

Inhibition test of α -glucosidase enzyme by ethanol extract of karas tulang leaves (*Chloranthus erectus*)

Uji penghambatan enzim α -glukosidase ekstrak etanol daun karas tulang (*Chloranthus erectus*)

Janies Arly Syahputri ^a, Haryoto ^{a*}

^a Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta, Jawa Tengah, Indonesia.

*Corresponding Authors: har254@ums.ac.id

Abstract

Karas tulang plant (*Chloranthus erectus*) is a medicinal plant that has been used in several areas such as China and Southeast Asia. There has been no research regarding the potential of bone karas leaves as an antidiabetic through inhibiting the α -glucosidase enzyme from the ethanol extract of bone karas leaves. Inhibition of the α -glucosidase enzyme can work due to the presence of phytochemical compounds, such as flavonoids, saponins, tannins and quinones. This is because the phytochemical compounds contained therein can act as antidiabetic agents to prevent hyperglycemia in diabetes sufferers. This research aims to identify chemical compounds and the activity of the α -glucosidase enzyme in the ethanol extract of leaves contained in karas bone leaves. The thin layer chromatography method was used to screen phytochemical chemicals for alkaloids, flavonoids, saponins and tannins. The ELISA reader 405 nm method was used to test the inhibition of the α -glucosidase enzyme. The substrate used was p-NPG while the comparison used was acarbose tablets. The results of this research were that the IC_{50} value for the extract was 30.541 μ g/mL while for acarbose it was 3.873 μ g/mL. From these results it can be concluded that the inhibitory power of the α -glucosidase enzyme is in the active category, while that of acarbose is in the very active category.

Keywords: Antidiabetic, Karas tulang Leaves, Ethanol Extract, α -glucosidase Enzyme, ELISA Reader, IC_{50} .

Abstrak

Tanaman Karas Tulang (*Chloranthus erectus*) merupakan tanaman obat yang telah digunakan di beberapa daerah seperti China dan Asia Tenggara. Belum terdapat penelitian mengenai potensi daun karas tulang sebagai antidiabetes melalui penghambatan enzim α -glukosidase ekstrak etanol daun karas tulang. Penghambatan enzim α -glukosidase dapat bekerja karena adanya senyawa fitokimia, seperti flavonoid, saponin, tanin, dan kuinon. Hal tersebut dikarenakan senyawa fitokimia yang terkandung didalamnya dapat sebagai agen antidiabetik untuk mencegah hiperglikemia pada penderita diabetes. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi senyawa kimia dan aktivitas enzim α -glukosidase dalam ekstrak etanol daun yang terdapat dalam daun karas tulang. Metode kromatografi lapis tipis digunakan untuk skrining fitokimia bahan kimia alkaloid, flavonoid, saponin, dan tannin. Metode ELISA reader 405 nm digunakan untuk uji penghambatan enzim α -glukosidase. Substrat yang digunakan adalah p-NPG sedangkan pembanding yang digunakan adalah tablet akarbose. Hasil dari penelitian ini adalah nilai IC_{50} pada ekstrak sebesar 30,541 μ g/mL sedangkan pada akarbose sebesar 3,873 μ g/mL. Dari hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa daya penghambatan enzim α -glukosidase termasuk kategori aktif sedangkan untuk akarbose termasuk kategori sangat aktif.

Kata Kunci: Antidiabetes, Daun Karas Tulang, Ekstrak Etanol, Enzim α -glukosidase, ELISA reader, IC_{50} .



Copyright © 2020 The author(s). You are free to : **Share** (copy and redistribute the material in any medium or format) and **Adapt** (remix, transform, and build upon the material) under the following terms: **Attribution** — You must give appropriate credit, provide a link to the license, and indicate if changes were made. You may do so in any reasonable manner, but not in any way that suggests the licensor endorses you or your use; **NonCommercial** — You may not use the material for commercial purposes; **ShareAlike** — If you remix, transform, or build upon the material, you must distribute your contributions under the same license as the original. Content from this work may be used under the terms of the [Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International \(CC BY-NC-SA 4.0\) License](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/)

Article History:

Received: 11/10/2024,
Revised: 15/12/2024
Accepted: 15/12/2024
Available Online : 25/12/2024.

QR access this Article



<https://doi.org/10.36490/journal-jps.com>

Pendahuluan

Kementerian Kesehatan mencatat sebanyak 13% atau 35 juta dari 279 juta masyarakat Indonesia yang menderita diabetes melitus dan akan terus meningkat. Diabetes melitus merupakan kelainan yang berhubungan dengan sekresi insulin, aktivitas insulin, atau keduanya. Ciri khas dari penyakit ini adalah meningkatnya kadar glukosa darah [1]. Saat ini masih belum terdapat pengobatan diabetes yang terbukti dapat menyembuhkan dan hanya bertujuan untuk pemeliharaan dan peningkatan kualitas hidup pasien [2]. Diabetes melitus digolongkan menjadi 4, yaitu DM tipe 1, DM tipe 2, gestasional, dan DM tipe lain yang mungkin seperti sindrom diabetes menogemik [3]. Glukosa dalam tubuh terbentuk dengan adanya bantuan dari enzim α -glukosidase [4]. Inhibitor enzim α -glukosidase dapat menghambat pembebasan α -glukosidase dari karbohidrat kompleks makanan dan menunda penyerapan glukosa setelah makan [5].

