

## PENETAPAN KADAR FLAVONOID DAN UJI AKTIVITAS PENGHAMBAT ENZIM $\alpha$ -AMILASE EKSTRAK ETANOL DAN FRAKSI AKAR KERSEN (*Muntingia calabura L.*) SECARA *IN VITRO*

Dicky wahyudi <sup>1)\*</sup> | Danang Raharjo <sup>1)</sup> | Tatiana Siska Wardani <sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> S1 Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Duta Bangsa, Surakarta

\*Koresponden Penulis: [dicky.wahyudi122798@gmail.com](mailto:dicky.wahyudi122798@gmail.com)

Submitted :  
20 September 2022

Reviewed :  
12 Desember 2022

Accepted :  
13 Desember 2022

### ABSTRAK

Diabetes Melitus 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  $\alpha$ -amilase. Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk mengetahui efek penghambatan ekstrak batang kersen terhadap aktivitas enzim  $\alpha$ -amilase sebagai kandidat anti diabetes. Hasil fraksi dari ekstrak etanol batang kersen tersebut dievaluasi potensi penghambatannya terhadap enzim  $\alpha$ -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 tidak memiliki kemampuan menghambat aktivitas enzim  $\alpha$ -amilase. Dari pengujian yang dilakukan diperoleh nilai  $IC_{50}$  ekstrak 686,861  $\mu$ g/mL, *n*-heksan 39,794  $\mu$ g/mL, etil 762,968  $\mu$ g/mL dan air 422,169  $\mu$ g/mL. Tingkat kekuatan inhibisi terhadap enzim  $\alpha$ -amilase ialah sangat aktif jika  $IC_{50} \leq 25$   $\mu$ g/mL, aktif jika  $25$   $\mu$ g/mL  $< IC_{50} \leq 50$   $\mu$ g/mL, kurang aktif jika  $50$   $\mu$ g/mL  $< IC_{50} \leq 100$   $\mu$ g/mL dan tidak aktif jika  $IC_{50} > 100$   $\mu$ g/mL. Sehingga dapat diketahui bahwa ekstrak etanol akar kersen (*Muntingia calabura L.*) dikategorikan tidak aktif sebagai inhibitor enzim  $\alpha$ -amilase.

**Kata kunci:** akar kersen, enzim, flavonoid,  $\alpha$ -Amilase, fraksi

### ABSTRACT

Diabetes Mellitus is a metabolic disease and is characterized by elevated levels of glucose in the blood. One of the important strategies in lowering blood sugar levels is by inhibiting enzymes that hydrolyze carbohydrates such as  $\alpha$ -amylase. The purpose of this study was to determine the inhibitory effect of cherry stem extract on the activity of the  $\alpha$ -amylase enzyme as an anti-diabetic candidate. The results of the fraction of the ethanol extract of the stem of the cherry tree were evaluated for their inhibition potential against the  $\alpha$ -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  $\alpha$ -amylase enzyme. From the tests carried out, the  $IC_{50}$  value of the extract was 129,86 g/mL, *n*-hexane 341,413 g/mL, ethyl 762,968 g/mL and water 422.169 g/mL. The level of inhibition of  $\alpha$ -amylase enzyme is very active

if  $IC_{50} < 25$  g/mL, active if  $25$  g/mL  $< IC_{50} < 50$  g/mL, less active if  $50$  g/mL  $< IC_{50} \leq 100$  g/mL and inactive if  $IC_{50} > 100$  g/mL. So it can be seen that the ethanol extract of cherry root (*Muntingia calabura* L.) is categorized as inactive as an inhibitor of the  $\alpha$ -amylase enzyme.

**Keywords:** cherry root, enzyme, flavonoid,  $\alpha$ -Amylase, fraction

## I. Pendahuluan

Keanekaragaman hayati yang dimiliki Indonesia merupakan hal yang sangat potensial dalam mengembangkan obat herbal yang berbasis pada tumbuhan. Lebih dari 1000 spesies tumbuhan dapat dimanfaatkan sebagai bahan baku obat. Tumbuhan tersebut menghasilkan metabolit sekunder yang struktur molekul dan aktivitas biologi yang beraneka ragam sehingga berpotensi untuk dikembangkan menjadi obat berbagai penyakit (Hikmal et al., 2015)., Berdasarkan Zahroh (2016) menyatakan bahwa pemberian air rebusan daun kersen berperan sebagai antioksidan yang menyekresi hormon insulin yang bekerja untuk metabolisme gula dan menurunkan kadar gula darah. Rumus masalah 1. Berapakah kadar flavonoid yang terkandung dalam ekstrak etanol akar kersen (*Muntingia calabura* L.) dengan menggunakan metode spektrofotometri uv-vis ?. 2. Senyawa metabolit sekunder apakah yang terkandung dalam akar kersen (*Muntingia calabura* L.)?. 3. Apakah ekstrak etanol dan fraksi akar kersen (*Muntingia calabura* L.) memiliki aktivitas penghambatan enzim alfa amilase yang diuji secara in vitro?, Untuk mengetahui kadar flavonoid yang terkandung dalam ekstrak etanol daun kersen (*Muntingia calabura* L.) dengan menggunakan metode spektrofotometri uv-vis. Untuk mengetahui aktivitas penghambat enzim  $\alpha$ -amilase ekstrak etanol dan fraksi daun kersen (*Muntingia calabura* L.) secara in vitro. Untuk mengetahui nilai  $IC_{50}$  dari ekstrak etanol dan fraksi daun kersen (*Muntingia calabura* L.) yang memiliki aktivitas penghambat enzim  $\alpha$ -amilase. masalah;

