena akar bosa merupakan obat diaretik oral yang dapat menghambat penyerapan glukosa dalam usus. Blanko merupakan pengujian tanpa enzim  $\alpha$ -amilase sehingga absorbansi yang dihasilkan merupakan absorbansi dari kompleks amilum-iodium tanpa ada gangguan dari enzim  $\alpha$ -amilase yang memecah amilum menjadi gula. Sedangkan kontrol blanko dan kontrol pengukuran tanpa enzim dan iodium yang digunakan sebagai faktor koreksi pada hasil pengukuran blanko dan sampel sehingga absorbansi yang dihasilkan merupakan absorbansi kompleks amilum-iodium tanpa ada gangguan dari pelarut dan sampel (Wirasti dan Lestari, 2021).

Hasil pengujian penghambatan aktivitas enzim  $\alpha$ -amilase terhadap akar bosa sebagai standar pembanding menunjukkan bahwa akar bosa memiliki efek penghambatan aktivitas enzim  $\alpha$ -amilase dengan nilai  $IC_{50}$  1,739 ppm. Akar bosa memiliki aktivitas pengikatan yang tinggi pada enzim tersebut sehingga mencegah oligosakarida terhidrolisis menjadi glukosa dan menunda proses pencernaan di usus dan juga dapat mempengaruhi sekresi insulin karena proses penghambatan penyerapan glukosa (Rosak, 2012).

Hasil pengukuran penghambatan aktivitas enzim  $\alpha$ -amilase pada sampel daun kersen menunjuk hasil perhitungan nilai  $IC_{50}$  sebagai berikut: ekstrak etanol diperoleh nilai  $IC_{50}$  sebesar 63,214 ppm, fraksi n-heksan diperoleh nilai  $IC_{50}$  sebesar 135,48 ppm, fraksi etil asetat diperoleh nilai  $IC_{50}$  sebesar 5,014 ppm dan fraksi etanol-air diperoleh nilai  $IC_{50}$  sebesar 5,9048 ppm. Hasil pengujian penghambatan aktivitas enzim  $\alpha$ -amilase dapat dilihat pada tabel 2.

**Tabel 2 Hasil Penghambatan Enzim Alfa Amilase**

Sampel	IC <sub>50</sub> (ppm)
Acarbose	1,739
Ekstrak etanol	63,214
n- heksan	135,48
Etil asetat	5,014
Air	5,9048

Pada hasil pengujian tersebut pada ekstrak etanol dan fraksi daun Nipah (*Nypa fruticans* Wurmb) mempunyai aktivitas dalam menghambat sebuah enzim alfa amilase secara in vitro. IC<sub>50</sub> adalah suatu konsentrasi dari senyawa atau suatu ekstrak yang mempunyai aktivitas penghambatan pada enzim alfa amilase sebesar 50%. IC<sub>50</sub> didapat pada suatu persamaan regresi linier yang menyatakan sebuah hubungan antara konsentrasi pada sampel sebagai sebuah variabel x dengan % penghambatan sebagai variabel y, semakin kecil atau rendah pada nilai IC<sub>50</sub> maka aktivitas pada penghambatan senyawa atau ekstrak akan semakin membaik (Chang, 2020).

## KESIMPULAN

Kesimpulan yang dapat diambil dari penelitian ini yaitu ekstrak etanol daun nipah (*Nypa fruticans* Wurmb). Dari hasil uji penghambatan aktivitas enzim  $\alpha$ -amilase dan  $\alpha$ -glukosidase ekstrak dan fraksi daun nipah (*Nypa fruticans* Wurmb) didapatkan hasil fraksi etil asetat mempunyai nilai penghambatan tertinggi terhadap aktivitas enzim  $\alpha$ -amilase dan  $\alpha$ -glukosidase dengan nilai IC<sub>50</sub> sebesar 5,014 ppm.

## DAFTAR PUSTAKA

- Chang, M. J. V. (2020). Uji Aktivitas Penghambatan Enzim Alfa-Amilase Oleh Ekstrak Air Daun Sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees.) Secara *In Vitro* [Skripsi]. Yogyakarta: Universitas Sanata Dharma.
- Maravirnadita, Ariadna Hisela. (2019). Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi n-Heksan, Etil Asetat, dan Air dari Buah Belimbing Manis (*Averrhoa carambola*) dengan Metode DPPH. Skripsi, 1–14.
- Nugrahanti, M. C. I. A. 2020. “Uji Aktivitas Penghambatan Enzim Alfa Amilase Oleh Ekstrak Etanol Daun Sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees.) secara *In Vitro*”. Skripsi. Yogyakarta: Universitas Sanata Dharma. Hal: 7, 18.
- Ramadhani, F. (2018). Uji aktivitas penghambatan enzim alfa amilase secara invitro ekstrak akar durian(*Durio Zibethenius*)
- 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.
- Sari, R.K. 2015.” Uji Efektivitas Protein Biji Melinjo (*Gnetum gnemon* L.) Sebagai Inhibitor Aktivitas  $\alpha$ -Amilase dan  $\alpha$ -Glukosidase Secara *In Vitro*”. Skripsi.Jember: Universitas Jember. Hal: 50-51.

- 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.
- Setiawan, H., Sopatilah, E., Rahmat, G., Wijaya, D. D., & Ariyanto, H. (2018). *University Research Colloquium 2018 STIKES PKU Muhammadiyah Surakarta Hubungan Tingkat Pengetahuan dengan Kecemasan Penderita Diabetes Mellitus*. *Urecol*, 241–248. Suputra, P. A., Kedokteran, P., Ganesha, U. P., Kedokteran, P., Ganesha, U. P.,