Manajemen pengendalian diabetes melitus masih mengalami banyak kendala yang disebabkan oleh banyak faktor. Hal tersebut dilihat dari kasus diabetes melitus yang terus meningkat setiap tahunnya [1]. Terapi diabetes melitus sekarang ini berupa obat-obatan yang dikaitkan dengan efek sampingnya, seperti diare, perut kembung, sakit perut, dan lain sebagainya. Oleh karena itu, perlu penelitian mendalam mengenai obat herbal yang memiliki proses produksi dengan dana yang lebih rendah dan efek samping yang minimal [6]. Salah satu tanaman herbal yang sudah digunakan di beberapa daerah seperti China dan Asia Tenggara adalah tanaman karas tulang (*Chloranthus erectus*). Masyarakat sering menggunakan tanaman ini untuk obat sakit pinggang dan masalah persendian [7]. Pada penelitian sebelumnya, tanaman genus *Chloranthus* memiliki aktivitas antiinflamasi, antitumor, aktivitas neuroprotektif, aktivitas pengaturan metabolisme glukosa, antimalaria, dan aktivitas hepatoprotektif. Namun, belum terdapat penelitian khusus yang menyatakan bahwa daun karas tulang (*Chloranthus erectus*) dapat digunakan sebagai obat untuk mencegah diabetes melitus melalui penghambatan enzim α -glukosidase. Daun dan ranting tanaman karas tulang (*Chloranthus erectus*) memiliki berbagai fitokimia, yaitu alkaloid, flavonoid, saponin, kuinon, dan steroid. Dari penelitian tersebut disimpulkan bahwa tanaman karas tulang berpotensi menjadi antioksidan alami [8].

Pada penelitian sebelumnya mengenai tanaman dengan genus yang sama yaitu *Chloranthus pituranthos* disimpulkan bahwa tanaman tersebut dapat menurunkan kadar gula darah dengan merangsang sekresi insulin pankreas yang meningkatkan penyimpanan lipid dan trigliserida untuk mengendalikan hiperglikemia [9]. Selain itu, pada penelitian sebelumnya, senyawa fitokimia yang terdapat pada tanaman karas tulang (*Chloranthus erectus*), seperti flavonoid, saponin, tannin dan kuinon dapat berperan dalam proses menghambat enzim α -glukosidase. Mekanisme kerja dari senyawa-senyawa tersebut adalah dapat menghambat enzim α -glukosidase sehingga hiperglikemia pada penderita diabetes melitus dapat dicegah. Senyawa flavonoid dan alkaloidnya diduga dapat berperan pada proses penghambatan enzim α -glukosidase [7]. Dengan demikian, penelitian mengenai *Chloranthus erectus* tidak hanya berkontribusi pada pengembangan terapi baru untuk penyakit diabetes yang terus meningkat setiap tahunnya, tetapi juga memperkuat pentingnya eksplorasi tanaman obat sebagai bagian dari pendekatan kesehatan yang holistik. Penelitian ini bertujuan untuk menguji dan mengkaji efektivitas ekstrak etanol daun karas tulang (*Chloranthus erectus*) dalam proses penghambatan enzim α -glukosidase serta mengetahui kandungan senyawa kimia di dalamnya.

Metode Penelitian

Penelitian eksperimental ini dilakukan secara *in vitro* dengan bantuan instrumen untuk mengetahui aktivitas penghambatan ekstrak etanol daun karas tulang (*Chloranthus erectus*) terhadap enzim α -glukosidase.

Bahan dan Alat

Alat yang diperlukan adalah batang pengaduk, kertas saring, bejana kaca, mesin penghalus (Philips®), cawan porselen, mortir, stemper, corong pisah (buchner), *rotary evaporator* (Laborata 400 Heidolph E-wB Eco®), gelas arloji, gelas kimia (Pyrex®), microtube 0,5 ml (biologix®), microplate 96 well (costar®), pipet microliter (Eppendorf®), pipet tetes (Pyrex®), micropipet (socorex®), ELISA reader (Biotek ELX 800®), gelas ukur (Pyrex®), labu takar (Pyrex®), kulkas, pipet volume (Pyrex®), sendok tanduk, dan neraca analitik (Ohaus®).

Bahan yang diperlukan adalah daun karas tulang (*Chloranthus erectus*), aquadest, buffer fosfat, enzim α -glukosidase (Sigma Aldrich, USA), etanol 70%, etanol 96%, p-nitrofenil- α -D-glukopiranosida (pNPG) (Sigma Aldrich, USA), 4-nitrofenol, dimetil sulfoksida (DMSO) (Merck), akarbosa 50 mg (OGB dexta), bovine serum albumin (BSA), natrium hidroksida (NaOH), natrium karbonat (Na_2CO_3) (Merck), kalium dihidrogen fosfat (KH_2PO_4).

Preparasi Sampel

Daun karas tulang ditimbang sebanyak 2000 gram, kemudian dilakukan sortasi basah. Dibersihkan menggunakan air kemudian dioven hingga kering pada suhu 60°C selama 24 jam. selanjutnya, dihaluskan daun yang sudah kering tersebut menggunakan blender dan dilakukan sortasi kering [10].