Bagi Penulis. Mengembangkan pengetahuan penulis tentang Uji Aktivitas Penghambat Enzim  $\alpha$ -Amilase Ekstrak Etanol dan Fraksi Akar Kersen (*Muntingia calabura* L.) Secara In Vitro

Bagi Institusi Dapat memberi sumbangan pengetahuan Uji Aktivitas Penghambat Enzim  $\alpha$ -Amilase Ekstrak Etanol dan Fraksi Akar Kersen (*Muntingia calabura* L.) Secara In Vitro. Memberi tambahan referensi berupa data ilmiah yang dapat dijadikan artikel atau jurnal.

Bagi Masyarakat. Memberikan informasi kepada masyarakat bahwa akar kersen mengandung senyawa antioksidan yang berfungsi sebagai anti diabetes mellitus sehingga dapat dimanfaatkan sebagai obat tradisional.;

## II. Metode

### Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari corong pisah (iwaki), alumunium foil, cawan porselen, timbangan analitik (mettle Toledo), kain saring, penangas air, mikropipet (Dragonlab), spektrofotometer UV-Vis (B-one), rotary evaporator ( RE 100-PRO), dan alat-alat gelas (iwak).

### Bahan

Etanol 96%, n-heksan, etil asetat, aquadestilata, serbuk akar kersen (*Muntingia calabura* L.), enzim  $\alpha$ -amilase, tablet acarbose 50 mg, amilum, larutan iodium 1%, buffer fosfat pH 6,9, DMSO (dimethyl sulfoxide) 1%, HCL 1 N.

### Metode

Pengumpulan Sampel dan Determinasi Tanaman Sampel akar kersen (*Muntingia calabura* L.) diambil dari desa Padas, Kecamatan Klaten Provinsi Jawa

Tengah. Determinasi tanaman akar kersen (*Muntingia calabura L.*) dilakukan di Laboratorium Fitokimia Universitas Setia Budi Surakarta. Pembuatan Simplisia Pembuatan simplisia diawali dengan pengumpulan tanaman akar kersen yang diperoleh dari Desa Padas, Kecamatan Juwiring, Kabupaten Klaten, Jawa Tengah. Bagian yang digunakan dalam penelitian ini adalah akar kersen yang telah diperoleh dibersihkan dari kotoran yang melekat dengan cara dicuci dengan air mengalir. Setelah itu dipotong kecil-kecil lalu dikeringkan dengan oven pada suhu 40°C – 60°C kemudian di serbuk dengan derajat kehalusan 40 dan dilakukan standarisasi simplisia.

## **Penetapan Flavonoid**

### **1. Pembuatan Larutan Uji**

Pembuatan Larutan AlCl<sub>3</sub> 10%

Serbuk AlCl<sub>3</sub> ditimbang sebanyak 5 gram, kemudian dimasukkan ke dalam beaker glass dilarutkan dengan sebagian aquades hingga larut sempurna, dimasukkan ke dalam labu ukur 50 mL dan ditambahkan aquades hingga tanda batas.

Pembuatan Natrium Asetat 1 M

Natrium asetat ditimbang sebanyak 2,5 gram dan ditambahkan ke dalam beaker glass dilarutkan dengan sebagian aquades hingga larut sempurna, dimasukkan ke dalam labu ukur 25 mL, dan ditambahkan aquades hingga batas tanda.

### **2. Pembuatan Larutan Blanko**

Reagen AlCl<sub>3</sub> 10% sebanyak 0,2 mL ditambahkan 0,2 mL natrium asetat 1 M ke dalam labu ukur 10 mL, ditambahkan aquades hingga tanda batas.

### **3. Preparasi Larutan Baku Kuersetin**

Larutan baku induk kuersetin 100 ppm dibuat dengan cara menimbang secara seksama serbuk kuersetin sebanyak 5 mg, dilarutkan dengan metanol p.a hingga tanda batas 50 mL.

### **4. Pembuatan Larutan Baku**

Ditimbang 50 mg baku standar kuersetin dan dilarutkan dengan sebagian metanol dalam beaker glass kemudian

dimasukkan kedalam labu ukur 50 ml dan ditambahkan metanol ada tanda batas.

## **5. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum**

Sebanyak 1 mL larutan kuersetin 20 ppm ditambah dengan 1 mL larutan 1 mL larutan AlCl<sub>3</sub> 10% dan 1 mL larutan natrium asetat 1 M. Penentuan panjang gelombang maksimum kuersetin dilakukan dengan running larutan kuersetin pada range panjang gelombang 400 - 450 nm. Panjang gelombang maksimum tersebut yang digunakan untuk mengukur serapan dari sampel ekstrak etanol Akar kersen (Aminah et al, 2017)

## **6. Penentuan Operating Time (OT)**

Sebanyak 1 mL larutan kuersetin 20 ppm ditambah dengan 1 mL larutan 1 mL larutan AlCl<sub>3</sub> 10% dan 1 mL larutan natrium asetat 1 M diukur serapannya pada panjang gelombang maksimum dengan interval waktu 5 menit hingga diperoleh absorbansi yang stabil. Operating Time tercapai pada waktu dihasilkan absorbansi yang stabil (Indrayani, 2008).

