

UJI AKTIVITAS INHIBISI AMILASE PADA TANAMAN *Melicope* YANG BERPOTENSI SEBAGAI ANTIDIABETES

TEST OF AMYLASE INHIBITION ACTIVITY OF *Melicope* PLANTS WHICH POTENTIAL AS ANTIDIABETIC AGENTS

Siti Nurjanah, Eva Marlina*, dan Winni Astuti

Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Mulawarman
Jalan Barong Tongkok No. 4 Kampus Gunung Kelua, Samarinda, 75123

*E-mail: eva_samarinda@yahoo.com

Received: 08 December 2019, Accepted: 10 August 2020

ABSTRACT

The test of amylase inhibition activity of the leaves of *Melicope lunu-ankenda* and bark of *Melicope glabra* (BI.) T.G. Hartley extracts were done. The objective of this study was to determine in-vitro α -amylase inhibition activity against two samples by DNS method. The result showed that two samples of *Melicope lunu-ankenda* leaves and bark of *Melicope glabra* (BI.) TG Hartley displayed the enzyme inhibitory effect with percent inhibitions of 48.71% and 46.36%. Two sample extracts can inhibit amylase. It can be suggested that about sample were potential as antidiabetic agents.

Keywords: *Melicope lunu-ankenda*, *Melicope glabra* (BI.) T.G. Hartley, *Amylase inhibition*.

PENDAHULUAN

Diabetes Mellitus (DM) adalah suatu penyakit yang disebabkan karena meningkatnya kadar (glukosa) dalam darah [1]. Peningkatan kadar glukosa dalam darah disebabkan oleh rusaknya kelenjar pankreas yang tidak dapat menghasilkan insulin. Turunnya hormon insulin mengakibatkan meningkatnya penyerapan glukosa dalam darah. Kerusakan kelenjar ini dapat disebabkan oleh senyawa-senyawa radikal bebas sehingga tidak dapat berfungsi dengan baik [2].

Data *International Diabetes Federation* (IDF) Atlas tahun 2017 menunjukkan bahwa Indonesia menduduki peringkat keenam dunia dengan jumlah diabetes sekitar 10,3 juta jiwa. Jika tidak ditangani dengan baik, *World Health Organization* (WHO) bahkan mengestimasi angka diabetes di Indonesia akan melonjak drastis menjadi 21,3 juta jiwa pada tahun 2030 mendatang [3].

Pemanfaatan tumbuhan alam sebagai bahan obat antidiabetes telah dilakukan masyarakat Indonesia umumnya suku Dayak pada khususnya. Penggunaan obat alternatif tersebut berupa ramuan yang digunakan secara turun-temurun yang bersifat alami yaitu kulit batang dan daun muda pada jenis tumbuhan *Melicope* yang berasal dari hutan Kalimantan. Dari informasi tersebut sehingga perlu

adanya pembuktian secara eksperimen di laboratorium [4, 5].

Berdasarkan beberapa penelitian, tumbuhan genus *Melicope* berpotensi sebagai antidiabetes. Daun tumbuhan *Melicope lunu-ankenda* memiliki aktivitas inhibisi terhadap alfa-glukosidase dengan nilai IC_{50} sebesar 37 μ g/mL dan mengandung senyawa metabolit sekunder dari golongan alkaloid yaitu furoquinolines [6, 7].

METODOLOGI PENELITIAN

Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu ekstraktor maserasi, *rotary evaporator*, neraca analitik, pipet mikro, tabung mikro, inkubator, *hot plate*, Spektrofotometer UV-Vis 7220G.

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu daun *Melicope lunu-ankenda*, batang *Melicope glabra* (BI.) T.G. Hartley, aluminium foil, tisu, kertas saring *Whatman*, akuades, larutan H_2SO_4 2N, larutan $FeCl_3$ 1%, larutan $HCl_{(p)}$, pereaksi dragendroff, etanol 70 %, pita magnesium, *acarbose*, amilase, amilum 1%, dan DNS (asam 3,5-dinitrosalisilat).