Ekstraksi sampel

Ekstrak daun karas tulang dibuat dengan metode maserasi. Daun karas tulang yang sudah kering dan halus kemudian direndam menggunakan etanol 70% di bejana kaca yang tertutup rapat. Maserasi dilakukan sebanyak 3 x 24 jam. Setiap maserasi akan menghasilkan rendemen yang selanjutnya disaring menggunakan corong Buchner untuk menghasilkan maserat. Selanjutnya dipisahkan pelarut dan maserat dengan *rotary evaporator* untuk mendapatkan ekstrak kering [10].

Penyiapan Larutan Uji

Larutan Buffer Fosfat (pH 6,8)

Dilarutkan serbuk potassium dihidrogen fosfat (KH_2PO_4) 1,5 gram ke dalam 50 mL larutan aquadest. kemudian dihomogenkan, selanjutnya larutan tersebut ditambahkan NaOH 0,1 N secara perlahan kemudian dengan menggunakan kertas pH sehingga diperoleh pH 6,8. Selanjutnya, ditambah air bebas CO_2 hingga volumenya menjadi 200 mL [10].

Larutan BSA

Dilarutkan serbuk Bovine Serum albumin (BSA) 100 mg ke dalam 50 mL buffer fosfat pH 6,8 yang telah dibuat sebelumnya [10].

Larutan Enzim α -glukosidase

Konsentrasi enzim yang tersedia adalah sebesar 10 U/mL. Dari konsentrasi tersebut dibuat menjadi 0,05 U/mL dengan cara diambil enzim sebanyak 50 μL kemudian ditambahkan larutan BSA sampai volumenya 10 mL [10].

Larutan Natrium Karbonat (Na_2CO_3)

Satu gram serbuk Na_2CO_3 dilarutkan ke dalam 50 mL aquadest [10].

Larutan p-Nitrofenil α -D-glukopiranosida (p-NPG)

Serbuk p-Nitrofenil α -D glukopiranosida 60 mg dilarutkan dalam 10 mL aqua pro injection sehingga diperoleh konsentrasi 20 mM [10].

Penyiapan Larutan Ekstrak Etanol Daun Karas Tulang

larutan stok 4% ekstrak dibuat dengan melarutkan 200 mg ekstrak daun karas tulang ke dalam 5 mL DMSO. Larutan stok 4 % tersebut kemudian dijadikan beberapa variasi konsentrasi, yaitu 2; 1,5; 1; 0,5; dan 0,25%. Larutan seri konsentrasi 2% dibuat dengan mengambil 2,5 mL larutan stok 4% kemudian di ad 5 mL DMSO. Selanjutnya dibuat seri konsentrasi 1,5; 1; 0,5; dan 0,25% [10].

Penyiapan Larutan Akarbosa

Empat tablet akarbosa 50 mg dihaluskan kemudian ditimbang sebanyak 200 mg. Selanjutnya, serbuk akarbosa dilarutkan dalam buffer fosfat pH 6,8 dan HCl 2 N dengan perbandingan 1:1 hingga volumenya 5 mL [10].

Pembuatan Larutan Kurva Baku p-nitrofenol

Sebanyak 14 mg p-Nitrofenil α -D glukopiranosida dilarutkan ke dalam 10 mL dapar fosfat pH 6,8 sehingga diperoleh konsentrasi 10 mM. Kemudian dibuat 7 seri konsentrasi larutan yang berbeda dengan masing-masing konsentrasi yaitu 30; 60; 90; 120; 150; dan 180 μ M [10].

Uji skrining fitokimia

Uji kandungan senyawa fitokimia yang diuji adalah flavonoid, alkaloid, saponin, steroid, dan tannin. Pengujian tersebut dilakukan menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Pada metode KLT digunakan plat silika GF₂₅₄ dengan ukuran 7 x 1 cm. Fase gerak (eluen) yang digunakan yaitu n-Heksana : Etil Asetat (7:3). Ekstrak daun karas tulang sebanyak 10 mg dilarutkan menggunakan 1 mL etanol 96% kemudian ditotolkan pada plat KLT yang kemudian dilakukan elusi dengan eluen di atas [11].

Identifikasi senyawa alkaloid

Ekstrak ditotolkan pada plat silika GF₂₅₄ selanjutnya dielusi menggunakan eluen yang sesuai dan dengan penampak noda reagen Dragendroff. Ditandai pada plat KLT adanya noda warna jingga-merah [11].

Identifikasi senyawa flavonoid

Ekstrak ditotolkan pada plat silika GF₂₅₄ selanjutnya dielusi menggunakan eluen dan diberi penampak noda pereaksi AlCl₃ 1%. Pada plat KLT ditunjukkan dengan terbentuknya noda berwarna kuning kecokelatan [11].

Identifikasi senyawa saponin

Ekstrak ditotolkan pada plat silika GF₂₅₄ kemudian dielusi menggunakan eluen yang sesuai dan dengan penampak noda pereaksi Lieberman-Burchard. Deteksi pada plat KLT ditunjukkan dengan terbentuknya noda berwarna hijau-biru [11].