## **7. Pembuatan Kurva Baku Kuersetin**

Dari larutan standar kuersetin 100 ppm, kemudian dibuat beberapa konsentrasi yaitu 5 ppm, 10 ppm, 15 ppm, 20 ppm dan 25 ppm. Dari masing-masing konsentrasi larutan standar kuersetin pipet 1 mL. Kemudian ditambahkan 1 mL AlCl<sub>3</sub> 10% dan 1 mL natrium asetat 1M. Sampel diinkubasi selama waktu operating time yang diperoleh. Absorbansi ditentukan menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum (Aminah et al, 2017).

## **8. Penetapan Kadar Flavonoid Total**

Sebanyak 10 mg ekstrak ditimbang dan dilarutkan dalam 10 mL etanol, sehingga diperoleh konsentrasi 1000 ppm. Dari larutan tersebut pipet 1 mL kemudian ditambahkan 1 mL larutan AlCl<sub>3</sub> 10% dan 1 mL natrium asetat 1 M. Sampel diinkubasi selama waktu operating time pada suhu kamar. Absorbansi ditentukan menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum. Sampel dibuat dalam tiga replikasi untuk setiap analisis dan

diperoleh nilai rata-rata absorbansi (Aminah et al, 2017)

## **Pembuatan Larutan Uji**

### **1.Larutan Amilum 1%**

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

### **2.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 ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ) dan 1,287 g sodium fosfat monobasic monohydrate masukan ke dalam labu ukur 1000 mL. dan larutkan sampai homogen tambahkan larutan dengan pH akhir yang diinginkan menggunakan HCl atau NaOH. Tambahkan aquades sampai tanda batas.

### **3.Larutan DMSO 1%**

Larutan stok DMSO 1% dibuat dengan mengambil 1 mL dari larutan DMSO 99% dimasukkan ke dalam labu takar 100 mL dan ditambahkan aquadest bebas  $\text{CO}_2$  sampai tanda batas.

### **4.Larutan Enzim $\alpha$ -Amilase**

Diambil sebanyak 2,5  $\mu\text{L}$  enzim  $\alpha$ -amilase (SIGMA) ke dalam labu ukur 50 mL dan ditambahkan larutan dapar fosfat sampai tanda batas (Bhutkar et al, 2018). tambahkan 100  $\mu\text{L}$  larutan yodium 1% dan 20  $\mu\text{L}$  HCl 1 N untuk menghentikan reaksi enzimatik. Ukur absorbansi pada gelombang maksimum

### **5.Larutan HCl 1 N**

Diambil sebanyak 250 mL aquadest bebas  $\text{CO}_2$  masukan ke dalam labu takar 1 L, lalu tambahkan 83 mL HCl pekat secara perlahan - lahan dialirkan melalui dinding labu. Godok sebentar kemudian tambahkan aquades bebas  $\text{CO}_2$  sampai tanda batas dan tunggu hingga dingin.

### **6.Larutan Induk Ekstrak dan Fraksi Akar Kersen**

Pembuatan larutan induk 1000 ppm. Ekstrak etanol dan fraksi akar kersen

(*Muntingia calabura* L.) ditimbang 10 mg, kemudian dilarutkan dengan 1 ml DMSO aduk sampai larut selanjutnya dimasukkan kedalam labu ukur 10 mL dan ditambahkan buffer fosfat pH 6,9 sampai tanda batas

### **7.Larutan Seri Konsentrasi Ekstrak dan Fraksi Akar 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.

### **8.Larutan Induk Acarbose**

Acarbose tablet 50 mg digerus dan diambil sebanyak 5 mg dimasukkan ke dalam labu ukur 5 mL untuk membuat larutan induk dengan konsentrasi 1000 ppm, kemudian ditambahkan 5  $\mu\text{L}$  DMSO, kemudian ditambahkan dapar fosfat 6,9 sampai tanda batas (Wirasti, 2021).

### **9.Larutan Seri Konsentrasi Acarbose**

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  $\mu\text{L}$ , 12,5  $\mu\text{L}$ , 25  $\mu\text{L}$ , 50 ppm dan 100  $\mu\text{L}$  kemudian dimasukkan dalam labu ukur 10 mL kemudian dicukupkan volumenya hingga tanda batas.

### **10.Larutan Iodin 1%**

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

### **11.Penentuan Operating Time**

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

### **12.Pengujian Blanko**

Diambil 500  $\mu$ L buffer fosfat 0,02 M pH 6,9 ditambah 500  $\mu$ L larutan enzim  $\alpha$ -amilase dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 10 menit. Kemudian tambahkan 500  $\mu$ L larutan amilum 1% dan diinkubasi sesuai hasil penetapan OT (Operating Time). Setelah inkubasi tambahkan 100  $\mu$ L larutan yodium 1% dan 20  $\mu$ L HCl 1 N untuk menghentikan reaksi enzimatis. 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).