Prosedur Penelitian

Ekstraksi

Serbuk daun *Melicope lunu-ankenda* dan batang *Melicope glabra* (Bl.) T.G. Hartley ditimbang kemudian dimasukkan dalam wadah maserasi, lalu ditambahkan metanol hingga simplisia terendam. Wadah maserasi ditutup dan disimpan selama 2 x 24 jam ditempat yang terlindung sinar matahari langsung sesekali diaduk. Selanjutnya disaring, dipisahkan antara ampas dan filtratnya. Ekstrak metanol diuapkan menggunakan *rotary evaporator* diperoleh ekstrak pekat metanol.

Uji fitokimia

Uji steroid dan triterpenoid

Masing-masing ekstrak sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Kemudian dilarutkan dalam metanol. Ditambahkan 3 tetes larutan H_2SO_4 2 N. Selanjutnya dilakukan pengocokan yang kuat lalu didiamkan hingga terbentuk dua fase. Fase atas asam ditambahkan 5 tetes pereaksi Liberman-Burchard. Uji positif triterpenoid terbentuk warna ungu atau jingga dan uji positif dari steroid terbentuk warna hijau atau biru [8].

Uji alkaloid

Masing-masing ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian dilarutkan dalam metanol. Ditambahkan 4 tetes larutan H_2SO_4 2 N. Dilakukan pengocokan lalu didiamkan hingga terbentuk dua fase. Fase atas asam ditambahkan pereaksi Dragendorff. Hasil uji positif dari alkaloid terbentuknya warna merah bata [8].

Uji fenolik

Masing-masing ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi lalu dilarutkan dengan metanol dan ditambahkan 1 pipet akuades panas. Kemudian ditambahkan dengan 3 tetes larutan $FeCl_3$ 1 %. Hasil uji positifnya terbentuk perubahan warna menjadi hijau kehitaman, ungu kehitaman dan biru kehitaman [8].

Uji flavonoid

Masing-masing ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian dilarutkan dalam metanol. Lalu ditambahkan pita magnesium dan 10 tetes asam klorida pekat. Hasil uji positif menunjukkan perubahan warna larutan menjadi berwarna kuning, jingga atau merah [8].

Uji saponin

Masing-masing ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian dilarutkan dalam metanol dan ditambahkan 1 pipet akuades panas. Selanjutnya dikocok dengan kuat dan diamati jika terbentuk busa yang stabil selama ± 10 menit menandakan positif mengandung saponin [8].

Uji kuinon

Masing-masing ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian dilarutkan dalam metanol. Ditambahkan 3 tetes larutan NaOH 5% dan 3 tetes HCl 2 N. Hasil uji positif menunjukkan terbentuknya warna merah [4].

Uji aktivitas inhibisi amilase ekstrak sampel

Uji inhibisi enzim α -amilase secara *in vitro* dilakukan dengan menggunakan substrat amilum dan pereaksi DNS. Absorbansi diukur menggunakan Spektrofotometer Visibel pada panjang gelombang 540 nm yang sebelumnya telah dicari panjang gelombang maksimalnya. Kedua ekstrak sampel dilarutkan dengan pelarut metanol dengan konsentrasi 50 mg/mL. Kemudian diambil masing-masing 25 μ L dari larutan tersebut dan dimasukkan ke dalam tabung mikro, lalu ditambahkan amilum 1 % sebanyak 25 μ L dan amilase sebanyak 25 μ L. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit. Setelah diinkubasi reaksinya dihentikan dengan penambahan DNS sebanyak 50 μ L, disaring dan dipanaskan dalam air mendidih selama 10 menit. Campuran tersebut didinginkan lalu ditambahkan akuades sebanyak 875 μ L. Dilakukan secara triplo. Diukur absorbansinya menggunakan Spektrofotometer Visibel dengan panjang gelombang 540 nm. Untuk pengujian kontrol dan pelarut sampel dilakukan prosedur yang sama dengan komposisi yang berbeda.