Identifikasi senyawa tannin

Ekstrak ditotolkan pada plat silika GF₂₅₄ selanjutnya dielusi menggunakan eluen dan digunakan penampak noda yaitu pereaksi FeCl₃. Ditunjukkan pada plat KLT dengan noda warna hitam [11].

Uji penghambatan enzim α -glukosidase

Pengujian Blanko

Disiapkan kombinasi yang mengandung 25 μ L p-nitrofenil glukopiranosida sebagai substrat, 1 μ L DMSO, dan 49 μ L buffer fosfat pH 6,8. Setelah mencampur bahan-bahan dan menginkubasi dengan suhu 37°C selama lima menit, kemudian dilakukan penambahan 25 μ L larutan buffer fosfat pH 6,8 dan diinkubasi lagi selama lima belas menit pada suhu yang sama. Kemudian Na₂CO₃ 100 μ L. Setelah itu, absorbansi sampel ditentukan menggunakan pembaca ELISA yang diatur untuk beroperasi pada gelombang 405 nm [12].

Pengujian Kontrol

Larutan kontrol dibuat dari campuran yang mengandung 25 μ L p-nitrofenil glukopiranosida sebagai substrat, 1 μ L DMSO, dan 49 μ L dapar fosfat pH 6,8. Bahan-bahan tersebut dicampur kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C selama 5 menit dan ditambahkan 25 μ L larutan enzim kemudian diinkubasi pada suhu yang

sama selama 15 menit. Ditambahkan 100 μL Na_2CO_3 200 mM ke dalam larutan yang telah diinkubasi dan selanjutnya diukur absorbansinya menggunakan ELISA reader 405 nm [12].

Pengujian S1

Larutan S1 dibuat dari campuran yang berisi 1 μL ekstrak daun karas tulang, p-nitrofenil glukopiranosida sebagai substrat 25 μL , dan buffer fosfat pH 6,8 49 μL . Bahan-bahan tersebut dicampurkan dan selanjutnya diinkubasi selama lima menit dengan suhu 37°C. Kemudian ditambahkan larutan enzim 25 μL dan diinkubasi pada suhu yang sama selama 15 menit. Kemudian ditambahkan 100 μL Na_2CO_3 200 mM untuk menghentikan proses reaksi. Sampel tersebut diukur serapannya menggunakan ELISA reader 405 nm [12].

Pengujian S0

Larutan S0 dibuat dari campuran yang berisi 1 μL ekstrak daun karas tulang, p-nitrofenil glukopiranosida sebagai substrat sebanyak 25 μL , dan buffer fosfat pH 6,8 49 μL . Bahan-bahan tersebut dicampurkan dan kemudian diinkubasi selama 5 menit pada suhu 37°C. Selanjutnya ditambahkan larutan buffer fosfat pH 6,8 sebanyak 25 μL dan diinkubasi kembali pada suhu yang sama selama 15 menit. Reaksi yang terjadi dihentikan dengan menambahkan 100 μL Na_2CO_3 200 mM. Sampel yang terbentuk kemudian diukur serapannya menggunakan ELISA reader 405 nm [12].

Analisis Data

Uji kandungan senyawa fitokimia dilakukan dengan perhitungan nilai Rf dengan rumus:

$$\text{Nilai Rf} = \frac{\text{jarak yang ditempuh analit}}{\text{jarak yang ditempuh eluen}} \quad (1)$$

Uji penghambatan enzim α -glukosidase dianalisis datanya setelah absorbansi didapatkan dari pembacaan menggunakan instrumen. Setelah diperoleh data absorbansi, dilakukan perhitungan % inhibisi dengan rumus berikut:

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{\text{absorbansi kontrol (kontrol - blanko)} - \text{absorbansi sampel (S1 - S0)}}{\text{absorbansi kontrol (kontrol - blanko)}} \times 100\% \quad (2)$$

Sebelum dihitung nilai IC_{50} , perlu mengetahui rumus persamaan regresi linier berikut

$$y = ax + b \quad (3)$$

Keterangan :

y = % inhibisi

x = konsentrasi sampel

Nilai IC_{50} dihitung menggunakan rumus sebagai berikut :