### **13. Pengujian Kontrol Blanko**

Diambil 1000  $\mu$ L buffer fosfat 0,02 M pH 6,9 diinkubasi pada suhu 37°C selama 10 menit. Kemudian tambahkan 500  $\mu$ L larutan amilum 1% dan diinkubasi sesuai hasil penetapan OT (Operating Time). Setelah inkubasi tambahkan 100  $\mu$ L larutan yodium 1% dan 20  $\mu$ L dan HCl 1 N untuk menghentikan reaksi enzimatis. Ukur absorbansi pada gelombang maksimum.

### **14. Pengujian Sampel (Ekstrak, Fraksi Dan Acarbose)**

Di ambil 500  $\mu$ L sampel ditambah 500  $\mu$ L 0,04 unit larutan enzim  $\alpha$ -amilase dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 10 menit. Kemudian tambahkan 500  $\mu$ L larutan amilum 1% inkubasi pada suhu 37°C sesuai hasil OT. Setelah inkubasi tambahkan 100  $\mu$ L larutan yodium 1% dan 20  $\mu$ L HCl 1 N untuk menghentikan reaksi enzimatis. Ukur absorbansi pada gelombang maksimum.

### **15. Pengujian Kontrol Sampel (Ekstrak, Fraksi Dan Acarbose)**

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 amilum 1% inkubasi pada suhu 37°C sesuai hasil OT. Setelah inkubasi.

## **III. Hasil dan Diskusi**

Proses maserasi dilakukan dengan menimbang 500 g serbuk simplisia dan direndam dengan pelarut etanol 96 % 1:10 yaitu sebanyak 4 liter didalam wadah kaca tertutup rapat. Proses maserasi dilakukan selama 3 hari dan di remaserasi sebanyak 2x dengan pengadukan dilakukan setiap 6 jam sekali dan disimpan dalam suhu kamar didalam lemari terhindar dari cahaya matahari. Penggunaan pelarut etanol 96 % dipilih karena etanol 96 % merupakan pelarut yang universal digunakan dalam pengekstraksi dalam pembuatan bahan baku sediaan herbal medicine. Konsentrasi etanol 96 % dipilih karena mudah menembus dinding sel serta masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif yang membuat zat aktif akan larut karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dengan di luar sel. Sehingga larutan konsentrasi tinggi akan terdesak keluar dan lebih mudah menghasilkan ekstrak kental (Wirasti, 2021). Kemudian hasil rendaman di saring menggunakan kertas saring bertingkat untuk menghindari endapan serbuk simplisia yang menumpuk. Maserat yang diperoleh ditampung dan dipekatkan menggunakan rotary evaporator pada suhu 40<sup>o</sup>-50<sup>o</sup>C dengan kecepatan 60 rpm. Selanjutnya ekstrak dipekatkan lagi diatas penangas air (*waterbath*). Ekstrak kental yang didapatkan n-heksan, etil asetat, dan air etanol. Menurut penelitian Ningsih dkk (2020) fraksinasi menggunakan pelarut n-heksan bertujuan untuk menarik senyawa-senyawa yang nonpolar seperti steroid, klorofil dan terpenoid yang terdapat dalam ekstrak etanol akar kersen Pada pelarut etil asetat bertujuan untuk memisahkan senyawa golongan polifenol. Sedangkan pelarut air etanol bersifat polar yang dapat melutkan 44 senyawa yang bersifat polar seperti flavonoid, alkaloid dan golongan fenol.

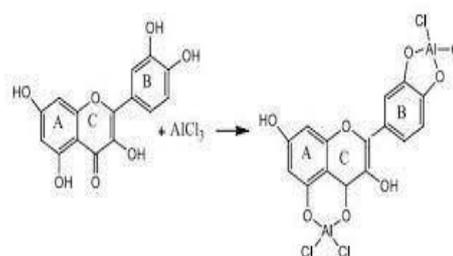
**Tabel 1. Fraksi akar kersen**

| Ekstrak etanol (gram) | Fraksi (gram)    |             |      | Rendemen %       |             |       |
|-----------------------|------------------|-------------|------|------------------|-------------|-------|
|                       | <i>n</i> -heksan | Etil asetat | Air  | <i>n</i> -heksan | Etil asetat | Air   |
| 20                    | 1,13             | 3,16        | 6,98 | 5,65%            | 15,8%       | 34,9% |

Tabel 4.6 menunjukkan bahwa fraksi *n*-heksan sebanyak 1,13 gram dengan rendemen 15,8%, dan fraksi air sebanyak 6,98 gram dengan rendemen 34,9%. Rendemen yang didapat pada setiap pelarut berbeda karena kemampuan dari pelarut dalam mencari senyawa yang terkandung dalam akar kersen 5,65%.