Perhitungan daya hambat amilase

Persen (%) aktivitas inhibisi ekstrak dari sampel *Melicope lunu-ankenda* dan kulit batang *Melicope glabra* (Bl.) T.G. Hartley terhadap enzim α -amilase dihitung menggunakan rumus sebagai berikut [9].

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Absorbansi Kontrol} - \text{Absorbansi Sampel}}{\text{Absorbansi Kontrol}} \times 100\%$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstrak daun *Melicope lunu-ankenda* dan ekstrak kulit batang *Melicope glabra* (Bl.) T.G. Hartley mengandung metabolit sekunder berupa alkaloid, fenolik dan flavonoid. Hasil penelitian ini sesuai pada penelitian Liu *et al* (2012) dan Ming (1987) yang menyebutkan bahwa beberapa tumbuhan jenis *Melicope* memiliki kandungan metabolit sekunder berupa alkaloid, fenolik dan flavonoid.

Tabel 1. Hasil uji fitokimia.

Jenis Senyawa	Jenis Ekstrak	
	Daun <i>Melicope lunu-ankenda</i>	Kulit batang <i>Melicope glabra</i> (Bl.) T.G. Hartley
Alkaloid	+	+
Fenolik	+	+
Flavonoid	+	+
Triterpenoid	-	-
Steroid	-	-
Saponin	-	-
Kuinon	-	-

Keterangan:

(+) = Terdeteksi

(-) = Tidak Terdeteksi

Uji Aktivitas Inhibisi Amilase

Pengujian inhibisi enzim α -amilase adalah uji untuk mengetahui penurunan aktivitas enzim α -amilase dalam memecah pati. Pati dihidrolisis oleh enzim α -amilase menjadi gula-gula sederhana. Semakin banyak pati yang dapat dihidrolisis dalam waktu tertentu maka semakin banyaknya glukosa dan maltosa yang dihasilkan. Glukosa dan maltosa dapat bereaksi dengan DNS (asam 3,5-Dinitrosalisilat) sehingga kadar keduanya dapat diukur secara spektrofotometri pada panjang gelombang 540 nm. Semakin kecil nilai absorbansi maka semakin besar persen inhibisi sampel, begitu juga sebaliknya. Hal

ini juga dapat ditentukan dengan intensitas warna jingga yang dihasilkan dari reaksi glukosa dengan DNS. Semakin berkurang intensitas warna jingga yang terjadi maka semakin sedikit glukosa yang terbentuk sehingga persen inhibisi semakin tinggi [10].

Proses pengujian inhibisi yang pertama yaitu masing-masing ekstrak ditambahkan amilum yang berfungsi sebagai substrat yang berikatan dengan sisi aktif enzim membentuk suatu produk. Kemudian dilakukan proses inkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit dimaksudkan agar enzim amilase dapat bereaksi dengan sampel uji dan suhu tersebut merupakan suhu optimum untuk enzim amilase bekerja. Hasil reaksi tersebut berupa gula sederhana yaitu glukosa yang kemudian reaksi tersebut dihentikan dengan ditambahkan pereaksi DNS (asam 3,5-dinitrosalisilat). Reaksi yang terjadi merupakan reaksi redoks, dimana gugus aldehyd pada glukosa akan teroksidasi menjadi gugus karboksil dan pada DNS yang sebagai oksidator akan tereduksi membentuk asam 3-amino-5-nitrosalisilat. Reaksi ini berjalan dalam suasana basa. Larutan DNS yang mulanya berwarna kuning saat bereaksi dengan gula reduksi menghasilkan warna jingga kemerahan yang kemudian diukur dengan menggunakan spektrofotometer visibel pada panjang gelombang 540 nm. Dimana asam 3-amino-5-nitrosalisilat merupakan senyawa yang mampu menyerap dengan kuat radiasi gelombang elektromagnetik pada 540 nm.