$$\text{IC}_{50} = \frac{50 - a}{b} \quad (4)$$

Hasil dan Pembahasan

Ekstraksi

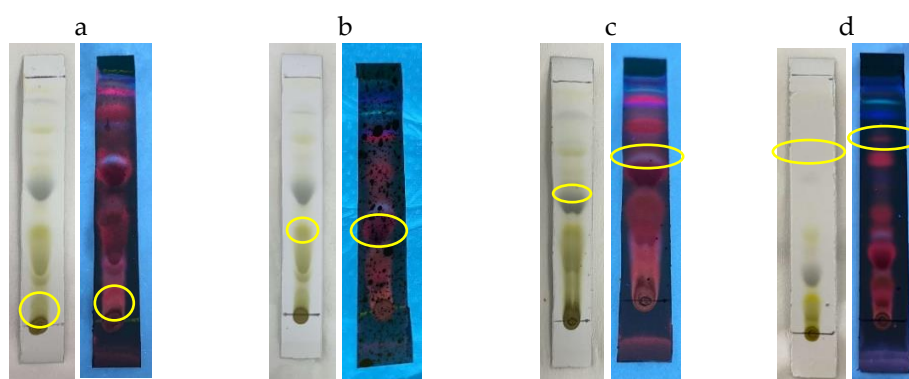
Ekstraksi bahan dilakukan dengan prosedur maserasi dengan pelarut etanol 70%. Kemampuan mengekstrak bahan aktif yang tidak tahan panas menjadi salah satu keunggulan metode maserasi. Selain itu, teknik ini mudah digunakan dan hanya memerlukan peralatan dasar. Karena etanol 70% merupakan pelarut yang dapat mengekstrak zat yang larut dalam pelarut polar maupun nonpolar, maka etanol 70% dimanfaatkan sebagai pelarut [13]. Dari 2000 gram daun karas tulang diperoleh rendemen ekstrak sebanyak 256,35 gram. Rendemen ekstrak dari hasil ekstraksi yang diperoleh sebesar 12,92%. Perhitungan rendemen

tidak dapat mengidentifikasi jenis molekul tertentu yang terbawa, melainkan hanya dapat mengidentifikasi jumlah metabolit sekunder yang terbawa oleh pelarut. Ekstrak kental berwarna hijau kehitaman dengan aroma yang khas merupakan hasil akhir dari proses ekstraksi.

Skrining Fitokimia

Uji kandungan senyawa fitokimia dilakukan menggunakan metode kromatografi lapis tipis karena metodenya sederhana dan memiliki hasil yang akurat [14]. Hasil skrining fitokimia ini dilihat dari adanya perubahan warna pada noda setelah pemberian reagen dan dilihat dari nilai R_f pada setiap plat KLT. Noda dengan nilai R_f 0,25 - 0,77 menunjukkan adanya senyawa tannin dan diperjelas dengan noda berwarna kehitaman setelah penambahan reagen $FeCl_3$ [15]. Nilai R_f 0,07 – 0,62 menunjukkan noda senyawa alkaloid. Noda tersebut berwarna orange atau merah setelah penyemprotan reagen dragendroff [16]. Senyawa saponin ditunjukkan oleh noda dengan nilai R_f 0,79 – 0,84 dan diperjelas dengan perubahan warna noda menjadi hijau-biru setelah penyemprotan reagen Lieberman-Burchard [17]. Noda dengan nilai R_f 0,69 – 0,81 menunjukkan noda yang mengandung flavonoid. Hasil bercak noda dipertegas dengan penyemprotan reagen $AlCl_3$ 1% sehingga didapatkan perubahan warna menjadi kuning kecoklatan [18]. Nilai R_f yang didapatkan pada senyawa tannin, alkaloid, saponin, dan flavonoid secara berurutan adalah 0,04; 0,22; 0,509; 0,75. Oleh karena itu, ekstrak etanol daun karas tulang memiliki banyak kandungan senyawa kimia alkaloid, flavonoid, serta sedikit mengandung tannin dan saponin.

Terdapat dua cara molekul flavonoid dapat menurunkan kadar glukosa darah. Cara pertama melibatkan penekanan aktivitas enzim α -glukosidase, yang menyebabkan penurunan penyerapan glukosa. Cara kedua adalah melalui jalur intrapankreas melalui aktivitas antioksidan, yang dapat meningkatkan sensitivitas insulin dan melindungi serta mencegah kerusakan sel β pankreas, yang menghasilkan insulin. Selain itu, flavonoid dapat menebalkan mukosa usus, yang akan mencegah usus menyerap glukosa [5]. Selain itu senyawa saponin merupakan senyawa fitokimia yang memiliki kemampuan untuk mencegah meningkatnya kadar glukosa darah dengan proses pencegahan usus halus untuk menyerap glukosa dan dengan cara mencegah pengosongan lambung [19]. Senyawa tanin dapat sebagai antihiperглиkemia bekerja dengan cara menurunkan penyerapan nutrisi, yang mencegah usus menyerap glukosa dan mendorong regenerasi sel pankreas. Konsentrasi alkaloid memiliki kemampuan untuk meningkatkan transfer glukosa darah dan menghambat penyerapan glukosa usus. Stimulasi sistem saraf simpatik alkaloid (simpatomimetik) dapat menyebabkan peningkatan sekresi insulin [20].



Gambar 1. Skrining Fitokimia Senyawa Golongan (a) Tannin, (b) Alkaloid, (c) Saponin, dan (d) Flavonoid .