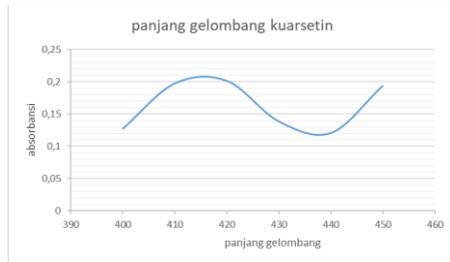
Analisis kadar flavonoid dilakukan dengan menggunakan metode Kolorimetri – AlCl<sub>3</sub>. Prinsip penetapan kadar flavonoid metode aluminium klorida adalah terjadinya pembentukan kompleks antara aluminium klorida dengan gugus keton pada atom C-4 dan gugus hidroksil pada atom C-3 atau C-5 yang bertetangga dari golongan flavon dan flavonol. Senyawa yang digunakan sebagai standar pada penetapan kadar flavonoid ini adalah quercetin, karena quercetin merupakan flavonoid golongan flavonoid yang memiliki gugus keton pada atom C-4 dan juga gugus

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



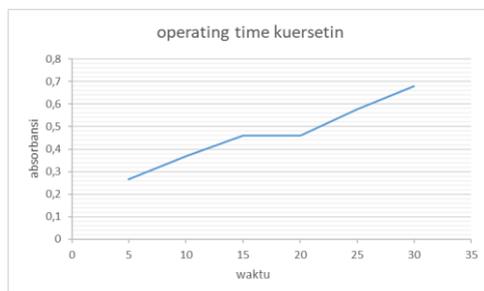
**Gambar 1. Pembentukan senyawa kompleks kuersetin-aluminium klorida**

Pengukuran serapan panjang gelombang maksimum dilakukan *running* dari panjang gelombang 400 - 450 nm. Hasil *running* menunjukkan panjang gelombang maksimum standar baku kuersetin berada pada panjang gelombang 420 nm. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Aminah *et al* (2017) dimana panjang gelombang maksimum yang diperoleh adalah 420 nm. Penentuan panjang gelombang maksimum dilakukan untuk mengetahui  $\lambda$  yang memiliki serapan tertinggi. Hasil pengukuran panjang gelombang maksimum kuersetin dapat dilihat pada gambar 2.



**Gambar 2 Kurva Panjang Gelombang Maksimum ( $\lambda$ ) Kursetin**

Penentuan *operating time* bertujuan untuk mengetahui waktu pengukuran yang stabil yaitu ketika sampel bereaksi sempurna dan membentuk senyawa kompleks (Satria, Hakim, and Darsono 2022). *Operating time* dilakukan dengan menggunakan larutan baku kuarsetin 5 ppm, 10 ppm, 15 ppm, 20 ppm, dan 25 ppm dengan interval waktu 5 menit dan dilakukan selama 25 menit. Hasil penentuan *operating time* diperoleh pada menit ke 15. Hasil yang didapatkan tidak jauh berbeda dari penelitian (Marpaung *et al* 2020) dengan *operating time* yang diperoleh pada menit ke-16. Hasil *operating time* dapat dilihat pada Gambar 4.3

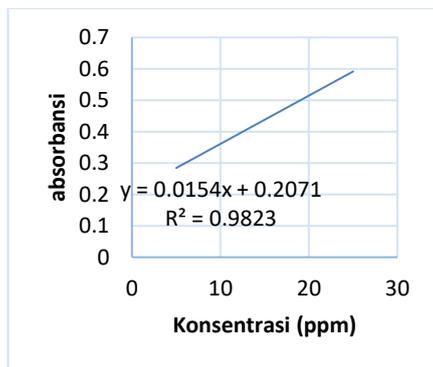


**Gambar 3 hasil *operating time* kuarsetin**

Pada penelitian ini untuk menentukan kadar flavonoid total pada sampel digunakan kuarsetin sebagai larutan standar dengan deret konsentrasi 0, 5, 10, 15, 20 dan 25 ppm. Digunakan deret konsentrasi karena metode yang di pakai dalam menentukan kadar adalah metode yang menggunakan persamaan kurva baku, untuk membuat kurva baku terlebih dahulu dibuat beberapa deret konsentrasi untuk mendapatkan persamaan linear yang dapat digunakan untuk menghitung persen kadar. Digunakan kuarsetin sebagai larutan standar karena kuarsetin merupakan flavonoid golongan flavonol yang mempunyai gugus keto pada C-4 dan memiliki gugus hidroksil pada atom C-3 atau C-5 yang bertetangga dari flavon dan flavonol (Aminah dkk, 2017). Dari masing-masing konsentrasi larutan standar kuarsetin dipipet 1 mL. Kemudian ditambahkan 1 mL  $AlCl_3$  10% dan 1 mL natrium asetat 1M. Setelah itu, diukur absorbansinya dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 420 nm dan waktu inkubasi 15 menit

**Tabel 2. Hasil pengukuran absorbansi larutan standar kuersetin**

| Waktu | Absorbansi |
|-------|------------|
| 5     | 0,267      |
| 10    | 0,368      |
| 15    | 0,461      |
| 20    | 0,515      |
| 25    | 0,578      |



**Gambar 4 Grafik hasil penentuan kurva baku kuersetin**

Dari pengukuran tersebut, dapat disimpulkan bahwa semakin tinggi konsentrasi yang digunakan maka semakin tinggi pula absorbansi yang di peroleh. Hasil baku kuersetin yang diperoleh diplotkan antara kadar dan absorbannya, sehingga diperoleh persamaan regresi linear yaitu  $y = 0,0154x + 0,2071$  dengan nilai  $R^2$  yang diperoleh sebesar 0,9823. Persamaan kurva kalibrasi kuersetin dapat digunakan sebagai pembandingan untuk menentukan

konsentrasi senyawa flavonoid total pada ekstrak sampel. Pengujian analisis kuantitatif dengan spektrofotometri UV-Vis digunakan larutan blanko sebagai kontrol yang berfungsi sebagai pemblanko (mengkalikan nol) senyawa yang tidak perlu dianalisis (Aminah dkk, 2017).