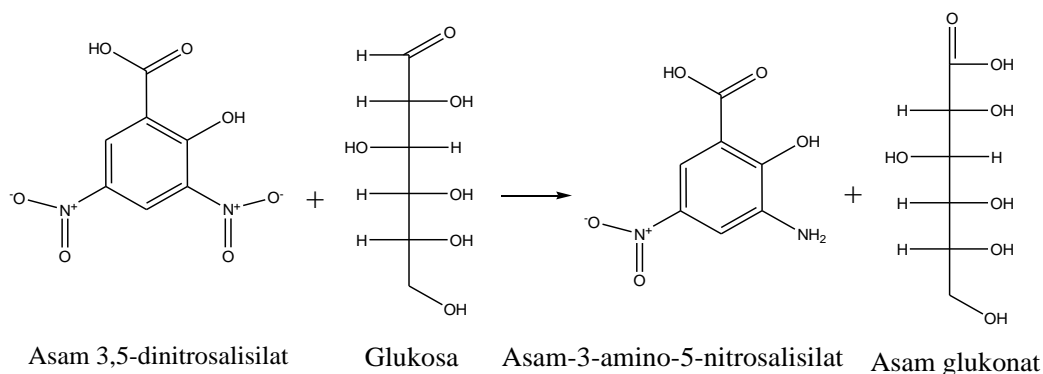
Tabel 2. Nilai absorbansi dan persen inhibisi.

Jenis Ekstrak	Nilai Absorbansi	Nilai rata-rata Absorbansi	% Inhibisi
<i>Melicope lunu-ankenda</i>	0,391	0,411	48,71 %
	0,346		
	0,498		
<i>Melicope glabra</i>	0,390	0,413	46,36 %
	0,381		
	0,470		
Metanol	0,870	0,866	7,28 %
	0,818		
	0,911		
Acarbose	0,312	0,351	62,41 %
	0,331		
	0,411		
Kontrol	0,958	0,934	00,00 %
	0,925		
	0,921		

Pada Tabel 2 menunjukkan hasil pengujian inhibisi amilase pada kedua ekstrak sampel. Persen inhibisi dihitung dengan menggunakan rumus, didapatkan hasil daya inhibisi dari ekstrak *Melicope lunu-ankenda* sebesar 48,71%, *Melicope glabra* (Bl.) T.G. Hartley yaitu 46,36%. Kedua ekstrak sampel mempunyai kemampuan untuk menghambat enzim amilase karena mengandung senyawa berupa alkaloid, flavonoid dan fenolik yang menurut penelitian Santi *et al.* (2008) merupakan senyawa aktif yang berpengaruh dalam menghambat aktivitas enzim amilase [11]. Nilai inhibisi kedua ekstrak

sampel kurang dari nilai inhibisi dari *acarbose*. Reaksi kimia antara glukosa dengan DNS ditunjukkan dalam Gambar 1.

Berdasarkan penelitian aktivitas inhibisi amilase, kedua ekstrak sampel dapat menghambat atau menghambat kerja enzim. Hasil reaksinya berupa glukosa yang kadarnya lebih sedikit dibandingkan dengan larutan kontrol. Hal ini dikarenakan sampel tersebut mengandung senyawa metabolit yang diduga memiliki khasiat sebagai obat antidiabetes yaitu alkaloid, flavonoid, fenolik dan saponin.



Gambar 1. Reaksi kimia glukosa dengan pereaksi DNS [12].

Berdasarkan penelitian Arif *et al.* (2013) dan Santi *et al.* (2008) yang menyebutkan bahwa senyawa alkaloid, fenol, terpenoid, flavonoid, saponin, steroid dan xanthone telah diketahui memiliki aktivitas antidiabetes [3, 11]. Penelitian yang dilaporkan oleh Brahmachari (2011), Santi *et al.* (2008) dan Hanefeld *et al.* (1999) menyebutkan bahwa alkaloid dan flavonoid merupakan agen antidiabetes yang dapat menurunkan kadar glukosa darah dengan cara pencegahan absorpsi glukosa dan penghambatan terhadap aktivitas enzim alfa-amilase yang secara spesifik mereduksi fluktuasi glukosa plasma dengan menunda pemecahan disakarida dan polisakarida menjadi glukosa pada usus [11, 14, 15]. Sehingga dapat disimpulkan bahwa kedua sampel yang diuji memiliki kemampuan untuk menghambat amilase yang berpotensi sebagai obat antidiabetes.