Uji Penghambatan Enzim α -glukosidase

Ekstrak etanol daun Karas tulang (*Chloranthus erectus*) dilakukan uji penghambatan enzim α -glukosidase untuk menilai potensinya sebagai antidiabetik. Nilai IC_{50} ekstrak digunakan untuk analisis pengujian ini. Actinoplanes uthahensis menghasilkan olisakarida yang dapat memperlambat kerja enzim α -glukosidase pada dinding usus halus. Oleh karena itu, tablet akarbosa digunakan sebagai pembanding dalam penelitian ini. P-NPG digunakan sebagai substrat yang dipecah oleh enzim menjadi glukosa dan p-nitrofenol, juga digunakan dalam penelitian ini sebagai model untuk karbohidrat yang terdapat dalam tubuh. Aktivitas enzim dihitung dari penyerapan p-nitrofenol kuning. Semakin kuning intensitas warna yang diperoleh maka

menunjukkan bahwa semakin banyak produk p-nitrofenol yang dihasilkan. Penurunan intensitas warna kuning pada larutan mengindikasikan adanya inhibitor atau penghambatan enzim yang akan menurunkan jumlah p-nitrofenol yang dihasilkan. Kadar glukosa yang tinggi merupakan salah satu tanda penyakit diabetes melitus. Kadar glukosa tersebut terbentuk karena adanya bantuan enzim α -glukosidase. Inhibitor enzim α -glukosidase diperlukan untuk memblokir metode kerja enzim α -glukosidase, yang melibatkan perubahan polisakarida menjadi monosakarida yang kemudian diserap oleh usus dan meningkatkan kadar glukosa darah [4].

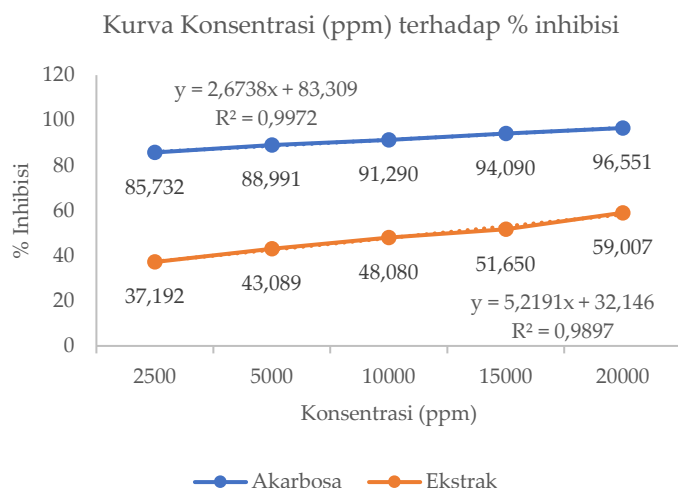
Proses pengujian enzim harus menggunakan pelarut yang memiliki suhu yang stabil sehingga digunakan larutan buffer fosfat pH 6,8 [10]. Larutan tersebut digunakan karena enzim α -glukosidase merupakan protein yang bersifat termolabil sehingga pH nya harus dijaga serta enzim tersebut dapat bekerja pada pH 6,8. Larutan sampel ekstrak maupun akar bosa dibuat seri konsentrasi yang sama yaitu 0,25; 0,5; 1; 1,5; dan 2% secara bertingkat. Pengujian dilakukan dengan membuat beberapa variasi konsentrasi untuk mengetahui seberapa berpengaruhnya konsentrasi terhadap peningkatan daya hambat enzim α -glukosidase. Setiap variasi konsentrasi yang dibuat dilakukan pengujian sebanyak 4 kali replikasi untuk mendapat hasil yang lebih valid. Selain itu, juga dilakukan pengujian larutan blanko untuk memastikan aktivitas tanpa enzim dan sampel ekstrak sedangkan pengujian larutan kontrol dilakukan untuk memastikan aktivitas enzim tanpa sampel ekstrak. Karena larutan natrium karbonat bersifat basa dan dapat meningkatkan pH, yang dapat mengubah struktur atau aktivitas enzim, larutan ini berfungsi sebagai penghenti reaksi enzimatik saat ditambahkan di akhir [21].

Pengujian ini dilakukan pada microplate 96 wells yang dibaca menggunakan instrumen ELISA reader 405 nm atau *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*. Proses inkubasi yang dilakukan berada pada suhu 37°C karena suhu tersebut merupakan suhu yang optimal agar enzim α -glukosidase tetap bereaksi. Keunggulan ELISA reader dibanding instrumen lainnya adalah memiliki sensitivitas yang tinggi, proses pengolahan yang cepat, dan hasil yang akurat meskipun volume larutan yang digunakan sangat sedikit. Nilai absorbansi merupakan hasil pengujian yang dianalisis untuk mengetahui nilai % penghambatan aktivitas enzim α -glukosidase. Kemudian, menentukan regresi linier dan menghitung besarnya nilai IC_{50} . Nilai IC_{50} sebagai parameter daya penghambatan ekstrak terhadap enzim. Nilai ini merupakan konsentrasi yang menunjukkan daya hambat 50% aktivitas enzim sampel atau pembanding. Apabila nilai IC_{50} semakin tinggi, maka aktivitas penghambatan sampel terhadap aktivitas α -glukosidase semakin kecil dan begitu pula sebaliknya [10]. Kecilnya nilai IC_{50} dapat disebabkan karena % inhibisi yang tinggi dari suatu konsentrasi sampel sedangkan tingginya presentase inhibisi tersebut terjadi karena adanya senyawa kimia yang aktif sehingga proses penghambatan enzim α -glukosidase juga besar [21].