Pada pengukuran senyawa flavonoid total, larutan sampel ditambahkan  $AlCl_3$  yang dapat membentuk kompleks, sehingga terjadi pergeseran panjang gelombang ke arah visible (tampak) yang ditandai dengan larutan menghasilkan warna yang lebih kuning. Dan penambahan kalium asetat yang bertujuan untuk mempertahankan panjang gelombang pada daerah visible (tampak) (Aminah dkk, 2017). Perlakuan inkubasi selama 1 jam sebelum pengukuran dimaksudkan agar reaksi berjalan sempurna, sehingga intensitas warna yang dihasilkan lebih maksimal (Aminah dkk, 2017). Sehingga dari hasil penelitian ini diperoleh kadar flavonoid total ekstrak etanol Akar Kersen (*Muntingia calabura* L.) sebesar  $11.054 \pm 0.228$  QE yang dapat dilihat pada:

**Tabel 3. Kadar Flavonoid Ekstrak Etanol Akar Kersen**

| Sampel      | Abs   | Kadar (QE) | Kuersetin Rata-Rata |
|-------------|-------|------------|---------------------|
| Replikasi 1 | 0,374 | 10,838     | 11.054              |
| Replikasi 2 | 0,381 | 11,292     |                     |
| Replikasi 3 | 0,377 | 11,032     |                     |

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas penghambatan enzim  $\alpha$ -amilase terhadap ekstrak dan fraksi Akar Kersen (*Muntingia calabura* L.). Uji aktivitas penghambat enzim  $\alpha$ -amilase dilakukan dengan metode *in vitro*. Prinsip pada pengujian ini ialah mengetahui aktivitas penghambat enzim  $\alpha$ -amilase dengan mengamati intensitas warna biru pada kompleks iodin-amilum karena berkurangnya substrat amilum akibat hidrolisis yang dilakukan oleh enzim  $\alpha$ -amilase menjadi monosakarida (glukosa) yang tidak bereaksi dengan iodium (Nugrahanti, 2020).

Pengujian aktivitas penghambatan enzim alfa amilase dilakukan pada larutan blanko acarbose, kontrol blanko acarbose, sampel berisi acarbose, kontrol sampel acarbose, blanko sampel uji, kontrol blanko sampel uji, sampel uji berisi ekstrak etanol dan fraksi akar kersen dan kontrol sampel uji. Pengujian larutan blanko dan kontrol

blanko bertujuan untuk mengetahui aktivitas enzim  $\alpha$ -amilase sehingga larutan uji yang digunakan tanpa adanya penambahan larutan acarbose dan larutan sampel uji berupa ekstrak etanol dan fraksi akar kersen. Sementara itu pengujian larutan sampel berisi acarbose digunakan sebagai pembanding dengan pengujian larutan sampel berisi ekstrak etanol dan fraksi akar kersen. Keduanya dilakukan untuk melihat aktivitas penghambatan terhadap enzim  $\alpha$ -amilase.

Langkah kerja untuk pengujian aktivitas penghambatan enzim  $\alpha$ -amilase yaitu dengan memasukkan ekstrak akar kersen sebanyak 10 tetes ke dalam labu bulat 10 ml kemudian ditambahkan metanol 3 ml, dan ditambahkan juga  $AlCl_3$  2 tetes,  $NaCl$  2 tetes setelah itu ditambahkan aquades sampai tanda batas, gosok hingga homogen. Menentukan absorbansi dengan menggunakan spektrofotometri.