KESIMPULAN

Metabolit sekunder yang terkandung pada ekstrak daun *Melicope lunu-ankenda* dan Pada kulit batang *Melicope glabra* (Bl.) T.G. Hartley menunjukkan hasil positif alkaloid, flavonoid dan fenolik. Nilai daya hambat amilase pada kedua sampel kurang dari acarbose. Pada ekstrak daun *Melicope lunu-ankenda* yaitu 48,71% dan Pada kulit batang *Melicope glabra* (Bl.) T.G. Hartley yaitu 46,36%. Kedua ekstrak sampel mampu menghambat

amilase sehingga dapat berpotensi sebagai antidiabetes.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Russel D. M. 2011. *Bebas dari 6 penyakit paling mematikan*. Yogyakarta: Media Pressindo (Anggota IKAPI).
- [2] Ririn C. 2012. Pengaruh jumlah pasta tomat terhadap penurunan kadar gula darah pada mencit diabetes. *Tesis*. Fakultas Teknologi Industri Pertanian Pascasarjana Universitas Andalas.
- [3] IDF. 2017. *International Diabetes Federation Atlas 6th*. Belgium: International Diabetes Federation.
- [4] Amirta R., Angi E., Ramadhan R., Kusuma I., Wiati C dan Haqiqi M. 2017. "Potensi Pemanfaatan Macaranga". Samarinda: Mulawarman University Press.
- [5] Rahayu M., Sunarti S., Sulistiarini D., dan Prawiroatmojo S. 2006. Pemanfaatan tumbuhan obat secara tradisional oleh masyarakat lokal. *Biodiversitas*. 7(3):245-250.
- [6] Al-Zuaidy H. M., Hamid A. A., Ismail A., Mohamed S., Razis A. F. A., Mumtaz W. M., dan Saleh Z. S. 2016. Potent antidiabetic activity metabolite profiling of *Melicope luna-ankenda* leaves. *Journal of Food Science*. 81:1080-1090.

- [7] Ming N. K., But P. P., Alexander I. G., Thomas G. H., Kong Y., dan Waterman G. P. 1987. The biochemical systematics of *Tetradium*, *Euodia* and *Melicope* and their significance in the Rutaceae. *Journal of Biochemical Systematics and Ecology*. 15:587-593.
- [8] Harborne J. B. 1998. *Phytochemical Methods a Guide to Modern Techniques of Plants Analysis*. London: Chapman & Hall.
- [9] Butala A. M., Kupuni K. K. S., dan Vishnuprasad. 2017. Ayurvedic antidiabetic inhibits alpha-amylase, alpha-glucosidase and suppresses adipogenic activity in vitro. *Journal of Ayurveda and Integrative Medicine*. 8:145-151.
- [10] Sazci A., dan Erenler K. 1986. Detection of cellulolytic fungi by using congo red as an: a comparative study with the dinitrosalicylic acid reagent method. *Journal of Applied Bacteriology*. 61:559-562.
- [11] Sangi M., M. R. J. Runtuwene., H. E. I. Simbala dan V. M. A. Makang. 2008. Analisis fitokimia tumbuhan obat di Kabupaten Minahasa Utara. *Chem. Prog.*, 1(1):47-53.
- [12] Miller G. L. 1959. Use of dinitrosalicylic acid reagent of determination of reducing sugar. *Anal. Chem.* 31:246-248.
- [13] Arif T., Gahlaut A., Sharma B., Dabur R., Kumar V. 2013. Antidiabetic agents from medicinal plants: A Review. *Chemical Biology Letters*. 1(1): 1-13.
- [14] Brahmachari G. 2011. Bio-flavonoids with promising antidiabetic potentials: A critical survey. *Research Signpost India*. 37(2): 187-212.
- [15] Hanefeld M., Koehler C., Schaper F., Fuecker K., Henkel E. 1999. Postprandial plasma glucose is an independent risk factor for increased carotid intima-media thickness in nondiabetic individuals. *Atherosclerosis*. 144(1): 229-235.