Sampel ekstrak etanol daun karas tulang dengan seri konsentrasi 2; 1,5; 1; 0,5; dan 0,25 % secara berurutan didapatkan %inhibisi sebesar 37,204; 43,100; 48,089; 51,659; dan 59,015% sedangkan pada sampel akar bosa diperoleh 85,734; 88,993; 91,292; 94,091; dan 96,552%. Hasil pembacaan absorbansi pada kedua sampel tersebut menunjukkan bahwa terdapat peningkatan absorbansi seiring dengan bertambahnya konsentrasi. Semakin banyaknya kandungan senyawa metabolit sekunder dalam suatu sampel disebabkan karena semakin tingginya konsentrasi sampel tersebut. Hal tersebut dapat dilihat pada kurva konsentrasi terhadap % inhibisi yang tertera pada Gambar 2. Larutan kontrol didapatkan rata-rata absorbansi sebesar 2,042 sedangkan untuk rata-rata blanko adalah 0,194. Apabila derajat kekuatan penghambatan terhadap enzim α -glukosidase menunjukkan nilai $IC_{50} \leq 25 \mu\text{g/mL}$ maka termasuk kategori sangat aktif, kategori aktif jika $25 \mu\text{g/mL} < IC_{50} \leq 50 \mu\text{g/mL}$, kategori kurang aktif jika $50 \mu\text{g/mL} < IC_{50} \leq 100 \mu\text{g/mL}$ dan termasuk kategori tidak aktif jika $IC_{50} > 100 \mu\text{g/mL}$ [10]. Hasil perhitungan nilai IC_{50} ditunjukkan pada Tabel 1. Nilai IC_{50} akar bosa dan ekstrak etanol daun karas tulang masing-masing adalah 3,873 dan 30,541 $\mu\text{g/mL}$. Dari analisis data tersebut, disimpulkan bahwa penghambatan enzim α -glukosidase ekstrak etanol daun karas tulang termasuk kategori aktif sedangkan untuk akar bosa termasuk kategori sangat aktif.

Tabel 1. Uji Penghambatan Enzim α -Glukosidase Ekstrak Etanol Daun Karas Tulang (*Chloranthus erectus*) dan Akar bosa.

No.	Sampel	$IC_{50} (\mu\text{g/mL})$	Kategori
1.	Ekstrak etanol daun karas tulang	30,541	Aktif
2.	Akar bosa	3,873	Sangat Aktif



Gambar 2. Kurva Konsentrasi (ppm) terhadap %inhibisi akarbosa dan ekstrak

Kesimpulan

Dari pengujian ini didapatkan ekstrak etanol daun karas tulang (*Chlorantus erectus*) mengandung banyak kandungan senyawa kimia alkaloid, flavonoid, serta sedikit mengandung tannin dan saponin. Uji penghambatan enzim α -glukosidase menunjukkan semakin besar konsentrasi maka semakin besar pula daya penghambatannya. Hasil perhitungan nilai IC_{50} akarbosa dan ekstrak etanol daun karas tulang masing-masing adalah 3,873 dan 30,541 $\mu\text{g/mL}$. Berdasarkan nilai IC_{50} , ekstrak etanol daun karas tulang dikategorikan aktif terhadap penghambatan enzim α -glukosidase.

Conflict of Interest

Semua penulis menegaskan tidak terdapat konflik kepentingan.

Ucapan Terima Kasih

Terima kasih atas bantuan dan dukungan yang telah diberikan oleh Rektor UMS, Dekan FF UMS, serta staf di laboratorium Kimia Farmasi dan Biologi Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta kepada penulis selama proses penelitian dan penyusunan naskah ini sehingga terselesaikan dengan baik.

Supplementary Materials

Referensi

- [1] IDF. International Diabetes Federation. vol. 102. 10th editi. USA: IDF; 2021. <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2013.10.013>.
- [2] Haryoto, Humairah, Sujono TA, Muhtadi, Suhendi A. Effect of Ethanol Extract of Sala (*Cynometra ramiflora* Linn.) leaves for reducing Blood Glucose Levels in Male Wistar Rats Induced by Alloxan. *Res J Pharm Technol* 2023;16:5183–8. <https://doi.org/10.52711/0974-360X.2023.00840>.
- [3] ADA. Standards of Medical Care in Diabetes—2022 Abridged for Primary Care Providers. *Clin Diabetes* 2022;40:10–38. <https://doi.org/10.2337/cd22-as01>.
- [4] PERKENI. Pedoman Pengelolaan dan Pencegahan Diabetes Melitus Tipe 2 Dewasa di Indonesia 2021. *Glob Initiat Asthma* 2021:46.
- [5] Lianza M, Poli F, Nascimento AM do, Soares da Silva A, da Fonseca TS, Toledo MV, et al. In vitro α -glucosidase

inhibition by Brazilian medicinal plant extracts characterised by ultra-high performance liquid chromatography coupled to mass spectrometry. *J Enzyme Inhib Med Chem* 2022;37:554–62. <https://doi.org/10.1080/14756366.2021.2022658>.