**Tabel 4. Nilai IC<sub>50</sub> dan acarbose ekstrak akar kersen dan fraksi**

| Sampel                   | Konsentrasi | absorbansi | %pengham batan | IC <sub>50</sub> |
|--------------------------|-------------|------------|----------------|------------------|
| Ekstrak etanol           | 12,5 ppm    | 0,204      | 77,647         | 129,864          |
|                          | 25 ppm      | 0,205      | 89,804         |                  |
|                          | 50 ppm      | 0,106      | 14,118         |                  |
|                          | 100 ppm     | 0,126      | 21,882         |                  |
|                          | 200 ppm     | 0,271      | 205,490        |                  |
| Fraksi <i>n</i> -heksana | 12,5 ppm    | 0,195      | 75,245         | 341,413          |
|                          | 25 ppm      | 0,173      | 78,382         |                  |
|                          | 50 ppm      | 0,156      | 80,738         |                  |
|                          | 100 ppm     | 0,145      | 82,647         |                  |
|                          | 200 ppm     | 0,116      | 87,059         |                  |
| Fraksi etil asetat       | 12,5 ppm    | 0,232      | 85,345         | 156,454          |
|                          | 25 ppm      | 0,330      | 170,977        |                  |
|                          | 50 ppm      | 0,206      | 63,218         |                  |
|                          | 100 ppm     | 0,100      | 28,448         |                  |
|                          | 200 ppm     | 0,197      | 54,310         |                  |
| Fraksi air               | 12,5 ppm    | 0,176      | 17,936         | 422,169          |
|                          | 25 ppm      | 0,165      | 24,196         |                  |
|                          | 50 ppm      | 0,143      | 33,503         |                  |
|                          | 100 ppm     | 0,120      | 47,716         |                  |
|                          | 200 ppm     | 0,086      | 65,821         |                  |
| Acarbose                 | 0,620 ppm   | 0,173      | 8,443          | 4,522            |
|                          | 1,25 ppm    | 0,173      | 4,690          |                  |
|                          | 2,5 ppm     | 0,165      | 1,016          |                  |
|                          | 5 ppm       | 0,288      | 21,888         |                  |
|                          | 10 ppm      | 0,086      | 20,778         |                  |

Sebagai pembanding digunakan acarbose yang diketahui merupakan salah satu senyawa yang memiliki aktivitas sebagai inhibitor enzim  $\alpha$ -amilase. Dari pengujian yang dilakukan diperoleh nilai IC<sub>50</sub> ekstrak 129,864  $\mu\text{g/mL}$  kategori sedang, *n*-heksan 341,413  $\mu\text{g/mL}$  kategori lemah, etil 156,454

$\mu\text{g/mL}$  kategori lemah dan air 422,169  $\mu\text{g/mL}$  kategori lemah. Tingkat kekuatan inhibisi terhadap enzim  $\alpha$ -amilase ialah sangat aktif jika  $\text{IC}_{50} \leq 25 \mu\text{g/mL}$ , aktif jika  $25 \mu\text{g/mL} < \text{IC}_{50} \leq 50 \mu\text{g/mL}$ , kurang aktif jika  $50 \mu\text{g/mL} < \text{IC}_{50} \leq 100 \mu\text{g/mL}$  dan tidak aktif jika  $\text{IC}_{50} > 100 \mu\text{g/mL}$ . Sehingga dapat diketahui

bahwa ekstrak etanol akar kersen (*Muntingia calabura L.*) dikategorikan tidak aktif sebagai

inhibitor enzim  $\alpha$ -amilase dapat dilihat pada tabel 5.

**Tabel 5. Kategori Nilai IC<sub>50</sub> Sebagai penghambat enzim  $\alpha$ -amilase**

| No | Kategori    | Konsentrasi ( $\mu\text{g/ml}$ ) |
|----|-------------|----------------------------------|
| 1  | Sangat kuat | < 50                             |
| 2  | Kuat        | 51-100                           |
| 3  | Sedang      | 101-150                          |
| 4  | Lemah       | 151-200                          |

(Widiyarti, Susilowati, & Aspiyanto 2012, h. 37)

#### IV. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan penulis didapat kesimpulan kadar flavonoid yang terkandung dalam ekstrak etanol akar kersen (*Muntingia calabura L.*) adalah sebesar 11.054 mgQE/g. Ekstrak. Ekstrak etanol akar kersen (*Muntingia calabura L.*) mengandung senyawa flavonoid, tanin,

alkaloid dan steroid. Hasil yang diperoleh pada penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol akar kersen (*Muntingia calabura L.*) tidak memiliki aktivitas sebagai inhibitor enzim  $\alpha$ -amilase dengan ekstrak 129,864  $\mu\text{g/mL}$ , *n*-heksan 341,413  $\mu\text{g/mL}$ , etil 156,452  $\mu\text{g/mL}$ , air 422,169 dan dapat dikategorikan tidak aktif.

#### V. Daftar Pustaka

- ADA (American Diabetes Association). 2010. *Standards of Medical Care in Diabetes– 2010*. Diakses melalui [care.diabetesjournals.org](http://care.diabetesjournals.org) pada 12 Juli 2018.
- Adijuwana. (1989). *Teknik Spektroskopi dalam Analisis Biologi*. Bogor: Pusat Antar Universitas IPB. Hal. 16-17.
- Aminah, A., Tomayahu, N., & Abidin, Z. (2017). Penetapan kadar flavonoid total ekstrak etanol kulit buah alpukat (*Persea americana Mill.*) dengan metode spektrofotometri UV-Vis. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 4(2), 226-230.
- Aru W. Sudoyo, Bambang Setiyohadi, Idrus Alwi, Marcellus Simadibrata, Siti Setiati. 2006. *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam, jilid III*, edisi 4. Jakarta : Pusat Penerbitan Departemen Ilmu Penyakit Dalam Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.: 1882-1885.
- Azizah, D. N., Kumolowati, E., & Faramayuda, F. (2014). Penetapan kadar flavonoid metode AlCl<sub>3</sub> pada ekstrak metanol kulit buah kakao (*Theobroma cacao L.*). *Kartika: Jurnal Ilmiah Farmasi*, 2(2), 33-37.
- Depkes RI. (2000). *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta: Direktorat Jenderal Pengawas Obat dan Makanan. Halaman 10-11.
- Devita, Christiani. 2013 Perbandingan