- [6] Esposito F, Pala N, Carcelli M, Boateng ST, Paolo S, Aquila D, et al. α -Glucosidase inhibition by green, white and oolong teas: in vitro activity and computational studies. *J Enzyme Inhib Med Chem* 2023;38. <https://doi.org/10.1080/14756366.2023.2236802>.
- [7] Akbar MK, Hajrah H, Sastyarina Y. Identifikasi Metabolit Sekunder Air Seduhan Daun Kelor (*Moringa oleifera* Lam.) dan Bawang Dayak (*Sisyrinchium palmifolium* L.) yang Berpotensi sebagai Inhibitor α -Glukosidase. *Proceeding Mulawarman Pharm Conf* 2022;15:116–21. <https://doi.org/10.25026/mpc.v15i1.627>.
- [8] Zemry IH, Hasan N, Hasbullah NI, Nawahwi MZ, Azzeme AM, Ahmad SND, et al. Antioxidant Potential of *Chloranthus erectus* (Chloranthaceae) from various solvents extract. *J Exp Biol Agric Sci* 2023;11:75–80. [https://doi.org/10.18006/2023.11\(1\).75.80](https://doi.org/10.18006/2023.11(1).75.80).
- [9] Elhouda MN, Randa M, Safia BA, Walid B, Assia SB, Messaoud R, et al. Physicochemical and biological properties assessment of *Pituranthos chloranthus* from Algerian Sahara. *CYTA - J Food* 2024;22:1–14. <https://doi.org/10.1080/19476337.2024.2337001>.
- [10] Maryam SM, Suhaenah A, Amrullah NF. Uji aktivitas penghambatan enzim α -glukosidase ekstrak etanol biji buah alpukat sangrai (*Persea americana* Mill.) secara in vitro. *J Ilm As-Syifaa* 2020;12:51–6. <https://doi.org/10.33096/jifa.v12i1.619>.
- [11] Kinam, B. O. I. dkk. Skrining Fitokimia dan Profil KLT Ekstrak dan Fraksi dari Daun Berenuk (*Crescentia cujete* L.) serta Uji DPPH 2021:339–47.
- [12] Nurul Ariani, Irma Ratna Kartika FK. Uji Aktivitas Inhibisi Enzim α -Glukosidase secara In Vitro dari Ekstrak Metanol Daun *Cryptocarya densiflora* Blume dan Fraksi-Fraksinya. *Pros Simp Nas Polim VI* 2017;7:1–6.
- [13] Gaspersz N, Fransina EG, Ngarbingan AR. Uji Aktivitas Penghambatan Enzim α -Amilase dan Glukoamilase dari Ekstrak Etanol Daun Kirinyuh (*Chromolaena odorata* L.). *J Kim Mulawarman* 2022;19:51. <https://doi.org/10.30872/jkm.v19i2.1120>.
- [14] Kautsari SN, Purwakusumah ED, Nurcholis W. Profil kromatografi lapis tipis ekstrak kunyit (*Curcuma longa* Linn) segar dan simplisia dengan variasi metode ekstraksi. *Media Farm* 2021;16:65. <https://doi.org/10.32382/mf.v16i1.1403>.
- [15] Ferdinan A, Rizki FS, Kurnianto E, Kurniawan K. Fraksinasi dan identifikasi senyawa tanin dari ekstrak pandan hutan (*Freycinetia sessiliflora* Rizki). *J Borneo* 2022;2:93–8. <https://doi.org/10.57174/jborn.v2i2.48>.
- [16] Ferdinan A, Rizki FS, Rahmawati N. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Alkaloid dalam Ekstrak Etanol Daun Pandan Hutan Jenis Baru (*Freycinetia sessiliflora* Rizki). *J Komunitas Farm Nas* 2021;1:110–20.
- [17] Ravelliani A, Nisrina H, Komala Sari L, Marisah M, Riani R. Identifikasi dan Isolasi Senyawa Glikosida Saponin dari Beberapa Tanaman di Indonesia. *J Sos Sains* 2021;1:786–99. <https://doi.org/10.59188/jurnalsosains.v1i8.176>.
- [18] Taupik M, Suryadi AMA, Kilo J La, Uno WZ, Badjeber SB. Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Daun *Spigelia anthelmia* L. dan Uji Aktifitas Antioksidan Menggunakan Metode DPPH (1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl). *J Syifa Sci Clin Res* 2022;4:694–708.
- [19] Purwanto S dan NH. Pengaruh Konsumsi Tisane Daun Belimbing Wuluh terhadap Perubahan Kadar Gula dalam Darah pada Penderita Diabetes Mellitus Tipe 2. *J Keperawatan* 2023;27:146–8. [https://doi.org/10.1016/s1138-3593\(01\)73932-9](https://doi.org/10.1016/s1138-3593(01)73932-9).
- [20] Oswari LD, Biokimia B, Kedokteran F, Sriwijaya U, Aldrich S. Uji Aktivitas Penghambatan Enzim α -glukosidase Ekstrak Air dan Ekstrak Etanol Kayu Kuning (*Arcangelisia flava*) Abstrak ditandai dengan peningkatan kadar glukosa asetat daun kayu kuning mempunyai aktifitas yang menggunakan kayu kuning ini dengan FMIPA U 2021;8.
- [21] Nasution MR, Ladiona MY, Mora E. Efek Inhibisi Enzim α -Glukosidase dari Ekstrak Etil Asetat, Etanol, dan Infusa Daun Jambu Mente (*Anacardium occidentale* Linn). *J Phot* 2014;4:7–12.