- Metode Hidrolisis menggunakan Enzim Amilase dan Asam dalam Pembuatan Sirup Glukosa dari Pati Ubi Jalar Ungu (*Ipomoea batatas*, L). *Skripsi Fakultas MIPA Universitas Negeri Semarang*. Semarang. hal. 13-17.
- Fessenden, R.J. dan Fessenden, J.S. 1994. *Kimia Organik Jilid I*, diterjemahkan oleh: Pudjaatmaka, A.H., Edisi ketiga, Penerbit Erlangga, Jakarta.: Hal. 436-444.
- Goodman & Gilman's. 2006. *The Pharmacological Basis of Therapeutics*. 11<sup>th</sup> Ed. McGraw-Hill. New York.
- Hakim., 2009. Efek Ekstrak Daun Talok (*Muntingia Calabura* L.) terhadap Aktivitas Enzim SGPT pada Mencit yang diinduksi Karbon Tetraklorida. *Skripsi*. Surakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret
- Handayani, F., dan T. Sentat. 2016. 'Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Daun Kersen (*Muntingia calabura* L.) Terhadap Penyembuhan Luka Bakar Pada Kulit Mencit Putih Jantan (*Mus musculus*)'. *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina*. 1. pp. 131–142.
- Harborne, J.B., 1987. *Metode Fitokimia*, Edisi ke dua. Bandung: Institut Teknologi Bandung. Hal: 10,33,45.
- Harborne, J.B., 1996. *Metode Fitokimia*, Cetakan II. Bandung: Institut Teknologi Bandung. Hal: 70-72.
- Heni, Arreneuz S, Zahara TA. 2015. Efektivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Batang Belimbing Hutan (*Baccaurea angulata* Merr.) Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Kimia dan Kemasan*. 4(1): 84-90.
- Katzung, Bertram G. 2002 *Farmakologi Dasar dan Klinik*. Ed 8. Terjemahan oleh Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran. Jakarta. Salemba Medika.. Hal. 671-672.
- Kurnia, D. C. (2020). Pemanfaatan Daun Kersen (*Muntingia Calabura* L.) Dalam Penanganan Diabetes Mellitus. *Berkala Ilmiah Mahasiswa Farmasi Indonesia*, 7(1), 017-025.
- Marzuki, Asnah. 2012. *Kimia Analisis Farmasi*. Makassar : Dua Satu Press
- Prasetyo A. D. dan H. Sasongko. 2014. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol 70% Daun Kersen (*Muntingia calabura* L.) terhadap Bakteri *Bacillus subtilis* dan *Shigella dysenteriae*. *JUPEMASI-PBIO*. Vol 1(1): 98-102
- Rahmayanti, Dian. 2010. Pemodelan dan Optimasi Hidrolisis Pati menjadi Glukosa dengan Metode *Artificial Neural Network-Genetic Algorithm* (ANN-GA). *Skripsi Fakultas Teknik Universitas Diponegoro*. Semarang.
- Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas). 2013. *Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kementerian RI tahun 2013*. Diakses melalui [www.depkes.go.id](http://www.depkes.go.id) pada 12 Juli 2018
- Rodwell, Victor W. Granner, Daryl K. Murray, Robert K. 2006 *Biokimia Harper*. Ed 27. Penerbit *Buku Kedokteran EGC*. Jakarta.:
- Rosak, C. and 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, pp. 357–367.
- Rosidah, Lestari, Astuti Pudji, 2014 , Daya Antibakteri Ekstrak Daun Kendali (*hippobroma longiflora* (L) G. Don ) terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans* (antibacterial Activity of Kendali Leaves (*Hippobroma longiflora* (L) G. Don ) Extract against *Streptococcus mutans*), *Fakultas kedokteran Gigi, universitas Jember, Jember*.
- Soegondo, S. 2008. *Hidup Sehat Secara Mandiri Dengan Diabetes Mellitus, Kencing Manis, Sakit Gula*. Jakarta; *FKUI*
- Sundarram, Ajita. 2014.  $\alpha$ -Amylase Production and Application: A

- Review. *Journal of Applied & Environmental Microbiology*. 2: 166-175.
- Mulja, H. M., Suharman. 1995. *Analisis Instrumental*. Surabaya: Airlangga University Press.
- Syarif, S., Nurnaningsih, N., & Pratama, M. (2020). Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Daun Kersen (*Muntingia calabura L.*) Sebagai Inhibitor Enzim  $\alpha$ -Glukosidase Dengan Menggunakan Elisa Reader. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 7(2), 1-5.
- Sudarmadji, S; B. Haryono dan Suhardi. 1989. *Analisa Bahan Makanan dan Pertanian*. Yogyakarta: Penerbit Liberty. Hal: 46.
- Wardani, N. A. K. (2017). Enzim  $\alpha$ -Amilase Inhibitor Pada Ekstrak Air Kacang Merah (*Phaseolus vulgaris L.*) untuk Penanggulangan Diabetes Melitus. *Jurnal Ilmu Pangan dan Hasil Pertanian*, 1(2), 50-59.